

Los plaguicidas en México

Aspectos generales,
toxicológicos y ambientales

Ma. Laura Ortiz Hernández
Enrique Sánchez Salinas
Jorge Luis Folch Mallol
Angeluz Olvera Velona
Edgar Dantan González
(compiladores)

Universidad Autónoma del Estado de Morelos

LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO
ASPECTOS GENERALES,
TOXICOLÓGICOS Y AMBIENTALES

LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO ASPECTOS GENERALES, TOXICOLÓGICOS Y AMBIENTALES

Ma. Laura Ortiz Hernández
Enrique Sánchez Salinas
Jorge Luis Folch Mallol
Angeluz Olvera Velona
Edgar Dantán González
(comps.)



Consejo de
Ciencia y Tecnología
del Estado de Morelos

Centro de Investigación en Biotecnología

Esta publicación fue financiada por el Gobierno del Estado de Morelos, a través del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Morelos.

Los plaguicidas en México : Aspectos generales, toxicológicos y ambientales / compiladores, Ma. Laura Ortiz Hernández ... [y otros cuatro]. - - México : Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2014.

285 p.

ISBN 978-607-8332-28-1

1. Plaguicidas - México 2. Plaguicidas - Toxicología 3. Plaguicidas - Aspectos ambientales

LCC SB591 DC 632

Los plaguicidas en México: aspectos generales, toxicológicos y ambientales
Ma. Laura Ortiz-Hernández, Enrique Sánchez-Salinas, Jorge Luis Folch Mallol,
Angeluz Olvera-Velona y Edgar Dantán González

Primera edición, 2014

D.R. © 2013, Ma. Laura Ortiz-Hernández, Enrique Sánchez-Salinas, Jorge Luis Folch Mallol, Angeluz Olvera-Velona y Edgar Dantán González

D.R. © 2013, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Av. Universidad 1001

Col. Chamilpa, CP 62209

Cuernavaca, Morelos, México

publicaciones@uaem.mx

Ilustración de portada: Tania Sánchez-Ortiz

Fotografía: Enrique Sánchez-Salinas

ISBN 978-607-8332-28-1

Impreso en México

Reservados los derechos

CONTENIDO

CAPÍTULO 1 PLAGUICIDAS: GENERALIDADES, USOS E IMPACTOS SOBRE EL AMBIENTE Y LA SALUD	11
María Luisa Castrejón-Godínez, Enrique Sánchez-Salinas y Ma. Laura Ortiz-Hernández	
CAPÍTULO 2 EL ENDOSULFÁN: UN ANÁLISIS DE SU SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS	37
Mariana Romero-Aguilar, Enrique Sánchez-Salinas y Ma. Laura Ortiz-Hernández	
CAPÍTULO 3 ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN TEJIDOS HUMANOS Y ALIMENTOS.....	53
Alicia Reyes-García, Rafael Valencia-Quintana, Juana Sánchez-Alarcón, María Magdalena García-Fabila, Stefan M. Waliszewski y Julieta Castillo-Cadena	
CAPÍTULO 4 GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS: BIOENSAYOS A CORTO PLAZO	73
Rafael Valencia-Quintana, Sandra Gómez-Arroyo, Julieta Castillo-Cadena y Juana Sánchez-Alarcón	
CAPÍTULO 5 GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS. ESTUDIOS EN PERSONAS LABORAL Y/O AMBIENTALMENTE EXPUESTAS	97
Julieta Castillo-Cadena, Juana Sánchez-Alarcón, Juan Carlos Sánchez-Meza y Rafael Valencia-Quintana	
CAPÍTULO 6 GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS: DAÑOS A LA SALUD	115
Juana Sánchez-Alarcón, Rafael Valencia-Quintana, Julieta Castillo-Cadena y José Luis Gómez-Olivares	

CAPÍTULO 7 FLORA MICROBIANA Y SU COMPORTAMIENTO FRENTE A LOS PLAGUICIDAS..... 135

Lidia Sandoval-Flores, Jazmín Alhelí Aguilar-Torrejón, Carlos Jorge Aguilar-Ortigoza, Juana Sánchez-Alarcón, Rafael Valencia-Quintana y Julieta Castillo-Cadena

CAPÍTULO 8 NIVELES DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR PLAGUICIDAS..... 151

María Magdalena García-Fabila, Araceli Amaya-Chavez, Julieta Castillo-Cadena, Stefan M. Waliszewski, Juana Sánchez, Pedro Rafael-Valencia Quintana y Alicia Reyes-Reyes

CAPÍTULO 9 PRODUCCIÓN FLORÍCOLA Y EL USO DE PLAGUICIDAS EN COMUNIDADES RURALES DEL MUNICIPIO DE ZINACANTAN, CHIAPAS 163

Héctor Ulises Bernardino-Hernández, Ramón Mariaca-Méndez, Austreberta Nazar-Beutelspacher, José David Álvarez-Solís, Arturo Torres-Dosal y Crispín Herrera-Portugal

CAPÍTULO 10 TRANSFORMACIÓN ENZIMÁTICA DE PLAGUICIDAS.... 179

Lucía Perezgasga, Cristina Torres-Duarte y Rafael Vázquez-Duhalt

CAPÍTULO 11 INMOVILIZACIÓN CELULAR: ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE PLAGUICIDAS..... 197

Gustavo Yáñez-Ocampo y Cristina Blanco González

CAPÍTULO 12 SORCIÓN DE PLAGUICIDAS EN SUELO: RETENCIÓN O LIBERACIÓN DE CONTAMINANTES. 221

Angeluz Olvera-Velona y Arturo Colín-Cruz

CAPÍTULO 13 FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS A ULTRA BAJO VOLUMEN (UBV).....241

Víctor Manuel Hernández-Velázquez, Guadalupe Peña-Chora, Roberto Lezama-Gutiérrez, Laura Lina-García, Arisdell Jiménez-Toledano y Karla Tatiana Murillo-Alonso

CAPÍTULO 14 HONGOS ENDÓFITOS: UNA FUENTE PROMETEDORA DE AGROQUÍMICOS Y AGENTES DE BIOCONTROL.....251

Martha Lydia Macías-Rubalcava, Álvaro Ulloa-Benítez, Irma Susana, Rojas-Tomé, Brenda Lorena Sánchez-Ortiz, Marbella Claudia García-Méndez y Rosa Elvira Sánchez-Fernández

CAPÍTULO 15 POTENCIAL DE LAS PLANTAS NATIVAS DE MÉXICO PARA EL DESARROLLO DE BIOINSECTICIDAS.....267

Graciela Bustos-Zagal, Ludmila E. Guzmán-Pantoja, Cesáreo Rodríguez-Hernández y Víctor M. Hernández-Velázquez

PARTE I

ASPECTOS GENERALES DE LOS PLAGUICIDAS

CAPÍTULO 1

PLAGUICIDAS: GENERALIDADES, USOS E IMPACTOS SOBRE EL AMBIENTE Y LA SALUD

María Luisa Castrejón-Godínez¹, Enrique Sánchez-Salinas² y Ma. Laura Ortiz-Hernández²

Introducción

En el transcurso de los últimos 150 años el hombre ha fabricado muy diversos compuestos químicos con objeto de satisfacer las necesidades crecientes del desarrollo tecnológico y mejorar su calidad de vida. Desde el inicio de la revolución industrial, se estiman en más de 120,000 las sustancias químicas de nueva síntesis y los subproductos derivados de éstas producidos por la actividad humana, censo que se incrementa día a día y que parece no tener fin si se considera que se incorporan a la lista cerca de 2,000 nuevos compuestos cada año (Olea y Fernández 2001). Dentro de estos compuestos químicos, se encuentran los plaguicidas.

En los últimos años, el incremento en la producción de alimentos ha sido gracias al uso de compuestos químicos, ya que el empleo de los plaguicidas, herbicidas y fertilizantes ayudan a incrementar los rendimientos de los cultivos y satisfacer las demandas de alimentos para la población mundial, además del beneficio en los programas de salud y en la lucha contra enfermedades transmitidas por vectores o con huéspedes intermediarios (Mateen *et al.* 1994; Olea y Fernández 2001). Sin embargo, al mismo tiempo, han dado origen a una preocupación creciente de su efecto sobre los ecosistemas terrestres y acuáticos. Debido a sus características químicas, los plaguicidas son contaminantes persistentes que resisten en grado variable la degradación fotoquímica, química y bioquímica, por lo que su vida media en el ambiente puede ser elevada, dependiendo de la estructura química. El uso indiscriminado que en el pasado se ha dado a estos compuestos, ha propiciado que en la actualidad se detecten residuos de estos en el ambiente y se asocien con riesgo potencial a la salud pública.

Un plaguicida se define como una sustancia o mezcla de estas destinadas a prevenir, controlar o destruir cualquier aquello que se considere como una plaga, esto incluye a los vectores causantes de enfermedades humanas y

¹Programa de Gestión Ambiental Universitario. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209

²Laboratorio de Investigaciones Ambientales, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

animales, especies de plantas o animales, indeseables por causar algún tipo de perjuicio o interferencia en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos para humanos o animales, productos agrícolas y ganaderos, así como madera y sus productos derivados. El término plaguicida incluye, además, a todas las sustancias destinadas a ser utilizadas como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta, o evitar su caída prematura, y todas las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger al producto contra su deterioro durante el almacenamiento y transporte (FAO 2002; CICOPALFEST 2004).

La historia de los plaguicidas se divide en tres fases: la primera se refiere al período anterior al año 1870, en donde se utilizaban plaguicidas naturales o al azufre; en la segunda fase incluye al uso de plaguicidas inorgánicos (1870-1945), en donde se desarrollaron los sulfuros y se les encontró una aplicación práctica como fungicidas; posteriormente fueron los compuestos arsenicales los que se emplearon para el tratamiento de las plagas de insectos en la producción agrícola. En la tercera fase (desde 1945 a la actualidad), ha predominado el uso de plaguicidas sintéticos orgánicos, diseñados, sintetizados y producidos por el hombre, por lo cual son llamados plaguicidas químicos. En este tipo de sustancias se incluye principalmente a los organoclorados, los organofosforados y a los carbamatos. Posteriormente. Fue en 1940 cuando aparecieron en el mercado los primeros plaguicidas organoclorados que tienen su máximo exponente en el dicloro difenil tricloroetano o DDT. Desde entonces se han empleado tanto en los tratamientos agrícolas como en el control de plagas vehiculizadas por insectos portadores.

En este capítulo se proporciona información acerca de las características generales de los plaguicidas, su clasificación, su uso y especialmente, los efectos negativos que han generado sobre el ambiente y la salud.

Clasificación de los plaguicidas

De acuerdo con el CICOPALFEST (2004) los plaguicidas pueden ser clasificados de acuerdo con los siguientes parámetros: la concentración de su principio activo, el tipo de plaga que controlan, su mecanismo de acción, composición química, persistencia o por su uso.

Por su concentración los plaguicidas se dividen en:

- **Plaguicida técnico:** Solido, líquido o gas que contiene la máxima concentración del ingrediente activo como resultado final de su proceso de fabricación, formulado a partir del cual se parte para preparar un plaguicida formulado.
- **Plaguicida formulado:** Constituye la forma usual de aplicación y corresponde a la mezcla de uno o más plaguicidas técnicos con uno o más ingredientes conocidos como “inertes”, cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo.

Por los organismos que controlan los plaguicidas pueden dividirse en:

Las sustancias químicas que se usan como plaguicidas cubren una amplia gama de compuestos. La manera más práctica de agruparlos es teniendo en cuenta el efecto que producen sobre las plagas. De esta forma se clasifican en insecticidas, fungicidas, herbicidas y rodenticidas (Madrigal 1978; Kennes *et al.* 1994).

- **Insecticidas:** Son los plaguicidas que controlan y destruyen artrópodos. En este grupo están incluidos los acaricidas, molusquicidas, larvicidas y nematocidas.
- **Fungicidas:** Son los plaguicidas que se usan para eliminar los hongos.
- **Herbicidas:** Están constituidos por los plaguicidas que destruyen las malas hierbas de manera general o selectiva. En este grupo están incluidos los defoliantes y arboricidas.
- **Rodenticidas:** Son los plaguicidas empleados para el control de ratas y otros roedores.

Cada uno de los cuatro grupos está compuesto por sustancias de naturaleza diferente y más del 90% del total de los plaguicidas utilizados en México son organosintéticos.

Por su mecanismo de acción los plaguicidas se dividen en:

- **Plaguicidas de contacto:** Actúan principalmente al ser absorbido por los tejidos externos del organismo blanco.
- **Plaguicidas de ingestión:** Actúan al ser ingeridos por la plaga.
- **Plaguicidas sistémicos:** Actúan al absorberse y trasladarse por el sistema vascular de plantas o animales.
- **Plaguicidas fumigantes:** Actúan al difundirse en estado gaseoso o de vapor y penetrar por todas las vías de absorción.
- **Plaguicidas repelentes:** Actúan impidiendo el ataque de las plagas.
- **Plaguicidas defoliantes:** Causa la caída del follaje de las plantas.

Por su composición química los plaguicidas se clasifican en:

- **Compuestos inorgánicos:** Son compuestos que carecen de carbono. El catálogo de plaguicidas sólo considera a los derivados del cobre, azufre, zinc y aluminio.
- **Compuestos orgánicos:** Son compuestos que contiene átomos de carbono en su estructura química. La mayoría son de origen sintético, fabricados a partir de compuestos químicos básicos, por ejemplo aquellos extraídos de plantas, se consideran botánicos.
- **Plaguicidas biológicos:** Comprenden a los virus, microorganismos o derivados de su metabolismo, formulados como insumos.

Por su persistencia

El grado de persistencia de un plaguicida está determinado por el tiempo que transcurre entre la aplicación del plaguicida y la degradación ambiental de este compuesto; por lo que la persistencia de un contaminante se define como la propiedad de un compuesto para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio a través del cual es transportado o distribuido por un periodo limitado después de su emisión (Badii y Landeros, 2007). En la tabla 1.1 se agrupan a los plaguicidas de acuerdo con su persistencia.

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su persistencia.

Categoría	Persistencia
Ligeramente persistentes	Menos de 4 semanas
Poco persistentes	De 4 a 26 semanas
Mediamente persistentes	De 27 a 52 semanas
Altamente persistentes	Más de 1 año y menos de 20
Permanentes	Más de 20 años

Por su uso los plaguicidas se clasifican en:

La clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su uso se relaciona principalmente con el tipo de actividad económica en la que estos compuestos son utilizados de manera principal. En la tabla 1.2 se enumeran los diferentes tipos de plaguicidas distribuidos con base en su uso.

Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su uso.

Tipo de Plaguicida	Uso
Agrícola	Uso en diversas extensiones, en sistemas de producción agrícola y en productos y subproductos de origen vegetal.
Forestal	Uso en bosques y maderas.
Urbano	Uso exclusivo en áreas urbanas, industriales, áreas no cultivadas, drenes, canales de riego, lagos, presas, lagunas y vías de comunicación.
Pecuario	Uso en animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será destinado al consumo humano o a usos industriales. Incluye el uso en animales domésticos.
Doméstico	Uso en el interior del hogar.
Industrial	Se utiliza como materia prima en el proceso industrial para la formulación de plaguicidas o productos de uso directo.

Principales grupos de plaguicidas y su composición

El criterio para clasificar a los diferentes grupos de plaguicidas está relacionado a la variedad de su composición química (Tabla 1.3).

Importancia de los plaguicidas

A nivel mundial, aproximadamente 9,000 especies de insectos, 50,000 especies de plantas patógenas y 8,000 de malas hierbas dañan a los cultivos. Los insectos causan una pérdida aproximada del 14%, las plantas patógenas del 13% y malas hierbas del 13% (Pimentel 2009). Al observar estas cifras se entiende que los plaguicidas son importantes para la producción de alimentos, pues cerca de un tercio de los productos agrícolas son producidos por el uso de plaguicidas (Liu *et al.* 2002). Sin la aplicación de estos productos químicos, la pérdida de frutas, vegetales y cereales por daños causados por las plagas, alcanzarían 78%, 54% y 32%, respectivamente (Cai 2008)

Es indudable el beneficio derivado del uso de los plaguicidas en los programas de salud y en la lucha contra enfermedades transmitidas por vectores o por huéspedes intermediarios. En cuanto a la agricultura, se ha manifestado frecuentemente que, debido al empleo de plaguicidas, herbicidas y fertilizantes, las cosechas así como la ganadería ha incrementado su productividad debido a una reducción en las pérdidas ocasionadas por plagas (Sánchez-Salinas y Ortiz-Hernández 2011). Estos beneficios interactúan en los ámbitos social, económico y ambiental, y en los niveles local, nacional y mundial, los cuales integran conjuntamente una matriz compleja (Olea y Fernández 2001).

Tabla 1.3. Principales grupos de plaguicidas según su composición química (Ortiz *et al.* 2002).

Grupo	Composición	Ejemplos
Organoclorados	Átomos de carbono, cloro, hidrogeno y en ocasiones oxígeno. Carecen de sitios intramoleculares activos. Son apolares y lipofílicos, muy estables en el ambiente.	Se dividen en tres grupos: a) relativos al DDT; b) relativos al benceno: lindano y BCH, y c) cloro dienos: clordano, endosulfan y endrin.
Organofosforados	Derivados del ácido fosfórico. Poseen un átomo central de fósforo en la molécula. Mas tóxicos y menos estables en relación a los organoclorados.	Se dividen en tres grupos: a) alifáticos: forato, dimetoato b) cíclicos: paratión metílico. c) heterocíclicos: diazinon.
Carbamatos	Estructura química basada en un átomo alcaloide de la planta <i>Physistigma venenosum</i> .	a) derivados de ésteres carbamatos: Carbaryl b) derivados del ácido tiocarbámico: methomyl c) carbamatos: proprosur.
Tiocarbamatos	Difieren de los carbamatos en su estructura molecular en que contienen un grupo -S- en su composición.	Ditiocarbamato, mancozeb, maneb.
Piretroides	Compuestos sintéticos similares a las piretrinas (alcaloides obtenidos de los pétalos de <i>Chysanthemum cinerariefolium</i>).	Cipermetrina, fenvalerato, permetrina, aletrina, tetrametrina.
Organoazufrados	Poseen un azufre como átomo central en su molécula. Tóxicos a ácaros y de baja toxicidad a insectos.	Porpartige.
Dinitrofenoles	Se reconocen por la presencia de dos grupos nitro (-NO ₂) unidos a un anillo fenólico.	Trifluralina.
Compuestos inorgánicos	Carecen de carbono en su composición.	Arsénico pentóxido, obpa, fosfito de magnesio, cloruro de mercurio, arsenato de plomo, bromuro de metilo, antimonio, mercurio, selenio, talio y fósforo blanco.
Compuestos de origen botánico	Productos derivados directamente de vegetales que no se sintetizan químicamente.	Rotenona, nicotina, aceite de canola
Biológicos	Virus, microorganismos derivados de su metabolismo.	<i>Bacillus thuringensis</i> , <i>Ascovirus</i> , <i>Metharrizium</i>
Organoestánicos	Presencia de un estaño como átomo central de la molécula.	Azocyclotin, Cyhexatin, dowco, plictrán.
De composición diversa	De cobre, derivados de triazinas, de la urea, de cloronitrofenólicos, del ácido fenoxiacético, bipiridilos, ácidos tricloroacéticos, etc.	Diuron, fluometuron, thidiazuron, atrazina, dinocap, silbes, talimidias.

Los plaguicidas en México

Según los datos disponibles, en México los estados con mayor uso de plaguicidas son Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca. Se calcula que en estas catorce entidades se aplica el 80 % del total de plaguicidas usados en el país, además se asocia a las zonas con mayor contaminación por el uso de estos agroquímicos con algunos tipos de cultivo (Albert 2004).

De acuerdo con los datos de la SEMARNAT (2012), en el país se produjeron 86 mil toneladas de plaguicidas tan sólo en el 2009. Sin embargo, la FAO reportó que ese mismo año se consumieron más 126 mil toneladas de plaguicidas (fungicidas, bactericidas, herbicidas e insecticidas) (FAOSTAT 2012). Como se muestra en la Figura 1.1, esta tendencia de consumo se ha mantenido prácticamente estable desde el año 2005.

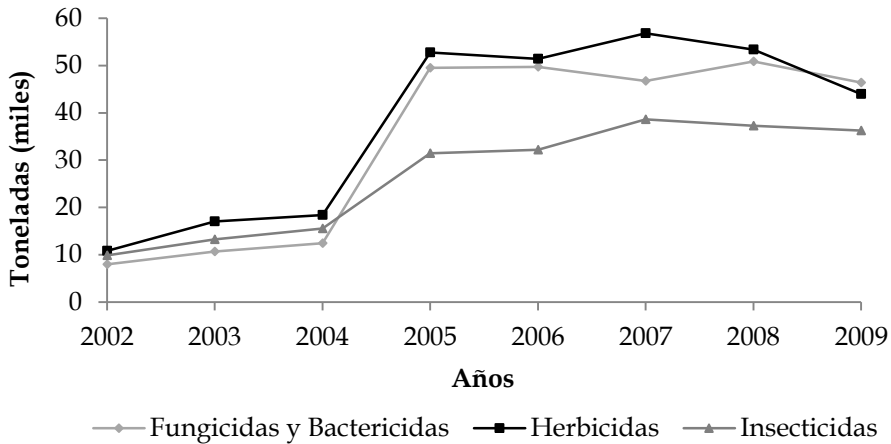


Figura 1.1. Uso de plaguicidas en México (FAOSTAT 2012).

Plaguicidas obsoletos y residuos

Existen plaguicidas obsoletos que han dejado de usarse debido a que han sido prohibidos, están deteriorados, ha vencido su fecha de caducidad, o no puede usarse por cualquier otra razón. En ocasiones las condiciones de almacenamiento pueden provocar fugas o derrames accidentales, lo cual se trae como consecuencia filtraciones al suelo y a los cuerpos de agua.

La SEMARNAT (2011) reportó que en México existen 44,584.165 litros de plaguicidas obsoletos y/o caducos, 262,474.444 kg de plaguicidas en

presentación sólida, así como 500 m³ de suelo contaminado por estos compuestos, lo cual constituye una problemática que debe ser atendida y solucionada lo más pronto posible.

Efecto de los plaguicidas en el ambiente

Los riesgos del uso de plaguicidas son altos (Pimentel 2009), ya que la mayoría de los plaguicidas son muy tóxicos a los humanos y al ambiente. Una vez aplicados, los plaguicidas y algunos metabolitos producto de su degradación, llegan al aire, suelos y aguas superficiales, por lo que resulta una acumulación de sustancias tóxicas que ponen en peligro a la salud y al ambiente.

El uso de plaguicidas puede causar efectos adversos sobre las diferentes formas de vida y sobre los ecosistemas, esto dependerá del grado de sensibilidad de los organismos en cuestión y de la toxicidad y persistencia del plaguicida (CICLOPLAFEST 2004). Como resultado de prácticas inadecuadas, frecuentemente estos compuestos constituyen una de las formas de contaminación más importantes debido a que no sólo impactan a los suelos de las áreas en donde son aplicados, sino que también llegan a través de los ríos hasta las zonas costeras afectando a especies marinas. La aplicación de plaguicidas genera, además, efectos adversos sobre la flora y la fauna a lo largo de su recorrido (Lichtinger *et al.* 2001).

Como consecuencia de la aplicación de millones de toneladas de plaguicidas anualmente a nivel mundial, se han generado grandes cantidades de residuos, tanto líquidos como sólidos, además de los envases contenedores de estos compuestos, los cuales se depositan directamente y sin control sobre el suelo y el agua, ocasionando un grave problema de contaminación a los ecosistemas y sus diferentes cadenas tróficas (Pasillos *et al.* 2001; Ortiz-Hernández *et al.* 1997). Otra fuente de contaminación potencial se relaciona con el almacenaje inadecuado de productos plaguicidas caducos y obsoletos, generalmente dispuestos sin ningún control y expuestos al ambiente (FAO 2002). Entre las consecuencias derivadas de la contaminación de los suelos por la acción de los plaguicidas se encuentran la pérdida de su fertilidad y de su capacidad biodegradadora, entre otras. Factores que de manera directa o indirectamente permiten la supervivencia de la flora y la fauna, dada la estrecha interrelación que existe entre los diferentes elementos que constituyen a los ecosistemas, razón por la que la contaminación de los suelos por plaguicidas constituye un problema ecológico de inmediata atención.

Efectos de los plaguicidas sobre la salud humana

Los posibles daños a la salud humana ocasionados por los plaguicidas están relacionados principalmente con su estructura química. De sus propiedades fisicoquímicas dependerá su afinidad por sistemas biológicos específicos y, de manera preponderante, la dosis a la que los humanos presentarían daños ocasionados por la exposición a los mismos.

La mayoría de los plaguicidas se absorben por ingestión, inhalación, por vía cutánea u ocular. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) señalan que en el mundo actualmente ocurren cerca de 3 millones de intoxicaciones agudas por plaguicidas, de las cuales aproximadamente 220,000 resultan en casos fatales (González *et al.* 2001; Bird *et al.* 2008).

La intoxicación por plaguicidas se relaciona con el desarrollo de reacciones alérgicas como vómito, cefalea, conjuntivitis, diarrea, calambres abdominales, disnea, tos; entre otras. Además causan alteraciones neurológicas, reproductivas, endócrinas, inmunológicas, fracasos funcionales y alteraciones del comportamiento debido a la aparición de tumores y lesiones degenerativas principalmente en hígado y riñón (Olea y Fernández 2001).

Mecanismos de toxicidad de los plaguicidas

A pesar de su importancia tanto en la agricultura como en las actividades de salud pública, los efectos tóxicos que generan los plaguicidas en el ser humano son innegables (OMS y OPS 1993). La biodisponibilidad de un determinado plaguicida en el organismo depende de su toxicocinética, término que incluye su velocidad de absorción, distribución, metabolismo y eliminación. Los procesos toxicocinéticos están influenciados tanto por factores externos, relacionados con los patrones de exposición y con las sustancias químicas (tipo de empleo, temperatura ambiental, tipo de plaguicida, frecuencia, intensidad y duración de la exposición, etc.) (Fait y Colosio 1998), como por factores inherentes al individuo (edad, sexo, dotación genética, estado de salud, estado nutricional, estilos de vida, vía principal de absorción, etc.) (OMS y OPS 1990, 1993; Fait y Colosio 1998).

Las vías de entrada al cuerpo pueden ser variadas y simultáneas, las más comunes son la vía dérmica, la digestiva y la respiratoria. Los plaguicidas penetran en la piel por difusión pasiva atravesando el estrato córneo. En el medio laboral la vía dérmica es la más importante, pues a través de ella y en función de la superficie de piel expuesta, se absorben cantidades significativas de diversos plaguicidas que varían en su nivel de absorción. Otro factor

importante relacionado a la gravedad del daño a la salud generado por la intoxicación por plaguicidas son las dietas bajas o carentes de proteínas y los estados de deshidratación en los individuos afectados. A este respecto, una gran parte de la población laboral y general expuesta a la acción tóxica de los plaguicidas, vive en países subdesarrollados o en vías de desarrollo, donde el uso de estos compuestos, sin las medidas adecuadas de seguridad, es tan común como las carencias nutricionales anteriormente mencionadas.

Los plaguicidas liposolubles se difunden a través de los componentes grasos de la piel y la sangre, mientras que los de moléculas hidrosolubles lo hacen a través del material proteico intracelular. Hay dos tipos de reacciones por las que los plaguicidas se metabolizan en el organismo: las reacciones de primera fase (oxidación, reducción e hidrólisis), que generalmente son catalizadas por enzimas hepáticas, y las de segunda fase, que son la conjugación y la síntesis. Los metabolitos resultantes de la primera fase son ligados a moléculas endógenas, sintetizándose componentes solubles en agua y son fácilmente eliminables a través de la bilis y la orina, como los metabolitos hidrosolubles de los piretroides. La biotransformación de los plaguicidas puede dar como resultado sustancias de reducida toxicidad o químicamente inactivas, como ocurre con el metabolito final del dimetoato. Por el contrario, pueden generarse sustancias tóxicamente más activas que el compuesto original, como es el caso del carbosulfán al transformarse en carbofurán, o del paratión que da origen al paraoxón, metabolitos con alta afinidad por el ADN y con capacidades mutágenas importantes.

El cuerpo humano elimina los plaguicidas por tres vías principalmente: la orina, las heces fecales y el aire exhalado. Algunos productos hidrosolubles, como el lindano y los herbicidas tipo fenoxi, son eliminados fácilmente por vía urinaria sin haber sufrido cambio alguno. La bilis es el medio principal por el que algunos compuestos liposolubles como el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) y otros organoclorados (OC) se eliminan en las heces fecales.

Particularmente todos los plaguicidas derivados del ácido fosfórico, presentan un modo de acción primario semejante, definido de modo general, puede decirse que en los plaguicidas organofosforados la acción tóxica específica tiene lugar a nivel sináptico, en donde el neurotransmisor acetilcolina actúa sobre la membrana postsináptica a la que despolariza, excitando a las células efectoras, pertenecientes a glándulas, fibras musculares lisas, fibras musculares estriadas y a algunas neuronas. Una vez conseguido su objetivo, estímulo, la función de este neurotransmisor debe terminar, lo que ocurre por acción de la acetilcolinesterasa, enzima que rápidamente hidroliza a la acetilcolina, con lo

que esta deja de actuar y las células efectoras entran en reposo, para volverse a reactivar cuando el organismo lo demande (CICOPLAFEST 2004).

De esta manera los compuestos organofosforados actúan inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa, lo que da como resultado la acumulación excesiva de este neurotransmisor y en consecuencia una estimulación sostenida de sus células efectoras, propiciando una pérdida en la coordinación muscular, convulsiones y finalmente la muerte (Mohammad y Varela 2008).

Mecanismos de disipación de los plaguicidas del ambiente

Los principales mecanismos de disipación o transporte de los plaguicidas a través del medio ambiente son diversos, actualmente se han identificado residuos en todo los comportamientos ambientales (aire, suelo y agua) y en todas las regiones geográficas incluyendo aquellas muy remotas al sitio original de su aplicación tales como los océanos, desiertos y zonas polares (Liu *et al.* 2009; Anurag-Sharma *et al.* 2012). Igualmente se ha demostrado su presencia en organismos de todos los niveles tróficos, desde el plancton hasta las ballenas y los animales del Ártico (OMS 2000).

Cuando los plaguicidas se dispersan en el ambiente, se convierten en contaminantes de los sistemas bióticos y abióticos, amenazando la existencia de plantas y animales además de representar un peligro para la salud humana. Los efectos negativos de los plaguicidas para el ambiente incluyen (Ortiz-Hernández 2002):

- a) La resistencia que desarrollan muchos insectos plaga.
- b) La reducción poblacional de animales y vegetales.
- c) Presencia de contaminantes persistentes en el agua, aire y suelo, así como en los organismos.
- d) Contaminan la atmósfera, aguas subterráneas y superficiales incluyendo la eutrofización.
- e) Intoxicaciones masivas de personas ocupacionalmente expuestas.
- f) Afectan la fertilidad del suelo, la cual depende de los microorganismos y de su interacción con los materiales orgánicos e inorgánicos del mismo.

Las principales propiedades de los plaguicidas que afectan la movilidad incluyen la solubilidad acuosa, la hidrofobicidad (K_{ow}), ionización, tamaño molecular, volatilidad y reactividad de los constituyentes del suelo y la persistencia en el ambiente.

Para poder evaluar la peligrosidad de un plaguicida se deben conocer sus propiedades físicas y químicas, resaltando las siguientes (Gramática y Di Guardo 2002):

- 1) La presión de vapor, que determina su volatilidad.
- 2) La solubilidad en agua, que influye en la filtración en el suelo hacia los mantos acuíferos.
- 3) El coeficiente de partición octanol/agua, permite conocer su capacidad de penetrar a través de las membranas biológicas y de acumulación en el tejido adiposo.
- 4) Su persistencia, que indica cual es la vida media de las sustancias en el ambiente conservando sus propiedades tóxicas.

Otra de las rutas importantes para el transporte de los plaguicidas es el viento. La volatilización aumenta su dispersión en el ambiente y representa la tendencia del plaguicida a pasar a la fase gaseosa.

En general todas las sustancias orgánicas son volátiles, dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentren y de la temperatura ambiente. La volatilidad se mide a partir de la constante de Henry que depende de la presión de vapor y de la solubilidad en agua.

Los plaguicidas con presión de vapor mayor a 10.6 mm Hg pueden fácilmente volatilizarse y tienden a alejarse del lugar donde fueron aplicados. La ley de Henry describe la tendencia de un plaguicida a volatilizarse del agua o suelo húmedo. La tasa de pérdidas de plaguicidas por volatilización depende de varias de sus características tales como presión de vapor, temperatura, volatilidad intrínseca y de la velocidad de difusión hasta la superficie de evaporación. Cuando el plaguicida tiene una alta solubilidad en agua con relación a su presión de vapor, el plaguicida se disolverá principalmente en agua, por lo que un valor alto de la ley de Henry, indicará que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo, un valor bajo predice un mayor potencial de lixiviación del plaguicida (EPA-USDA 2005; Tomlin 2000).

Los plaguicidas muy solubles en agua se absorben con baja afinidad a los suelos y por lo tanto, son fácilmente transportados del lugar de aplicación por una lluvia, riego o escurrimiento hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea, por lo que el agua puede ser contaminada.

Los plaguicidas pueden ser degradados parcial o totalmente, o pueden permanecer sin cambios y regresar a la atmósfera por volatilización y/o bioconcentrarse en los organismos acuáticos (INE 2005).

La lixiviación es uno de los parámetros más importantes para la evaluación del movimiento de una sustancia en el suelo. Está ligado a la dinámica del agua, a la estructura del suelo y a factores propios del plaguicida. Los compuestos aplicados al suelo tienden a desplazarse con el agua y lixiviar a través del perfil, alcanzando las capas más profundas y el acuífero, que en consecuencia resulta contaminado.

Los plaguicidas en el agua pueden favorecer el fenómeno de biomagnificación, que se refiere a la tendencia de acumularse a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender del nivel trófico. La concentración del plaguicida en el organismo consumidor es mayor que la concentración en el organismo consumido (Ortiz-Hernández 2002).

Por otro lado, el suelo es un recurso natural esencial, debido a que indirectamente determina los patrones de distribución animal y vegetal. Además, sirve como receptor para la multitud de compuestos orgánicos e inorgánicos (Porta *et al.* 1999). Cuando los plaguicidas son aplicados al suelo los residuos no se depositan en forma independiente, sino que se concentra más en la superficie donde su zona de acción se ejerce hasta una profundidad de unos 30-40 cm, aunque el 50% del plaguicida permanece a menos de 2.5 cm (Doménech 1995). Los principales mecanismos de transporte de los plaguicidas a través del suelo son la advección, difusión, dispersión y los diferentes procesos que los afectan. Estos procesos pueden ser hidrodinámicos, bióticos y abióticos. El proceso hidrodinámico incluye fenómenos resultantes del movimiento de fluidos en el subsuelo. Los procesos bióticos involucran microorganismos que transforman los plaguicidas los cuales aumentan o disminuyen su movilidad. Los procesos abióticos resultan de las interacciones entre el suelo y los contaminantes, debido a las propiedades del plaguicida y a las del subsuelo. Las principales son el intercambio iónico, oxidación/reducción, precipitación/disolución, hidrólisis y sorción (Bollag y Liu 1990):

Intercambio iónico

El intercambio iónico es parte del proceso de adsorción, debido a la afinidad de la superficie del sólido por el plaguicida. Este intercambio se caracteriza por que el material adsorbente tiene carga eléctrica en su superficie, que es mayor en comparación con las áreas superficiales de las partículas coloidales que lo

forman. En consecuencia, se da una acumulación de iones de carga opuesta en la interfase sólido/líquido, para neutralizar el desbalance eléctrico. Estos, a su vez, pueden ser intercambiados mientras continúe el desequilibrio de cargas (Bailey y White 1970; Roy *et al.* 1991).

Oxidación/reducción

Las reacciones químicas de reducción-oxidación (redox) pueden ocurrir con moléculas orgánicas o inorgánicas y abarcan la ganancia o pérdida de oxígeno. Este mecanismo también puede ser inducido por la actividad metabólica de microorganismos nativos; tales transformaciones son denominadas biodegradación. Debido a la pequeña cantidad de oxígeno en el suelo, la mayoría de las transformaciones ocurren por el camino de la reducción procesos anaeróbicos (Senesi 1992; Bohn 1993).

Disolución/precipitación

La disolución es la degradación de sustancias químicas en el agua. Los solutos pueden ser cationes o aniones inorgánicos, orgánicos polares y no polares. La precipitación es lo opuesto a la disolución cuando la concentración de un soluto excede la solubilidad del compuesto, pasa a un estado sólido precipitando la solución. La parte que queda fuera de la solución se le llama precipitado. Este proceso es reversible si la concentración del soluto disminuye a valores por debajo de su solubilidad, puede ocurrir la disolución del precipitado (Cepeda 1991).

Hidrólisis

Se le denomina hidrólisis al proceso en el cual las sustancias químicas pueden reaccionar con las moléculas de agua. Frecuentemente este proceso se describe como un intercambio entre un ión hidroxilo y un grupo aniónico de compuestos químicos, los cuales dan como resultado la descomposición del compuesto.

La hidrólisis en el suelo es afectada por factores tales como el pH, temperatura, tipo de suelo, capacidad de sorción y contenido de agua. Su importancia en el transporte de los plaguicidas radica en que, según las características del medio pueden generar especies solubles o insolubles, lo que afecta directamente la movilidad de los plaguicidas (Cheng 1990).

Sorción/desorción

La disponibilidad regulada por los procesos de adsorción y desorción caracterizan la retención de los plaguicidas. La adsorción es el primer proceso que permite fijar estos mismos a las partículas del suelo. La desorción es el proceso contrario, es decir, la liberación de compuestos retenidos (Calvet 1989; Barriuso *et al.* 1994; Sarmah *et al.* 2009).

La sorción es un término general que engloba la adsorción y absorción, dos términos que designan fenómenos similares. La adsorción es un proceso por el cual los átomos en la superficie de un sólido, atraen y retienen moléculas de otros compuestos.

Mecanismos de tratamiento de plaguicidas

Métodos físicos

El método físico más utilizado en la actualidad para la eliminación de los plaguicidas caducados es la incineración a altas temperaturas en hornos especiales. Los plaguicidas se vuelven a envasar en los lugares que están abandonados, y son transportados a un país que cuente con instalaciones especiales para la eliminación adecuada de estos desechos. La FAO estima que el costo de estas operaciones oscila entre 3,000 y 4,000 dólares por cada tonelada (Ortiz-Hernández 2002).

Métodos químicos

Una de las técnicas más utilizada para la degradación de los plaguicidas son los procesos avanzados de oxidación, los cuales consisten en el uso de especies transitorias poderosas, principalmente el radical hidroxilo. La fotocatalisis heterogénea con TiO_2 es un método utilizado para la producción del tipo de radicales anteriormente mencionado (Ferrusquía *et al.* 2008). Sin embargo, estos métodos presentan diversas desventajas, como son la utilización de catalizadores químicos como el dióxido de titanio, además del empleo de tecnologías costosas, como la necesaria para la generación del ozono.

La degradación de los plaguicidas, en especial la del paratión metílico, se ha estudiado mediante la hidrólisis bajo diversas condiciones experimentales. La mayoría de los plaguicidas organofosforados experimentan hidrólisis cuando se encuentran en un medio básico. En este tipo de medios y con la presencia de cationes metálicos, se favorece la formación de complejos intermediarios que

pueden conducir a la hidrólisis u otras reacciones de transformación que permitan la eliminación de los plaguicidas (Wan *et al.* 1994).

De acuerdo con diferentes estudios realizados, la degradación de los plaguicidas organofosforados mediante reacciones químicas implica un control riguroso de las condiciones bajo las cuales se llevan a cabo experimentos, tales como el mantenimiento de pH alcalinos, además de la presencia de complejos formados con iones metálicos, lo cual implica la formación de contaminantes secundarios (Manzanilla-Cano *et al.* 2001).

Biodegradación

Una alternativa de saneamiento de ambientes contaminados por plaguicidas con un importante auge a nivel mundial es la biorremediación, proceso que permite la biodegradación de los compuestos contaminantes. Esta técnica se basa en la capacidad de los microorganismos para transformar contaminantes orgánicos en compuestos químicamente más sencillos y deseablemente inocuos al ambiente. Algunos compuestos, como los hidrocarburos, pueden llegar a ser completamente mineralizados.

La capacidad de biodegradación de los microorganismos no sólo depende de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo, sino también de las propiedades químicas del contaminante, por lo que en base a la información obtenida a través de la caracterización del sitio contaminado y el conocimiento de las condiciones óptimas de degradación se puede determinar la factibilidad de una técnica de biorremediación para cada sitio específico (Leahy y Colwell 1990).

El proceso de biodegradación se lleva a cabo mediante las reacciones por las cuales los microorganismos heterotróficos se nutren y captan la energía necesaria para satisfacer sus necesidades tomando como fuente principal de carbono a los plaguicidas (Yeomans *et al.* 2004). Los estudios de biorremediación se han centrado en gran medida en el aislamiento y caracterización, a través de la utilización de herramientas genómicas, de cepas bacterianas o un consorcio bacteriano con un metabolismo que presente propiedades de transformación de los contaminantes (Chauhan y Rakesh 2010).

Enzimas degradadoras

En la actualidad se han aislado y caracterizado diversos microorganismos provenientes de sitios contaminados con plaguicidas, los cuales utilizan estos últimos como su fuente principal de carbono.

La capacidad degradadora de organofosforados de las bacterias se debe en ellas, a la presencia de enzimas conocidas como fosfotriesterasas, pertenecientes al grupo de las anhidrasas de organofosforados. Estas enzimas responsables de iniciar la degradación son altamente eficientes, tienen la capacidad de hidrolizar en un amplio rango de plaguicidas, catalizando la ruptura de las uniones de P=O, P-F y/o P=S de sus estructuras. La mayoría de los microorganismos con estas capacidades son bacterias Gram negativas, que expresan estas enzimas pueden localizarse intracelularmente o ser secretadas a través del espacio periplásmico. Recientemente estas enzimas han sido motivo de gran interés, por lo cual han generado una investigación exhaustiva para establecer su potencial para remediar sitios contaminados con plaguicidas residuales, así como armas químicas tales como el somán y el sarín (Zhang *et al.* 2005).

Como se muestra en la Tabla 1.4, estas enzimas, en su mayoría, se han logrado aislar de bacterias que presentan la capacidad de degradar plaguicidas, no sólo de suelos contaminados, sino que también de aguas residuales.

Consideraciones finales

Los plaguicidas son sustancias de gran importancia para la sociedad debido a los beneficios derivados de su uso, en el control de plagas y vectores causantes de enfermedades. Sin embargo el uso generalizado de agroquímicos, se ha asociado ampliamente con la contaminación del agua, suelo y alimentos, razón por lo cual es necesario implementar acciones para garantizar su eliminación de una manera segura, eficiente y viable económicamente.

Tabla 1.4. Microorganismos aislados de diferentes ambientes contaminados con plaguicidas (Ortiz-Hernández *et al.* 2011).

Microorganismo	Plaguicida	Sitio de aislamiento	Referencia
BACTERIAS			
<i>Ochrobactrum sp.</i>	Metil paratión	Suelo	Qiu <i>et al.</i> 2006
<i>Arthrobacter sp.</i>	Endosulfán		Weir <i>et al.</i> 2006
<i>Sphingomonas spp.</i>	Isoproturón		Bending y Rodríguez 2007
<i>Burkholderia sp.</i>	Fenitrotión		Hong <i>et al.</i> 2007
<i>Sphingomonas sp.</i>	Clorpirifós	Aguas residuales	Li <i>et al.</i> 2007
<i>Enterobacter spp.</i>	Clorpirifós	Suelo	Singh <i>et al.</i> 2004
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	Metil paratión	Aguas residuales	Liu <i>et al.</i> 2007
<i>Ochrobactrum sp. Castellaniella sp., Variovorax sp., Pseudomonas sp.</i>	Igepal CO-210 Igepal CO-520	Suelo	DiGioia <i>et al.</i> 2008
<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	Dimetoato, Malatión		Al-Qurainy y Abdel-Megeed 2009
<i>Bacillus pumilus</i>	Clorpirifós		Anwar <i>et al.</i> 2009
<i>Bacillus sp.</i>	Mesotrione		Battison <i>et al.</i> 2009
<i>Serratia liquefaciens, Serratia marcescens, Pseudomonas sp.</i>	Diazinón		Cycón <i>et al.</i> 2009
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bifentrín, Fenpropatrín, Cipermetrina	Aguas residuales	Liao <i>et al.</i> 2009
<i>Pseudomonas putida, Burkholderia gladioli</i>	Propenofos	Suelo	Malghani <i>et al.</i> 2009
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	DDT		Mwangi <i>et al.</i> 2010
<i>Providencia stuartii</i>	Clorpirifós		Rani <i>et al.</i> 2009
<i>Pseudomonas putida</i>	Propiconazole	Rizósfera	Sarkar <i>et al.</i> 2009
<i>Micrococcus sp.</i>	Diurón	Diurón	Sharma <i>et al.</i> 2010
<i>Sphingobium sp.</i>	Metil paratión, Fenpropatrín	Aguas residuales	Yuanfan <i>et al.</i> 2010
HONGOS			
<i>Aspergillus niger</i>	Endosulfán	Suelo	Bhalerao y Puranik 2007
<i>Ganoderma australe</i>	Lindano	Muñón de <i>Pinus pinea</i>	Rigas <i>et al.</i> 2007
<i>Trichosporon sp.</i>	Clorpirifós	Aguas residuales	Xu <i>et al.</i> 2007
<i>Verticillium sp. DSP</i>	Clorpirifós	Suelo	Fang <i>et al.</i> 2008
<i>T. versicolor (R26)</i>	Atrazina		Bastos y Magan, 2009
<i>Aspergillus sydowii, Bionectria sp., Penicillium miczynskii, Trichoderma sp.</i>	DDT	Esponja marina	Ortega <i>et al.</i> 2010
ALGAS			
<i>Chlorophyceae sp., Scenedesmus spp., Cyanobacteria, Nostoc spp.</i>	Fenamifos	Suelo	Cáceres <i>et al.</i> 2008
<i>Anabaena sp.</i>		Aguas residuales	Cáceres <i>et al.</i> 2008
LEVADURAS			
<i>Lipomyces kononenkoae</i>	Picloram	Suelo	Sadowsky <i>et al.</i> 2009

Referencias

- Albert L. (2004). Panorama de los Plaguicidas en México. *En: 7° Congreso de Actualización en Toxicología Clínica*. Nayarit, México. pp 2-8.
- Al-Qurainy F. y Abdel-Megeed A. (2009). Phytoremediation and detoxification of two organophosphorous pesticides residues in Riyadh area. *World Applied Sciences Journal*. 6(7):987-998.
- Anurag-Sharma A., Mishra M., Shukla A.K., Kumar R., Abdin M.Z., Chowdhuri D. K. (2012). Organochlorine pesticide, endosulfan induced cellular and organismal response in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Hazardous Materials*. 221-22:275-287.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.045>
- Anwar S., Liaquat F., Khan Q.M., Khalid Z.M., Iqbal S. (2009). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Material*. 168:400-405.
- Badii M.H., y Landeros J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT/Toxicología de Plaguicidas*. 4(19):21-34.
- Bailey G.W., y White J.L. (1970). Factor influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. *Residue Reviews*. 32:29-92.
- Barriuso E., Gallardon P., Schiavon M. (1994). Biodisponibilité des pesticides dans le sol. Actes du 24eme Congrès du Groupe Française des pesticides. Bordeaux, France.
- Bastos A.C., y Magan N. (2009). *Trametes versicolor*: potential for atrazine bioremediation in calcareous clay soil, under low water availability conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 63:389-394.
- Batissou I., Crouzet O., Besse-Hoggan P., Sancelme M., Mangot J.F., Mallet C., Bohatier J. (2009). Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. *Environmental Pollution*. 157:1195-1201.
- Bending G.D., y Rodríguez-Cruz M.S. (2007). Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. *Chemosphere*. 66:664-671.
- Bhalerao T.S., y Puranik P.R. (2007). Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 59:315-321.
- Bird S.B., Sutherland T.D., Gresham C., Oakeshott J., Scott C., Eddleston M. (2008). OpdA, a bacterial organophosphorus hydrolase, prevents

- lethality in rats afterpoisoning with highly toxic organophosphorus pesticides. *Toxicology*. 247:88-92.
- Bohn H., Mcneal B., O'connor G. (1993). *Química del suelo*. Editorial Limusa. México. 150 pp.
- Bollag J.M., y Liu S.Y. (1990). Biological transformation processes of pesticides. *En: Pesticides in the soil Environment: Process, impacts and modeling*. Cheng H.H. (Ed.). The soil Science Society of America. Wincosin, USA. pp 169-211.
- Cáceres P.T., Megharaj M., Naidu R. (2008). Biodegradation of the Pesticide Fenamiphos by Ten Different Species of Green Algae and Cyanobacteria. *Curr Microbiol*. 57:643-646.
- Cai D.W. (2008). Understand the role of chemical pesticides and prevent misuses of pesticides. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*. 1: 36-38
- Calvet R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives*. 83:145-177.
- Cepeda J. (1991). *Química del suelo*. Trillas. México 114 pp.
- Chauhan A., y Rakesh K. (2010). Biodegradation: gaining insight through proteomics. *Biodegradation*. 21:861-879.
- Cheng H. (1990). Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling. *SSSA Book Series*. 2:430-458.
- CICOPAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas). (2004). *Catálogo oficial de plaguicidas*. México, D.F. pp 15-27.
- Cycón M., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. (2009). Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere*. 76:494-501.
- DiGioia D., Michelles A., Pierini M., Bogialli S., Fava F., Barberio C. (2008). Selection and characterization of aerobic bacteria capable of degrading commercial mixtures of low-ethoxylated nonylphenols. *Journal of Applied Microbiology* 104: 231-242.
- Doménech X. (1995). *Química del suelo. Impacto de los contaminantes*. 3a edición. Editorial Miraguano. Madrid, España. 300 pp.
- EPA / USDA (Environmental Protection Agency / U. S. Department of Agriculture). (2005). *Base de datos de productos plaguicidas*. Departamento de regulación de plaguicidas de California. Estados Unidos.
- Fait A., y Colosio C. (1998). Recent advances and current concepts in pesticide hazards. pp 15-29. *En: The year book of occupational and environmental*

- medicine. Emmett E.A., Frank A.L., Gochfeld M., Hez S.M. (Ed.). St. Louis, Mosby.
- Fang H., Xianga Y.Q., Haoa Y.J., Chua X.Q., Pana X.D., Yub J.Q., Yua Y.L. (2008). Fungal degradation of chlorpyrifos by *Verticillium sp.* DSP in pure cultures and its use in bioremediation of contaminated soil and pakchoi. *International Biodeterioration y Biodegradation*. 61:294-303.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (2002). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Adoptado por el 123º periodo de sesiones del Consejo de la FAO. Roma, Italia. pp 1-31.
- FAOSTAT (2012). "División estadística". http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#DOWNLOAD
- Ferrusquía C., Roa G., García M., Amaya A., Pavón T. (2008). Evaluación de la degradación de metil paratión en solución usando fotocatalisis heterogénea. *Rev. Latinoamericana de Recursos Naturales*. México. 4(2):285-290.
- González V.M.L., Capote M.B., Rodríguez D.E. (2001). Mortalidad por intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas. *Centro Nacional de Toxicología*. Habana, Cuba. 39(2):136-43.
- Gramática P., Di. Guardo. (2002). Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. *Chemosphere*. 47:947-956.
- Hong Q., Zhang Z., Hong Y., Li S. (2007). A microcosm study on bioremediation of fenitrothion-contaminated soil using *Burkholderia sp.* FDS-1. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 59(1):55-61.
- INE (Instituto Nacional de Ecología). (2005). Dirección de desechos sólidos y restauración de suelos de la Dirección General de Materiales, Residuos y Actividades Riesgosas del Instituto Nacional de Ecología. D.F., México.
- Kennes. C. Lema. J. y Veiga. M. (1994). Biodegradación de Compuestos Orgánicos Tóxicos. Tesis de Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela y Universidad de la Coruña.
- Leahy J., y Colwell R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews*. 54(3):305-315.
- Li X., He J., Li S. (2007). Isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium, *Sphingomonas sp.* strain Dsp-2, and cloning of the mpd gene. *Research in Microbiology*. 158(2):143-149.
- Liao M., Zhang H. J., Xie X.M. (2009). Isolation and identification of degradation bacteria *Enterobacter aerogenes* for pyrethroids pesticide residues and its degradation characteristics. *Environmental Science*. 30(8):2445-2451.

- Lichtinger W.V., Arriaga B.R.E. y Bolaños-Cacho R.J.A. (2001). Bases de la política para la prevención de la contaminación del suelo y su remediación. Semarnat. D.F., México. pp 5-65.
- Liu C.J., Men W.J., Liu Y.J. y Zhang H. (2002). The pollution of pesticides in soils and its bioremediation. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 18(4): 295-297.
- Liu F.Y., Hong M.Z, Liu D.M, Li Y.W., Shou P.S., Yan H., Shi G.Q. (2007). Biodegradation of methyl parathion by *Acinetobacter radioresistens* USTB-04. *Journal of Environmental Sciences*. 19(10):1257-1260.
- Liu W., Zhu S.Z., Wang J., Wang J.H., Xie H., Song Y. (2009). Assessment of the genotoxicity of endosulfan in earthworm and white clover plants using the comet assay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 56:742-746. DOI 10.1007/s00244-009-9309-8.
- Madrigal. A. 1978. Consideraciones generales sobre el uso de pesticidas. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*. (3) 27-43.
- Malghani S., Chatterjee N., Yu H.X., Luo Z. (2009). Isolation and identification of profenofos degrading bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. 40:893-900.
- Manzanilla-Cano J. A., Barceló-Quintal M. H. y Reyes-Salas O. (2001). Degradación del metilparatión: hidrólisis básica y transformación con Cu (II) en medio ácido. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 27(2):71-78.
- Mateen, A., Chapalmandugu, S., Kaskar, B. Bhatti, A.R. and Chaudhry, G.R. (1994) Microbial metabolism of carbamate and organophosphate pesticide. In: *Biological Degradation and Bioremediation of Toxic Chemicals* (Chaudhry, G.R., Ed.). Dioscorides Press, Portland, OR. pp. 198-233.
- Mohammad H.B., y Varela S. (2008). Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *CULCyT / Toxicología e Insecticidas*. 5(28):5-17.
- Mwangi K., Boga H.I, Muigai A.W, Kiiyukia C., Tsanuo M.K. (2010). Degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by bacterial isolates from cultivated and uncultivated soil. *African Journal of Microbiology Research*. 4 (3):185-196.
- Olea N., y Fernández M.F. (2001). Plaguicidas persistentes. Laboratorio de Investigaciones Médicas, Hospital Clínico Universidad de Granada. Madrid, España. pp 1-18.
- OMS (Organización Mundial de la Salud), OPS (Organización Panamericana de la Salud). (1990). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Serie Vigilancia, 9. Plaguicidas organoclorados. México: OMS/OPS.

- OMS (Organización Mundial de la Salud), OPS (Organización Panamericana de la Salud). (1993). División Salud y Ambiente. Plaguicidas y salud en las Américas. Washington: OMS/OPS.
- OMS (Organización Mundial de la Salud: impacto del uso de pesticidas en la agricultura). (2000). Ginebra, Suiza. Publicaciones de la OMS.
- Ortega S.N., Nitschke M., Mouad A.M., Landgraf M.D., Rezende O.M.O., Selegim R. M.H., Sette L.D., Porto A.L. (2010). Isolation of Brazilian marine fungi capable of growing on DDD pesticide. *Biodegradation*. 22:43-50.
- Ortiz-Hernández M.L. (2002). Biodegradación de plaguicidas organofosforados por nuevas bacterias aisladas del suelo. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Centro de Investigación en Biotecnología. Cuernavaca Morelos, México. 155 p.
- Ortiz-Hernández M.L., Sánchez-Salinas E., Vázquez R., Quintero R. (1997). Plaguicidas Organofosforados y Ambiente. *Biotecnología*. 2(3):129-151.
- Ortiz-Hernández M.L., Sánchez-Salinas E., Olvera-Velona A., Folch-Mallol J.L. (2011). Pesticides in the Environment: Impacts and its biodegradation as a strategy for residues treatment. *En: Pesticides - Formulations, Effects, Fate*. Margarita Stoytcheva Editor. InTech. pp 551-574.
- Pasillos C.J., Van E.L.L., Hoagland E.R., Zablutowicz, M.R. (2001). Metabolismo del pesticida en plantas y microorganismos. Universidad de Oxford. *Ciencia De la Mala hierba*: 51(4):472-495.
- Pimentel D. 2009. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. In: *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process (Vol. 1)* (P Rajinder and A Dhawan eds). Springer, 88-111.
- Porta J., López-Acevedo M., Roquero C. (1999). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. 520 pp.
- Qiu X.H., Bai W.Q., Zhong Q.Z., Li M., He F.Q., Li B.T. (2006). Isolation and characterization of a bacterial strain of the genus *Ochrobactrum* with methyl parathion mineralizing activity. *Journal of Applied Microbiology*. 101:1364-5072.
- Rani M.S., Lakshmi K.V., Devi P.S, Madhuri R.J., Aruna S., Jyothi K., Narasimha G., Venkateswarlu K. (2009). Isolation and characterization of a chlorpyrifosdegrading bacterium from agricultural soil and its growth response. *African Journal of Microbiology Research*. 2:26-31.
- Rigas F., Papadopoulou K., Dritsa V., Doulia D. (2007). Bioremediation of a soil contaminated by lindane utilizing the fungus *Ganoderma australe* via

- response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*. 140:325-332.
- Roy W.R., Krapac S.F.J., Chou, Griffin R.A. (1991). Batch-Type procedures for estimating soil adsorption of chemicals. Risk reduction engineering laboratory office of research and development U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio.
- Sadowsky J.M., Koskinen C.W., Bischoff M., Barber L.B., Becker M.J., Turco F.R. (2009). Rapid and Complete Degradation of the Herbicide Picloram by *Lipomyces kononenkoae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:4878-4882.
- Sánchez-Salinas E., y Ortiz-Hernández M.L. (2011). Riesgos y estrategias en el uso de plaguicidas. *Inventio: La génesis de la cultura universitaria en Morelos*. 14:21-28.
- Sarkar S., Seenivasan S., Premkumar R. (2009). Biodegradation of propiconazole by *Pseudomonas putida* isolated from tea rhizosphere. *Plant, Soil and Environment*. 55(5):196-201.
- Sarmah K.A., Close E.M., Mason W.H.N. (2009). Dissipation and sorption of six commonly used pesticides in two contrasting soils of New Zealand. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 44:325-336.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2011). Base de datos estadísticos. "Inventario de Residuos Peligrosos de Plaguicidas Obsoletos o Caducos".
http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/approot/dgeia_mce/html/mce_index.html.
- SEMARNAT (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2012). Base de datos estadísticos. "Producción de insecticidas y plaguicidas".
http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_AGRIGAN05_04&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce.
- Senesi N. (1992). Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of the Total Environment*. 123/124:63-76.
- Sharma P., Chopra A., Cameotra S.S., Suri C.R. (2010). Efficient biotransformation of herbicide diuron by bacterial strain *Micrococcus* sp. PS-1. *Biodegradation*. 21:979-987.
- Singh B.K., Walker A., Alun J., Morgan W., Wright D.J. (2004) Biodegradation of chlorpyrifos by *Enterobacter* strain B-14 and its use in bioremediation of contaminated soils. *Applied and Environmental Microbiology* 70:4855-4863.
- Tomlin C.D.S. (2000). *The Pesticides Manual*. 12ª Edición. British Crop Protection Council. Farnham, Reino Unido. 1200 pp.

- Wan H., Wong M., Mok C. (1994). Mercury (II) ion-promoted hydrolysis of some organophosphorus pesticide. *Pesticide Science*. 42:93-99.
- Weir K.M., Sutherland T.D., Horne I., Russell R. J., Oakeshott J.G. (2006). A single moonooxygenase, *ese*, is involved in the metabolism of the organochlorides endosulfan and endosulphate in an *Arthrobacter sp.* *Applied and Environmental Microbiology*. 72:3524-3530.
- Xu G., Li Y., Zheng W., Peng X., Li W., Yan Y. (2007). Mineralization of chlorpyrifos by coculture of *Serratia* and *Trichosporon spp.* *Biotechnology Letters*. 29:1469-1473.
- Yeomans J., Carrillo E., Ruiz A. (2004). Biodegradación de Plaguicidas. *BIOtecnia*. Sonora, México. 6(2):3-62.
- Yuanfan H., Jin Z., Qing H., Qian W., Jiandong J., Shunpeng L. (2010). Characterization of a fenprothrin-degrading strain and construction of a genetically engineered microorganism for simultaneous degradation of methyl parathion and fenprothrin. *Journal of Environmental Management*. 91:2295-2300.
- Zhang R., Cui Z., Jiang J., Gu X., Li S. (2005). Diversity of organophosphorus pesticides degrading bacteria in a polluted soil and conservation of their organophosphorus hydrolase genes. *Canadian Journal of Microbiology*. 5:337-343.

CAPÍTULO 2

EL ENDOSULFÁN: UN ANÁLISIS DE SU SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS

Mariana Romero-Aguilar, Enrique Sánchez-Salinas y Ma. Laura Ortiz-Hernández

Introducción

Los compuestos orgánicos persistentes (COP) son compuestos que por sus características fisicoquímicas resisten, en un grado variable, la degradación fotoquímica, química y bioquímica, lo que causa que su vida media en el ambiente sea elevada. Se han identificado diferentes concentraciones en muestras de agua, aire y suelo de todas las regiones del mundo, inclusive en desiertos y regiones polares lejanas a los sitios de aplicación o liberación. Aunque existen COP de origen natural, la gran mayoría de estos compuestos son xenobióticos. Por mucho tiempo han tenido diversos usos, ejemplos de estos son los bifenilos policlorados (PCB), los éteres de difenilo polibromados (PBDE) y el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (Matthews 2006).

Algunos plaguicidas clorados como el dieldrín, endrín, heptacloro, DDT y BHC, se han utilizado ampliamente en diversos tipos de cultivos y en la prevención de enfermedades transmitidas por vectores, principalmente insectos. Su estructura les confiere diferentes características como alta estabilidad química, insolubilidad en agua, no volatilidad, alta toxicidad, persistencia ambiental, bioacumulación y alta solubilidad en disolventes orgánicos, además de ser lipofílicos. En 2004 se les designó como contaminantes orgánicos persistentes. Su uso ha sido prohibido en muchos países desde la década de 1970 (Ramírez y Lacasaña 2001, Kataoka *et al.* 2010, Greig *et al.* 2011)

En general su vida media en el ambiente es de 5 años, sin embargo, puede variar de acuerdo con las características químicas particulares de los productos. Por ejemplo, el beta hexaclorociclohexano permanece en el ambiente 3 años, mientras que para el DDT, la vida media es de 25 a 30 años (Terrones *et al.* 2000).

En todo el mundo y principalmente en los sistemas agrícolas modernos, los plaguicidas han sido usados para el control de organismos plaga y para

Laboratorio de Investigaciones Ambientales, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209.

incrementar la producción de los cultivos (Sharma *et al.* 2012). La búsqueda de más y mejores métodos de control, llevó al uso de plaguicidas botánicos a principios de 1940, y la piretrina y rotenina fueron dos de los productos utilizados para el combate de insectos; sin embargo, su uso disminuyó por su rápido deterioro ante la luz solar.

Fue a partir de la Segunda Guerra Mundial cuando se utilizó por primera vez un compuesto sintetizado químicamente para el control de insectos que producían enfermedades a las tropas, siendo el DDT el primer plaguicida sintetizado para el control de los mosquitos (Matthews 2006). Dentro del grupo de los compuestos organoclorados, destaca el endosulfán, el cual ha sido utilizado ampliamente en diversos países (Weber *et al.* 2010).

Descripción del endosulfán

El endosulfán (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepina-3-oxido) (CAS 115-29-7) es un plaguicida organoclorado que se clasifica como un ciclodieno. Sin embargo, su grupo diéster sulfito es relativamente reactivo y como consecuencia, su persistencia en el ambiente es más baja que la de otros ciclodienos, aunque todavía mayor que la de muchos otros insecticidas (Awasthi *et al.* 1997; Sutherland *et al.* 2000). Su composición es principalmente de dos isómeros α y β -endosulfán o endosulfán I y II, respectivamente, en una relación aproximada de 7:3 (Figura 2.1). Estos isómeros tienen una amplia distribución en el ambiente y han sido detectados en diferentes compartimentos ambientales (suelos, aguas, atmósfera y sedimentos), así como a distancias considerables desde el punto de su aplicación original (Sharma *et al.* 2012; Kalyani 2010; Kataoka *et al.* 2010; Sarat y Singh 2010; Liu *et al.* 2009; 1999).

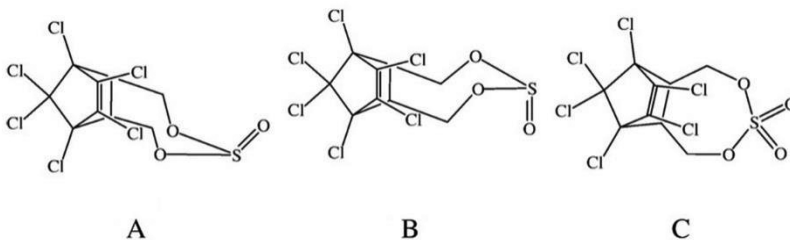


Figura 2.1. Estructuras químicas del endosulfan. A, α -endosulfan; B, β -endosulfan y C, endosulfan sulfato (Weber *et al.* 2010).

El endosulfán ha sido clasificado como un compuesto orgánico persistente por el Comité revisor de los contaminantes orgánicos (POPRC, por su siglas en

inglés), durante la convención de Estocolmo, Suecia (Sharma *et al.* 2012). La Organización Mundial de la Salud (2002) clasifica al endosulfán en la Clase II: moderadamente peligroso. Fue introducido por primera vez al mercado en 1954 y es utilizado ampliamente en el control de numerosos insectos en una amplia variedad de cultivos alimentarios y no alimentarios (Guerin 1999; Sutherland *et al.* 2000; Kumar y Philip 2007; Weber *et al.* 2010). Es usado extensivamente debido a su amplio espectro de actividad y relativos bajos costos (Liu *et al.* 2009). Se utiliza principalmente en los cultivos de cereales, té, café, algodón, oleaginosas, frutas y verduras (Kalyani *et al.* 2010; Sarat y Singh 2010). A pesar no estar autorizado para la floricultura, se estima que en diversos países, tales como Colombia, Ecuador, México, India, Kenia y Zimbabue, existen 190,000 personas empleadas en esta actividad y que se encuentran ocupacionalmente expuestas a este organoclorado (Flores *et al.* 2011).

En México la CICOPLAFEST (2004) autorizó su uso para cultivos de alfalfa, algodón, calabaza, caña de azúcar, cebada, fresa, frijol, jitomate y maíz, entre otros más.

La producción y uso de este organoclorado aumentó debido a severas restricciones en más de treinta países (Liu *et al.* 2009), lo mismo ocurrió con el DDT y el hexaclorociclohexano (HCH), plaguicidas de la misma familia química (Sutherland *et al.* 2000; Sarat y Singh 2010).

De acuerdo con la Agencia de protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA por sus siglas en inglés), se estima que se usaron 630 toneladas de endosulfán anualmente durante el período de 1987 a 1997, con una producción durante la década de los 80's de aproximadamente 12,800 toneladas. Estados Unidos de América exportó más de 136 toneladas de este ingrediente activo de 2001 a 2003, principalmente a países de América Latina. Se calcula que a nivel global se han producido 308,000 toneladas entre 1950 y 2000. Sólo en la India se ha estimado que existen seis plantas que producen aproximadamente 5,400 toneladas anuales y en China se fabrican anualmente 2,800 toneladas (Saiyed *et al.* 2003; Weber *et al.* 2010).

Efectos en el ambiente

En el ambiente, el endosulfán puede sufrir una transformación química y pasar de β -endosulfán a α -endosulfán, sin que esta reacción sea reversible. Se ha demostrado que el α -endosulfán se volatiliza dos veces más que el β -endosulfán, por lo tanto, su conversión provoca que se libere una mayor concentración de

plaguicida a la atmosfera y con ello su dispersión sea más amplia al lugar de su aplicación (Weber *et al.* 2010).

Su tiempo de vida media en suelo se calcula entre los 60 y 800 días. Sin embargo, en aguas subterráneas y sedimentos se ha identificado que puede permanecer hasta 6 años (Kumar 2007; Castillo *et al.* 2011). De acuerdo con diversos autores, el endosulfán puede sufrir una degradación natural, debido a los cambios ambientales, como por ejemplo, un pH alcalino y foto-oxidación por luz ultravioleta. Estos procesos se pueden llevar a cabo en el suelo y en el agua (Kumar y Philip 2007). En general, los isómeros alfa y beta endosulfán son degradados a través de la oxidación del azufre formando sulfato endosulfán (con mayor toxicidad que el endosulfán en cualquiera de sus isómeros) o hidrólisis que da origen al metabolito no tóxico diol endosulfán. En el ambiente, el sulfato endosulfán es el residuo más detectado en suelos, tejidos de plantas y animales. Por lo anterior, la acumulación de dicho residuo en el suelo afecta negativamente a este y su productividad (Katoaka *et al.* 2010; Castillo *et al.* 2011).

Debido a su uso amplio y su distribución en el ambiente, el endosulfán contamina suelos, aguas subterráneas y superficiales, sedimentos y atmósfera (Sharma *et al.* 2012; Castillo *et al.* 2011; Liu *et al.* 2009; Kumar 2007,).

Efectos en los organismos

Por sus características químicas, toxicidad y persistencia los efectos biológicos del endosulfán en los organismos son diversos. Su efecto insecticida se basa principalmente en su efecto neurotóxico (Park *et al.* 2001; Stenersen 2004; Castillo *et al.* 2011).

Sin embargo, no sólo afecta a estos organismos blanco, ya que cuando se encuentra en ambientes acuáticos es extremadamente tóxico para peces e invertebrados. En anfibios se ha observado su efecto como agente disruptor de hormonas, suprimiendo la acción de la testosterona y 17β -estradiol, lo cual ha provocado una baja en la tasa de natalidad de comunidades de animales silvestres (Awasthi *et al.* 1997; Sutherland *et al.* 2000; Hussain *et al.* 2007; Kumar y Philip 2007; Kataoka *et al.* 2010).

En mamíferos se ha determinado toxicidad gonadal, genotoxicidad y la neurotoxicidad (Sutherland *et al.* 2000), son un antagonista de los receptores GABA abiertos por canales de cloro y un inhibidor de Ca^{2+} , Mg^{2+} ATPasa. Ambas enzimas están involucradas en la transferencia de impulsos nerviosos. Se han administrado diversas dosis letales en ratas que van de una LD_{50} de 50

mg/kg hasta 80 mg/kg, se clasifica como un plaguicida moderadamente riesgoso (Park *et al.* 2001; Stenersen 2004).

Varios estudios han determinado que su toxicidad gonadal, genotoxicidad y neurotoxicidad es alta. En mamíferos marinos, Greig *et al.* (2011) mencionan que este organoclorado y otros COP, debido a su característica lipofílica, se almacenan en el tejido graso. Un ejemplo de esto es la transferencia de estos compuestos a través de la placenta. En especies como la *Phoca vitulina* y *Halichoerus grypus*, la transferencia se da a través de la leche materna, o bien a través de las presas ingeridas (Katoaka *et al.* 2010).

Efectos sobre la salud humana

La fuente principal de contaminación y absorción del endosulfán es a través de la exposición durante su aplicación y manipulación de la población ocupacionalmente expuesta (Flores *et al.* 2011; Hughesa *et al.* 2011). Además, por su presencia en los alrededores de los campos agrícolas, en la atmósfera, suelos, sedimentos, aguas superficiales y los productos alimenticios el endosulfán se encuentra en contacto con diversos organismos (Hussain *et al.* 2007)

Terrones *et al.* (2000) han reportado la presencia DDT, b-BHC, y-BHC, dieldrín, metoxicloro, lindano y heptacloro en suero sanguíneo, tejido adiposo, cordón umbilical y leche materna de mujeres en etapa terminal del embarazo en el estado de Aguascalientes. No existen informes oficiales que señalen la utilización de estos compuestos en el control de brotes sanitarios o uso comercial.

Se ha observado una disminución de la concentración de estrógeno, lo que causa un incremento en la probabilidad de contraer cáncer de mama debido a los altos niveles de 16-hidroxiestronina, causante del desarrollo de células cancerígenas. En glándulas mamarias se ha observado una afectación en el mRNA, que provoca una modificación en la actividad transcripcional (Park *et al.* 2001; Waliszewski *et al.* 2003; Stenersen 2004).

Se han encontrado correlación entre el empleo en la industria de flores cortadas y el riesgo de aborto espontáneo, además de la incidencia de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas en trabajadores agrícolas de Quito, Ecuador, que habían estado expuestos a una mezcla de diversos plaguicidas, incluyendo el endosulfán (Hughesa *et al.* 2011).

Convenios internacionales

Debido a las características mencionadas y la problemática asociada al uso, el endosulfán ha sido motivo de diversos estudios que permitan tener bases científicas para su prohibición a nivel internacional. En algunos países ha sido prohibido desde hace más de una década, sin embargo en otros como la India sigue siendo utilizado para el control de plagas (Kumar y Philip 2007). Diversos grupos ambientalistas han solicitado la inclusión del endosulfán a los convenios internacionales que norman la distribución de los COP.

En el 2008, la Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL) presentó el primer reporte regional sobre alternativas al endosulfán en América Latina, el cual describe las características de toxicidad, persistencia y bioacumulación del endosulfán, lo cual provocó que la Unión Europea lo nominara para ingresar al Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos persistentes (COP) (Bejarano 2009).

A partir de ese momento comenzaron los trabajos para que este plaguicida entrara al Anexo A de dicho convenio, para lo cual el comité de examen de los COP concluyó que sería incluido en el Anexo D, que establece los requisitos de información y criterios de selección. Posteriormente, en el 2009, el comité aprobó el perfil de riesgos del endosulfán de acuerdo con el Anexo E del convenio, lo que permitió que un grupo de trabajo, del cual México formó parte, preparara la evaluación del manejo de riesgos, según las indicaciones del Anexo F del dicho convenio (que incluye la consideración de alternativas y aspectos socioeconómicos). Así surgió el segundo reporte regional de la RAP-AL, en la cual se establecieron las alternativas de tratamientos, alternativas no químicas, y su estado actual en Bolivia, Costa Rica, Cuba, Chile y Paraguay. Después de esta evaluación tan detallada, el endosulfán, sus isómeros alfa y beta, así como el principal producto de degradación, el sulfato de endosulfán, se incluyeron en el Anexo A del Convenio de Estocolmo para su eliminación global, con posibilidad de excepciones específicas y temporales.

En México, para cumplir con lo establecido en el Convenio de Estocolmo, el Instituto Nacional de Ecología, el año 2011 realizó el Diagnóstico de la Situación del Endosulfán en México (INE 2011), el cual presentó una serie de alternativas no químicas de sustitución que se han aplicado de manera exitosa como son:

- El control biológico con insectos depredadores y parásitos, así como microorganismos entomopatógenos,
- El uso de trampas,
- El manejo del cultivo o control cultural: fecha de siembra, densidad de siembra adecuada, variedad resistente o tolerante, podas, nutrición balanceada del cultivo, rotaciones y/o asociaciones de cultivos,
- El uso de bioinsecticidas o insecticidas de origen vegetal y semioquímicos (sustancias químicas producidas por un organismo que sirven de intermediarios con otros organismos, por ejemplo, las feromonas) , y
- El control manual, entre otros.

Opciones de tratamientos del endosulfán para su eliminación

Existen diferentes opciones desarrolladas para el tratamiento del endosulfan, las cuales incluyen procesos químicos, fisicoquímicos y físicos.

Gupta e Imran-Ali (2007) presentaron una propuesta de tratamiento con una suspensión de carbón producida en generadores industriales de combustible a base de aceite. Fue tratado con peróxido de hidrogeno, calentado a 200°C, llevado a una pirolisis de 400°C, a una solución 1M de HCl y empaquetado en una columna tipo Batch. La máxima adsorción se encontró a los 90 min, pH 6.5, 0.025 dosis g/L, y 25°C con una eficiencia de adsorción de endosulfán de 34.11 y 36.06 mg/g.

Barcelo *et al.* (2008) realizaron estudios de degradación fotoquímica en soluciones acuosas del endosulfán a través de irradiación luz ultravioleta a una longitud de onda 254 nm. Obteniendo una posible vía de degradación fotoquímica, obteniendo la formación del endosulfán diol, su transformación a endosulfán-éter y, finalmente, la degradación completa del éter, a través de desplazamientos de potencia. Otro proceso alternativo es la electrodiálisis y Manisankar *et al.* (2001) demostraron que un electrodo de polipirrol revestido de carbón vítreo, es efectivo.

Por otro lado, existe la opción de aplicar tratamientos biológicos, pues diferentes reportes en la literatura indican que se han utilizando consorcios microbianos anaerobios y aerobios para lograr la degradación biológica del endosulfan, principalmente para lograr la oxidación del sulfato endosulfán, con resultados positivos (Weber *et al.* 2010). Debido a que estos procesos presentan ventajas

sobre los anteriormente mencionados, en este capítulo se describirá con más detalle el tratamiento biológico del endosulfan.

Tratamiento biológico

Diversos organismos nativos presentes en los ambientes contaminados se han adaptado a dichas condiciones, por lo que representan una opción para ser utilizados en estudios de degradación del contaminante en suelos y aguas (Sarat y Singh 2010). Con ello se propicia el tratamiento biológico, que utiliza sistemas vivos o sus partes (células completas o enzimas aisladas), los cuales catalizan reacciones químicas, sobre estos compuestos *xenobióticos* hasta llevarlos a compuestos más sencillos y menos tóxicos. Mediante la actividad degradadora de microorganismos capaces de asimilarlos como fuente alterna de carbono y energía, se puede llegar a la mineralización del contaminante.

Para el caso del endosulfan, los principales organismos utilizados para el tratamiento biológico son las bacterias y en menor medida, organismos en cultivos mixtos, induciendo que la única fuente de carbono sea el plaguicida.

Es importante conocer las reacciones de transformación del endosulfan, pues significan una herramienta fundamental para el proceso del tratamiento biológico. En condiciones aerobias se lleva a cabo una transformación por oxidación, dando como resultado sulfato endosulfán, y de acuerdo con la ruta metabólica propuesta por Klema y LaBelle (2007), se produce endosulfán monoalcohol (Figura 2.2). En baja concentración de oxígeno o en su ausencia, sufre hidrólisis generando endosulfán diol, y como metabolito final en un pH alcalino, hidroxicarboxilato endosulfán (Awasthi *et al.* 1997; Sutherland *et al.* 2000; Kumar 2007; Kataoka *et al.* 2010; Sarat y Singh 2010; Castillo *et al.* 2011). Sin embargo, el sulfato endosulfán es tan tóxico y persistente como el compuesto original, mientras que el endosulfán diol puede transformarse adicionalmente en éter endosulfán, endosulfán-éter hidroxilo, endosulfán dialdehído y lactona endosulfán, que son metabolitos menos tóxicos (Sutherland *et al.* 2000; Sarat y Singh 2010).

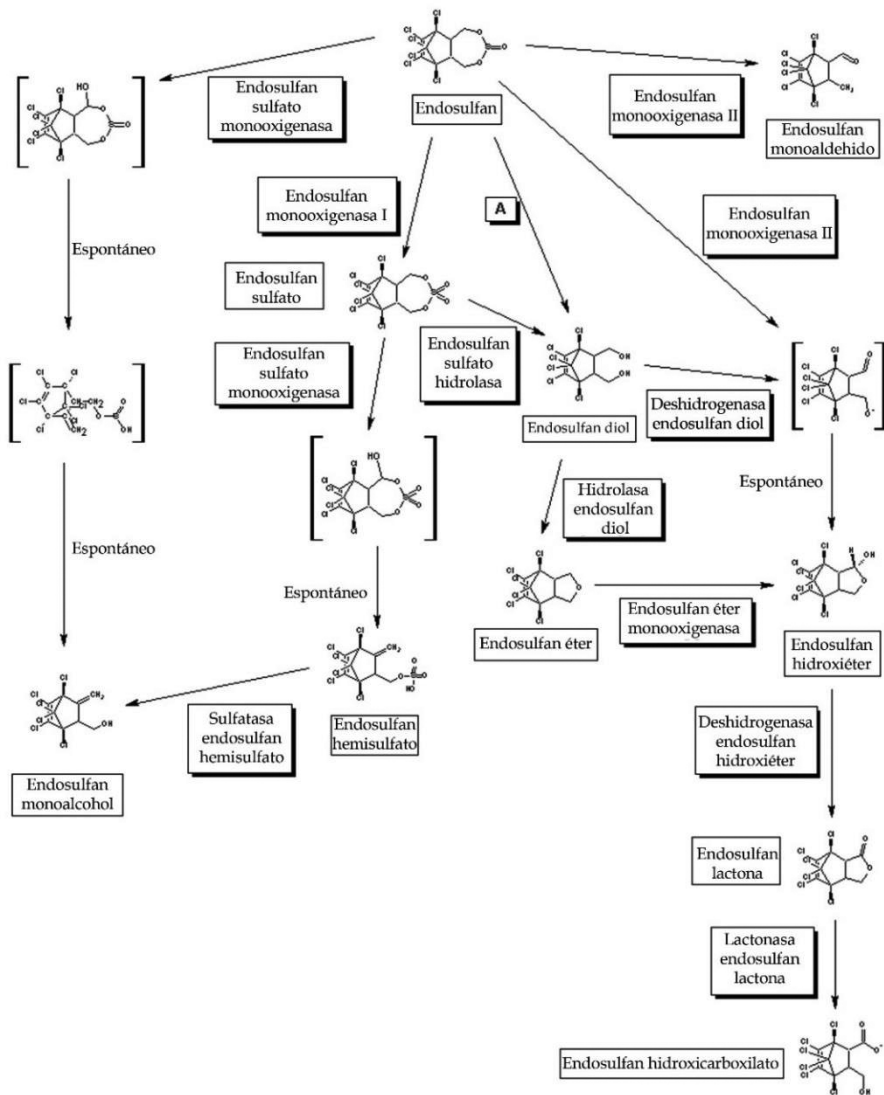


Figura 2.2. Ruta de degradación del endosulfán (University of Minnesota. Biocatalysis/Biodegradation Database, http://www.umbbd.ethz.ch/end/end_map.html).

En la tabla 2.1, se muestran algunos organismos aislados de suelos agrícolas reportadas con la capacidad de degradación de endosulfán utilizados como cultivos puros.

Tabla 2.1. Organismos capaces de degradación de endosulfán

Organismo	Tipo	Metabolito	Autor
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Hongo	Sulfato endosulfán	Kataoka <i>et al.</i> 2010
<i>Trichoderma harzianum</i>	Hongo	Sulfato endosulfán	Kataoka <i>et al.</i> 2010
<i>Aspergillus terreus</i>	Hongo	Sulfato endosulfán	Kataoka 2010
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacteria		Kwon <i>et al.</i> 2005
<i>Burkholderia cepacia</i>	Bacteria		Hussain <i>et al.</i> 2007
<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>	Bacteria	Mineralización completa	Kumar y Philip 2006
<i>Pseudomonas spinosa</i>	Bacteria		Hussain <i>et al.</i> 2007
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacteria		Hussain <i>et al.</i> 2007

Generalmente se utiliza el tratamiento a través de cultivos en laboratorio, sin embargo, en los suelos agrícolas, las propiedades y características de estos complica su tratamiento, debido principalmente por la variación espacial de los factores bióticos y abióticos a través de la profundidad del mismo. Kumar y Philip (2007), hacen un tratamiento en una reactor a escala piloto, obteniendo como resultado que la máxima eficiencia de degradación ($78\% \pm 0,2$ y $86,91 \pm 0,2\%$) se llevaron a cabo en la parte inferior del reactor en donde se favorecieron las condiciones anaeróbicas.

Consideraciones finales

El endosulfan es un plaguicida organoclorado que por sus características de persistencia y toxicidad, ha sido incluido como compuesto orgánico persistente en el Convenio de Estocolmo, lo que significa que es necesario desarrollar estrategias para su eliminación. En este capítulo se ha discutido sus efectos sobre el ambiente y la salud, por lo que es importante reiterar la necesidad de desarrollar tecnologías propias para tratar residuos de este plaguicida o para remediar sitios contaminados. Existen diferentes opciones de tratamiento, pero una que ofrece ventajas importantes y que causa menores efectos colaterales sobre el ambiente y salud, es el tratamiento biológico. Actualmente existen reportes de numerosos microorganismos que se han aislado de sitios contaminados y que se han caracterizado en función de sus capacidades de degradación; ellos son una herramienta potencial para la degradación de los residuos de este plaguicida.

Referencias

- Awasthi N., Manickam N., Kumar A. (1997). Biodegradation of endosulfan by a bacterial coculture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 59:928-934.
- Barcelo-Quintal M.H., Cebada-Ricalde M.C., Trejo-Irigoyen A. R., Rendón-Osorio R. B., Manzanilla-Cano J. A. (2008). Kinetic studies of endosulfan photochemical degradations by ultraviolet light irradiation in aqueous medium. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 43:120-126. DOI: 10.1080/03601230701794992.
- Barcelo-Quintal M.H., Cebada-Ricalde M.C., Trejo-Irigoyen A.R., Rendón-Osorio R.B., Manzanilla-Cano J.A. (2008). Kinetic studies of endosulfan photochemical degradations by ultraviolet light irradiation in aqueous medium. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 43:120-126. DOI: 10.1080/03601230701794992.
- Bejarano G.F. (2009). El endosulfán un nuevo Contaminante Orgánico Persistente en el Convenio de Estocolmo y el Convenio de Rotterdam. *En: El endosulfán y sus alternativas en América Latina. Segundo reporte 2009*. Bejarano G.F, coordinador. RAP-AL y RAPAM. 80 pp.
- Castillo J.M., Casas J., Romero E. (2011). Isolation of an endosulfan-degrading bacterium from a coffee farm soil: Persistence and inhibitory effect on its biological functions. *Science of the Total Environment* 412-413:20-27. DOI:10.1016/j.scitotenv.2011.09.062.
- CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas) (2004). Catálogo Oficial de Plaguicidas. SAGARPA. México D.F. 481 pp.
- Greig D.J., Ylitalo G.M., Wheeler E.A., Boyd E.A., Gulland F.M.D., Yanagida G.K., Harvey J.T., Hall A.J. (2011). Geography and stage of development affect persistent organic pollutants in stranded and wild-caught harbor seal pups from central California. *Science of the Total Environment*. 409:3537-3547. DOI:10.1016/j.scitotenv.2011.05.047
- Guerin T.F. (1999). The anaerobic degradation of endosulfan by indigenous microorganisms from low-oxygen soils and sediments. *Environmental Pollution*. 106:13-21.
- Gupta V., e Imran-Ali. (2007). Removal of Endosulfan and Methoxychlor from Water on Carbon Slurry. *Environmental Science & Technology*. 42:766-770.
- INE (Instituto Nacional de Ecología). (2011). Diagnóstico de la situación del Endosulfán en México. 53 pp.

- Hussain S., Arshad M., Saleem M., Khalid A. (2007). Biodegradation of a- and b-endosulfan by soil bacteria. *Biodegradation*. 18: 731-740. DOI 10.1007/s10532-007-9102-1.
- Kalyani S.S., Sharma J., Dureja P., Singh S.L. (2010). Influence of endosulfan on microbial biomass and soil enzymatic activities of a tropical alfisol. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 84:351-356.
- Kataoka R., Takagi K., Sakakibara F. (2010). A new endosulfan-degrading fungus, *Mortierella* species, isolated from a soil contaminated with organochlorine pesticides. *J. Pestic. Sci.* 35(3):326-332. DOI: 10.1584/jpestics.G10-10.
- Klema V. y LaBelle E. (2011). "Endosulfan Pathway Map"
http://umbbd.ethz.ch/end/end_map.html
- Kumar M., y Philip L. (2006). Enrichment and Isolation of a Mixed Bacterial Culture for Complete Mineralization of Endosulfán. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 41:81-96.
- Kumar M., y Philip L. (2007). Biodegradation of endosulfan-contaminated soil in a pilot-scale reactor-bioaugmented with mixed bacterial culture. *J. of Environmental Science and Health Part B*. 42:707-715. DOI: 10.1080/03601230701465940.
- Kwon G. S., Sohn H. Y., Shin K. S., Kim E. y Seo B. I. (2005). Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 67:845-850. DOI 10.1007/s00253-004-1879-9.
- Liu W., Zhu L.S., Wang J., Wang J.H., Xie H., Song Y. (2009) Assessment of the genotoxicity of endosulfan in earthworm and white clover plants using the comet assay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 6:742-746. DOI 10.1007/s00244-009-9309-8.
- Manisankar P., Viswanathan S., Prabu H.G. (2001). Electroanalysis of endosulfan and O-chlorophenol in polypyrrole coated glassy carbon electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 82(5):331-340. DOI: 10.1080/03067310290027758.
- Matthews G. (2006). *Pesticides: Health, safety and the environment*. Blackwell Publishing. 235 pp.
- Park D., Hempleman C.S, Propper R.C. (2001). Endosulfan exposure disrupts pheromonal systems in the red-spotted newt: a mechanism for subtle effects of environmental chemicals. *Environmental Health Perspectives*. 109:669-673.
- Ramírez J.A., y Lacasaña M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*. 4(2):67-75.

- Saiyed H., Dewan A., Bhatnagar V., Shenoy U., Shenoy R., Rajmohan H., Patel K., Kashyap R., Kulkarni P., Rajan B., Lakkad B. (2003). Effect of endosulfan on male reproductive development. *Environmental Health Perspectives*. 111(16):1958-1962.
- Sarat N., y Singh D.K. (2010). Biodegradation of endosulfan and endosulfan sulfate by *Achromobacter xylosoxidans* strain C8B in broth medium. *Biodegradation*. 22(5):845-857. DOI 10.1007/s10532-010-9442-0
- Stenersen J. (2004). *Chemical pesticides. Mode of action and toxicology*. CRC Press. 276 pp.
- Sutherland T.D., Horne I., Lacey M.J., Harcourt R.L., Russell R.J., Oakeshott J.G. (2000). Enrichment of an endosulfan-degrading mixed bacterial culture. *Applied and Environmental Microbiology* 66(7):2822-2828.
- Terrones M.C., Llamas V., Jaramillo J., Espino L., León B. (2000). DDT y plaguicidas relacionados presentes en la leche materna y otros tejidos de mujeres sanas con embarazos de término. *Ginecol. Obstret. Mex.* 68(3):97-104.
- Waliszewski S.M., Meza M.H., Infanzón R.M, Trujillo P.M., Morales G.M. (2003). Niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en mujeres con carcinoma mamario en Veracruz. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 19(2):59-65.
- Weber J., Halsall C., Muir D., Teixeira C., Small J., Solomon K., Hermanson M., Hung H., Bidleman T. (2010). Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Science of the Total Environment*. 408(15), 2966-2984.

PARTE II

PLAGUICIDAS Y SALUD (TOXICOLOGÍA Y ECOTOXICOLOGÍA)

CAPÍTULO 3

ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN TEJIDOS HUMANOS Y ALIMENTOS

Alicia Reyes-García¹, Rafael Valencia-Quintana², Juana Sánchez-Alarcón²,
María Magdalena García-Fabila¹, Stefan M. Waliszewski³ y Julieta Castillo-
Cadena¹

Introducción

En el análisis de los niveles de plaguicidas en tejidos humanos debemos considerar las distintas formas en las que la población en general puede estar expuesta, así como identificar los diferentes grupos de riesgo por edad y género entre otros aspectos. Se pueden considerar básicamente la exposición profesional y la exposición ambiental. Dentro de la primera clasificación se incluyen a los trabajadores de las industrias de formulación y síntesis de plaguicidas, a los aplicadores de plaguicidas en campañas sanitarias, a los trabajadores agrícolas que preparan y aplican las mezclas de plaguicidas, así como también a los trabajadores del campo que laboran en terrenos en los que previamente se han aplicado dichos compuestos. La población en general también puede estar expuesta a través de la contaminación de los alimentos, del aire, del suelo y del agua por dichos compuestos.

Por lo anterior, es indispensable el monitoreo de los residuos de plaguicidas en diferentes matrices ambientales y biológicas con el propósito de vigilar que éstos no sobrepasen los límites de tolerancia permitidos por las normas regulatorias y que siempre sean inferiores a la dosis o ingestión diaria admisible (IDA). Para el caso del monitoreo de residuos de plaguicidas en humanos, las muestras más empleadas han sido tejido adiposo, suero sanguíneo, leche materna y orina. Se recomienda la congelación de la muestra para su transporte y almacenamiento, sin la adición de algún conservador.

La cuantificación de los plaguicidas se realiza por determinación cuantitativa del compuesto original, así como de sus metabolitos, presentes en las diferentes matrices biológicas. En algunas otras ocasiones, que no competen a lo tratado en

¹ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Toluca s/n Toluca, Estado de México. C.P. 50100.

² Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Calle del Bosque s/n, col. Centro, Tlaxcala. C.P. 90000.

³ Instituto de Medicina Forense, Universidad Veracruzana. S.S. Juan Pablo II esq. Reyes Heróles fracc. Costa Verde s/n, Boca del Río, Veracruz. C.P. 94294.

el presente capítulo, a través de un análisis se puede determinar los niveles de afectación de los plaguicidas sobre alguna función biológica, tales como el aumento o disminución de alguna actividad enzimática (*v. gr.* colinesterasas), o algún otro biomarcador (*v. gr.* hiperglucemia y glucosuria), o bien, tiempos de coagulación, entre otros.

La presencia de residuos de plaguicidas en seres humanos así como en otros organismos, se debe, en parte, a su capacidad de persistencia y a sus propiedades fisicoquímicas como su hidrofobicidad, lo que les permite acumularse en los tejidos y órganos de los animales, el hombre y las plantas. Los plaguicidas organoclorados (OC) debido a sus propiedades lipofílicas y de persistencia se acumulan en el compartimento graso de los organismos (Waliszewski *et al.* 2008). En la organogénesis, los fetos están expuestos debido al paso de sustancias acumuladas a través de la placenta y, en una etapa posterior al parto, el bebé queda expuesto al aspirar aire contaminado y al consumir alimentos de origen animal como la leche y productos cárnicos (Waliszewski *et al.* 2000b, 2004; Alegría *et al.* 2005).

Las mujeres embarazadas y los recién nacidos son poblaciones especialmente susceptibles a la exposición de los plaguicidas persistentes. Se ha constatado un equilibrio toxicocinético en el depósito de sustancias persistentes durante el embarazo debido al transporte del tejido adiposo materno al feto. Esto consiste en un proceso pasivo de transporte y de equilibrio entre las concentraciones maternas y las del feto. La exposición a sus residuos se puede manifestar en el desarrollo de diferentes patologías cuya gravedad depende de los factores de exposición, predisposición genética y del estado general de salud (Waliszewski *et al.* 2005a,b). El equilibrio toxicocinético también se da entre los niveles de plaguicidas en el tejido adiposo y en la sangre después de una continua exposición y absorción. Este hecho ha facilitado la vigilancia de las poblaciones en riesgo al poder contar con un método menos invasivo que una biopsia de tejido adiposo.

A continuación se hace una breve reseña de los estudios realizados en México enfocados a determinar los residuos de plaguicidas en matrices biológicas y alimentos. La gran mayoría de estos estudios coinciden en que los plaguicidas OC son los más persistentes, y dentro de éstos los mayormente determinados son el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) y sus metabolitos. Las matrices biológicas más analizadas han sido el tejido adiposo, el suero sanguíneo, el suero de cordón umbilical y la leche materna. Las mujeres han sido el objetivo primordial en estos estudios, y en menor proporción, los niños y los hombres adultos.

Estudios realizados en México

Aunque el DDT y el lindano (γ -HCH), utilizados en México hasta 1999, han proveído de grandes beneficios al combate de vectores transmisores de enfermedades, y a la agricultura en la protección de las cosechas. Sus propiedades de persistencia en el ambiente y de bioconcentración en tejidos del cuerpo humano, rico en lípidos, reflejan la magnitud de la contaminación ambiental. Los análisis de tejido adiposo materno, suero sanguíneo materno, suero de cordón umbilical, calostro y leche materna madura, indican la circulación de estos compuestos a través de todos los compartimientos del cuerpo, incluso a través de la barrera placentaria. Los análisis pareados de los niveles de residuos de plaguicidas OC entre el suero sanguíneo materno y el suero del cordón umbilical, demuestran una correlación significativa, y su transferencia de la madre al feto, al igual que los análisis entre el tejido adiposo, el calostro y la leche madura. Por otra parte, se ha evidenciado que la lactación es un medio de descontaminación (Waliszewski *et al.* 2001).

En 1997 se revisó el impacto potencial del DDT sobre la salud pública en México. Los patrones de producción y de consumo durante los 20 años anteriores fueron descritos y comparados con los de Estados Unidos. Se revisó la información de estudios sobre la determinación de los niveles de este insecticida en sangre, tejido adiposo y muestras de leche materna de mujeres mexicanas. Los niveles ajustados de DDE encontrados fueron de 6.66 ppb en tejido adiposo y de 0.594 ppm en leche materna. En su momento se recomendó la realización de estudios epidemiológicos para evaluar la asociación entre los niveles de DDT acumulados en tejido adiposo y la incidencia de cáncer de seno entre mujeres mexicanas (López-Carrillo *et al.* 1997).

Análisis de residuos de plaguicidas en tejido adiposo y otras matrices

El tejido adiposo es seleccionado como la matriz idónea para los estudios acerca del grado de acumulación de plaguicidas OC debido a su alto contenido de ácidos grasos, los que almacenan en la grasa neutra (triglicéridos) y sustancias químicas lipofílicas (Waliszewski *et al.* 2008). La mayoría de los estudios realizados en México en relación al monitoreo de residuos de plaguicidas se han llevado a cabo en tejido adiposo. Dichos estudios consideran algunos factores confusores tales como la edad y el sexo.

En un estudio reciente se determinaron los niveles de los plaguicidas OC HCB; α - β - γ -HCH; p,p'DDE; o,p'DDT y p,p'DDT, en tejido adiposo de mujeres originarias del estado de Puebla, México. Fueron analizadas 75 muestras de

tejido adiposo abdominal tomadas en 2010 durante las autopsias en el Servicio Forense de Puebla. Los resultados fueron expresados en mg/kg. Se encontró: p,p'DDE en el total de las muestras, con una media de 1.464 mg/kg; p,p'DDT en el 96% de las muestras, con una media de 0.105 mg/kg; o,p'DDT en 89.3% de las muestras monitoreadas, con una media de 0.025 mg/kg; y β -HCH en el 94.7% de las muestras, con una media de 0.108 mg/kg (Waliszewski *et al.* 2012).

Se realizó un estudio similar en 150 individuos del estado de Veracruz, México, para determinar los niveles de estos plaguicidas OC en tejido adiposo. Se encontraron diferencias significativas en algunos de ellos al comparar los grupos por edad, sexo y los niveles encontrados en 2008 con los de 2010, se observó una tendencia a la disminución en β -HCH, p,p'DDE y DDT. En las muestras analizadas se encontró lo siguiente: se detectó p,p'DDE en el total de las muestras, con una media de 1.643 mg/kg; p,p'DDT en 99.3% de las muestras, con un nivel promedio de 0.227 mg/kg; β -HCH en 97.3% con un nivel promedio de 0.063 mg/kg; y o,p'DDT en 93.3% de las muestras con una concentración promedio de 0.022 mg/kg (Waliszewski *et al.* 2011a).

En el estado de Veracruz fueron tomadas muestras de tejido adiposo de las cavidades abdominales de 69 mujeres embarazadas durante sus cirugías de cesárea, y 34 muestras de donadores (grupo testigo) fueron tomadas durante las autopsias; estas muestras fueron analizadas por cromatografía de gases (GC) con detector de captura de electrones (ECD). Los resultados mostraron que los niveles medios fueron más altos en el grupo testigo que en el grupo de las mujeres embarazadas, β -HCH 0.064 *vs.* 0.027; p,p'DDE 1.187 *vs.* 0.745; o,p'DDT 0.016 *vs.* 0.011; p,p'DDT 0.117 *vs.* 0.099 y Σ -DDT 1.337 *vs.* 0.854, respectivamente. Las mujeres embarazadas de mayor edad presentaron un incremento en los niveles de los plaguicidas más resistentes. No se encontró correlación entre el índice de masa corporal y los plaguicidas OC en las mujeres embarazadas (Herrero-Mercado *et al.* 2010a).

Muestras de tejido abdominal de 80 personas originarias del estado de Veracruz y 80 originarias de Puebla, México, fueron analizadas y comparadas para determinar los niveles de contaminación por OC (DDT, HCH). Los niveles del primer grupo fueron más elevados respecto del segundo: β -HCH, 0.072 *vs.* 0.029 mg/kg; p,p'DDE, 2.364 *vs.* 0.726 mg/kg; o,p'DDT, 0.022 *vs.* 0.025; p,p'DDT, 0.192 *vs.* 0.061 mg/kg y Σ -DDT, 2.589 *vs.* 0.806. La población de Veracruz presentó significativamente un riesgo mayor. Al dividir las poblaciones por sexo, origen y causa de muerte no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. El estudio indicó una exposición prolongada a DDT de los mexicanos, a causa

de su uso sanitario y de la persistencia de sus residuos en suelo y aire (Waliszewski *et al.* 2010).

Los plaguicidas OC también han sido encontrados en tejido adiposo del seno de mujeres que tuvieron cirugía debido a la presencia de tumores. Participaron 127 mujeres con tumores de seno malignos, 127 con tumores de seno benignos y 127 que conformaron el grupo testigo sin anormalidades en el seno. Al comparar los niveles de plaguicidas en los diferentes grupos se encontró que los valores mayores estuvieron en el grupo de mujeres con tumores benignos. Para cada compuesto los valores encontrados, desde el grupo testigo hasta los grupos con tumores malignos y benignos, fueron: para HCB, 0.045, 0.099, 0.116 mg/kg; para β -HCH, 0.163, 0.265, 0.319 mg/kg; para p,p'DDE, 0.782, 0.980, 1.761 mg/kg; para o,p'DDT 0.035, 0.094, 0.176 mg/kg; para p,p'DDT, 0.296, 0.351, 0.661 mg/kg; para Σ -DDT, 1.112, 1.423, 2.601 mg/kg, respectivamente (Waliszewski *et al.* 2005b).

Con el propósito de determinar los niveles de plaguicidas OC persistentes en mujeres con carcinoma mamario, se analizaron 21 muestras de tejido adiposo adherido al tumor, y 21 muestras de tejido adiposo abdominal de mujeres sometidas a cirugías de hernias, como grupo testigo. Los valores de HCB fueron 0.043 mg/kg en el testigo y de 0.036 mg/kg en el grupo de enfermas. Los niveles de β -HCH fueron de 0.282 mg/kg y de 0.320 mg/kg para el testigo y grupo con cáncer, respectivamente. El p,p'DDE mostró 0.746 y 1.098 mg/kg; el o,p'DDT presentó 0.041 y 0.141; el p,p'DDT exhibió 0.350 y 0.398, en el mismo orden respectivamente. El valor total indicó Σ -DDT 1.133 mg/kg en el grupo testigo y de 1.638 mg/kg en las enfermas. En general los niveles más altos fueron encontrados en el grupo de las pacientes con carcinoma mamario. Las pruebas estadísticas revelan una posible coincidencia entre la exposición mayor a plaguicidas OC y una mayor prevalencia de carcinoma mamario (Waliszewski *et al.* 2003).

Se ha analizado el consumo de alimentos en relación a los niveles de DDE en el tejido adiposo de 207 mujeres residentes de diferentes estados de México, con bajos y altos niveles de exposición al DDT. Los hallazgos sugieren que ciertos alimentos sirven como vehículos para los residuos de DDE y confirma que amamantar es un mecanismo para la eliminación de este insecticida que se acumula con los años en el cuerpo humano (Galván-Portillo *et al.* 2002). En el periodo de 1988 a 1998 se analizaron 326 muestras de tejido adiposo humano, en ellas se encontró una elevada cantidad de DDT y su metabolito DDE, que alcanzó valores promedio máximos de 6.67 mg/kg y 18.91 mg/kg, respectivamente (Waliszewski *et al.* 2000). En otro estudio similar, la tendencia

de los residuos de plaguicidas OC en tejido adiposo humano entre 1988 y 1997, ha sido evaluada en el estado de Veracruz. Para ello se analizaron 287 muestras de tejido adiposo, y los resultados indicaron al DDT como dominante. Las fluctuaciones de los niveles de éste revelan una tendencia a disminuir durante el periodo estudiado (Waliszewski *et al.* 1998).

Con el propósito de evaluar la exposición ocupacional a OC se tomaron muestras de tejido adiposo de 40 trabajadores quienes se dedicaban a aplicar dichos compuestos en campañas sanitarias en el estado de Veracruz. Las concentraciones medias determinadas fueron las siguientes: DDT total: 104.48 µg/kg; p,p'DDE: 60.98 µg/kg; p,p'DDT: 31.0 µg/kg; o,p'DDT: 2.10 µg/kg; y p,p'DDD: 0.95 µg/kg. Estos elevados niveles de DDT en tejido adiposo alertan sobre la necesidad de programas de prevención y la promoción de medidas de higiene y aplicación más segura (Rivero-Rodríguez *et al.* 1997).

Las concentraciones de residuos de insecticidas OC como DDT, DDE, β- y γ-HCH, fueron determinados en muestras de tejido adiposo humano obtenido durante autopsias de áreas urbanas y suburbanas de Veracruz entre 1988 y 1991; los niveles medios decrecieron de 17.45 mg/kg en 1988 a 14.06 mg/kg en 1991. Los niveles más altos fueron encontrados en las áreas suburbanas y en personas mayores de 51 años, así como en pacientes que murieron de desórdenes cardiovasculares (Waliszewski *et al.* 1996). Residuos de β-HCH, γ-HCH, p,p'DDE, o,p'DDT y p,p'DDT fueron analizadas en 177 muestras de tejido adiposo de personas fallecidas en la Ciudad de Veracruz en los años 1988, 1991 y 1992. Los niveles encontrados de γ-HCH fueron superiores a los reportados en otros países. El contenido total de DDT presentó una tendencia ascendente al alcanzar un nivel promedio de 24.82 en 1992, con 18.91 mg/kg de DDE. El origen de esta contaminación se atribuye principalmente a la alimentación (Waliszewski *et al.* 1995a). Un total de 90 muestras de tejido adiposo humano fueron tomadas durante las autopsias y analizadas para la determinación de plaguicidas OC. La frecuencia y niveles medios (mg/kg) encontrados fueron: α-HCH: 5.5%, 0.30; β-HCH: 10.0%, 0.25; p,p'DDE: 100%, 18.91; o,p'DDT: 54.4%, 1.19; y p,p'DDT: 100%, 4.72. La concentración y frecuencia de γ-HCH y β-HCH fueron muy bajas, el compuesto dominante fue el p,p'DDE y la cantidad total de DDT fue de 24.14 mg/kg. Los niveles más altos fueron encontrados en la población del área suburbana y en las personas mayores de 50 años no se encontraron diferencias entre géneros (Waliszewski *et al.* 1995b).

En 1980 se determinaron los niveles de residuos de plaguicidas OC en tejido adiposo de habitantes de tres ciudades mexicanas de diferentes características socioeconómicas. Fueron encontrados residuos diferentes de OC en las

muestras, principalmente DDT y BHC. En uno de los grupos la media de DDE fue de 18.36 ppm en base lipídica, uno de los niveles más grandes reportados en las referencias (Albert *et al.* 1980).

Suero sanguíneo

Con el propósito de determinar los niveles de los plaguicidas OC HCB, α - β - γ -HCH, p,p'DDE; o,p'DDT y p,p'DDT, en suero sanguíneo de habitantes del estado de Veracruz, México, se analizaron 150 muestras de suero sobrante después de análisis clínicos mediante GC-ECD. Se detectaron: p,p'DDE en el total de las muestras, promediando 15.8 mg/kg y 8.4 μ g/L; p,p'DDT estuvo presente en 41.3% de las muestras monitoreadas con una media de 3.1 mg/kg y 1.4 μ g/L; se encontró β -HCH en el 48.6 % de las muestras con 4.9 mg/kg y 2.7 μ g/L; o,p'DDT fue determinado sólo en 3.3 % de las muestras con 2.7 mg/kg y 1.4 μ g/L. Las muestras reagrupadas por género presentaron diferencias significativas para las concentraciones de β -HCH y p,p'DDE en mujeres. Por otra parte, se encontró que la edad es un factor asociado positivamente con los niveles de plaguicidas OC en los habitantes de Veracruz (Waliszewski *et al.* 2011b).

Se determinaron los niveles de DDT y DDE en trabajadores del Programa de Prevención y Control del Paludismo en Tapachula, Chiapas. Participaron 32 trabajadores a quienes se les encontraron niveles promedio en sangre de 86.85 μ g/L y 264.95 μ g/L de DDT y DDE, respectivamente. El total de los trabajadores presentaron residuos de estos plaguicidas. Los trabajadores encargados de rociar presentaron niveles más altos que los trabajadores con actividades de supervisión, así como los trabajadores que tenían más de 10 años de exposición laboral con respecto a los que tenían menos de 10 años. Al comparar el nivel educativo los trabajadores que tenían educación primaria presentaron mayores niveles que los que tuvieron un mayor nivel educativo (Herrera-Portugal *et al.* 2009).

Este mismo grupo determinó los niveles sanguíneos de DDT y DDE en mujeres en edad reproductiva de la misma región. Se detectó DDT en 73.33%, DDE en 46.67% y ambos plaguicidas en 53.33% de las mujeres participantes. Se encontraron diferencias significativas al comparar a las mujeres provenientes de un medio rural con las de un medio urbano, siendo los niveles de DDT del doble y los de DDE más del triple en las primeras al compararlas con las segundas. El número de partos tiene influencia en los niveles encontrados mostrando una relación negativa, el mismo comportamiento estuvo presente en relación con el consumo de productos lácteos (Herrera-Portugal *et al.* 2008a).

Otro grupo vulnerable analizado por Herrera-Portugal (2008b) ha sido el de los niños de comunidades endémicas de paludismo en Chiapas, México. Se cuantificaron los niveles sanguíneos de DDT y DDE en dos comunidades con diferentes historias de exposición, en 80 niños de 6 a 12 años, utilizando GC. Los resultados mostraron que los niños del área de mayor exposición presentaron los niveles más elevados, al compararse con los niveles encontrados en el área de menor exposición. En el primer grupo también encontraron una relación directa de los niveles de plaguicidas con el consumo de pescado. El tiempo de lactancia y la edad de los niños son factores que también influyen.

Se analizaron 118 muestras de suero sanguíneo humano para la determinación de los niveles de plaguicidas OC obtenidos de autopsias de víctimas de accidentes automovilísticos en el estado de Veracruz entre los años 2000 y 2001. Los niveles de metabolitos de insecticidas como β -HCH y p,p'DDE en sangre se incrementaron entre 1997 y 2001, pero los niveles de p,p'DDT disminuyeron en 2001 debido a que el uso del DDT en el control de la malaria en México fue restringido (Waliszewski *et al.* 2004b).

Los niveles de DDT y deltametrina han sido evaluados en muestras humanas en diferentes áreas con malaria en México (Chiapas y Oaxaca). Al considerar los niveles ambientales de estos compuestos, los niveles en sangre pueden ser explicados por la ingestión de suelo/polvo, de leche humana y el consumo de pescado u otros alimentos contaminados (Yáñez *et al.* 2002).

Se hizo la determinación de plaguicidas en suero de 52 floricultores de Villa Guerrero, Estado de México, también en 46 comerciantes del mercado local, quienes viven en este municipio pero no trabajan con plaguicidas, y finalmente en 38 estudiantes y personal administrativo de la Universidad Autónoma del Estado de México. Para la extracción a partir del suero se empleó una columna Oasis y se inyectó en el cromatógrafo de gases-masas. En el suero de los floricultores se encontraron los siguientes plaguicidas: topcide, carbofurán, furanone, maneb, zineb y pentaclorofenol (PCP), y ninguno en los otros dos grupos (Castillo-Cadena *et al.* 2006).

Suero de cordón umbilical

Los plaguicidas OC se acumulan en compartimentos ricos en lípidos dentro de los organismos. Durante el embarazo, estos compuestos pasan a través de las barreras placentarias y aparecen en sangre del cordón umbilical. En el estado de Veracruz se determinaron niveles de plaguicidas OC en 70 muestras de sangre de cordón umbilical tomadas durante el proceso de parto de mujeres, en el 2009,

y se encontró: β -HCH (4%, 3.9 $\mu\text{g/L}$); p,p'DDE(100%, 0.7 $\mu\text{g/L}$); y p,p'DDT (4%, 1.4 $\mu\text{g/L}$). En general, las muestras de sangre de cordón umbilical en Veracruz contienen plaguicidas OC, especialmente p,p'DDE, lo que confirma la presencia de estos compuestos en el ambiente, así como su transferencia de la madre al feto (Herrero-Mercado *et al.* 2010b). Barraza-Vázquez *et al.* (2008) han determinado los niveles de exposición a DDT y han evaluado los factores maternos determinantes de las concentraciones de DDE en suero del cordón umbilical de recién nacidos. Se encontró correlación positiva entre la concentración del DDE en el suero materno y del cordón umbilical.

Leche materna

A pesar de que en México se ha prohibido el uso de aldrín, dieldrín y endrín, que se ha restringido el uso de lindano y HCH y que la utilización del DDT está reservada a campañas sanitarias oficiales, hoy en día se sigue registrando su presencia en la leche materna (Prado *et al.* 2001). Numerosas investigaciones han reconocido la presencia de plaguicidas OC persistentes en leche materna, y actualmente es analizada como un bioindicador de su contaminación. Por otra parte, la leche materna es considerada la ruta más importante para la eliminación de plaguicidas OC depositados en el cuerpo de la madre. El equilibrio de los plaguicidas en el cuerpo humano considera los elementos de los procesos internos de transporte, el patrón de equilibrio entre plaguicidas y el contenido graso de los tejidos, así como la movilización de lípidos y lipoproteínas entre los compartimentos corporales.

Se llevó a cabo un estudio con el propósito de determinar los niveles de plaguicidas OC en muestras de leche materna dentro de los días cuatro y treinta de la lactancia, y la tendencia de su concentración con el tiempo, con el fin de pronosticar el patrón de excreción de los residuos de plaguicidas. Las muestras fueron tomadas de 40 participantes y analizadas por GLC-ECD, observando que los niveles de los residuos de plaguicidas OC disminuyen durante la lactancia: β -HCH de 0.095 a 0.066 mg/kg, p,p'DDE de 1.807 a 1.423 mg/kg y p,p'DDT de 0.528 a 0.405 mg/kg. El bebé recién nacido, expuesto durante la lactancia, tiene residuos de plaguicidas cuyos niveles disminuyen permanentemente. Los niveles dependen no sólo de la alimentación con leche materna, sino también de la exposición ambiental, la cual incluye la contaminación del aire como una fuente significativa (Waliszewski *et al.* 2009).

En otro estudio, en Chelem, Yucatán, fue analizada leche materna para determinar los niveles de plaguicidas OC. Los niveles de este compuesto presentan una tendencia a disminuir con el número de nacimientos (unípara,

multípara) aunque no es significativo, pero el 36% de las muestras excedieron los niveles de ingesta diaria aceptable (IDA) para la Reunión Conjunta FAO/WHO sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR-FAO/WHO) (Rodas-Ortiz *et al.* 2008). Entre 1997 y 1999 se analizó el contenido de plaguicidas OC en 37 muestras de leche materna de una zona urbana y 26 de una zona suburbana de la misma ciudad por GC-ECD. Los resultados presentaron los siguientes porcentajes de ocurrencia y concentración en mg/g: β -HCH (37,8, 0,70); dieldrín (62,2, 1,74); aldrín (54, 0,30), heptacloro (48,6%, 0,40); p,p'DDT (37,8%, 1,11); p,p'DDE (32,4%, 1,06). En la zona suburbana, se encontró: β -HCH (65%, 0,53); aldrín (76,9%, 0,06); heptacloro (38,4%, 0,13); p,p'DDT (26,9%, 0,18); p,p'DDE (96,1%, 0,65). La zona urbana presentó niveles críticos de aldrín + dieldrín, heptacloro, y DDT + metabolitos: 13,6; 6,9 y 2,0 veces el valor límite máximo de residuos (LMR), respectivamente. En la zona suburbana la relación fue de 0,4; 1,7 y 0,7 (Prado *et al.* 2004).

Residuos de plaguicidas OC fueron medidos en 108 muestras de leche materna por CG-ECD, en una región suburbana cercana a la Ciudad de México, los niveles medios de residuos encontrados en las muestras fueron: Σ DDT 2.55 $\mu\text{g/g}$ (98%), Σ HCH 0.693 $\mu\text{g/g}$ (63%), endrín 0.077 $\mu\text{g/g}$ (4.6%), heptacloro + heptacloro epóxido 0.259 $\mu\text{g/g}$ (66%) y aldrín + dieldrín 0.059 $\mu\text{g/g}$ (98%). Σ DDT, Σ HCH y endrín estuvieron dentro de la norma ADI. Sin embargo, heptacloro epóxido y aldrín+dieldrín sobrepasaron este límite 2 y 2.4 veces en 36.2 y 53% de las muestras respectivamente. Se analizaron y correlacionaron positivamente algunos factores como: lugar de residencia, número de hijos, edad de la madre, contenido de grasa en leche y consumo de pescado y la presencia de plaguicidas (Prado *et al.* 2001).

En 1999, en el estado de Morelos fueron evaluadas 24 mujeres de entre 21 y 36 años de edad, por la asociación entre el amamantamiento y los niveles séricos de DDT en estas mujeres con niños criados en dicho estado. Se concluyó que el amamantamiento lleva a una rápida remoción de los metabolitos del DDT comparado con las tasas de eliminación de las no lactantes cuyos niveles fueron similares a los encontrados 20 años atrás en los Estados Unidos (López-Carrillo *et al.* 2001).

También se determinaron los niveles de plaguicidas OC en leche materna de mujeres que vivían en áreas urbanas y rurales en el centro de México. Niveles elevados de DDT y de sus metabolitos p,p'DDT y DDE, fueron encontrados en la Ciudad de México, Cuernavaca y el área rural de Morelos. Como era de esperarse los niveles más altos de exposición a estos plaguicidas fueron encontrados en las áreas rurales del estado de Morelos (Elvia *et al.* 2000).

Se documentaron los niveles y factores determinantes de los metabolitos del DDT en la leche materna de 50 mujeres adultas que vivían en la Ciudad de México. Los niveles de OC fueron determinados por GC. Los principales determinantes fueron la edad, el tiempo de lactación, tiempo de vivir en un área agrícola, y consumo de carne y pescado. Se estimó que los bebés que son amamantados ingieren DDT por arriba de los niveles recomendados por la FAO/WHO. Se necesita investigar las posibles enfermedades que pudieran desarrollarse (Torres *et al.* 1999).

Con el propósito de determinar el nivel de contaminación por plaguicidas OC como reflejo de la exposición humana en áreas tropicales, se recolectaron 619 muestras de leche materna de mujeres saludables de entre 15 y 30 días después de parto en 1995. Se detectaron 14 plaguicidas, entre ellos β -HCH y p,p'DDE en el total de las muestras y el p,p'DDT en 99.4%, con valores promedio de 0.431, 4.050 y 1.611 mg/kg respectivamente. El p,p'DDE y el p,p'DDT representaron el 68 y 27% del DDT total, respectivamente, que presentó un nivel medio de 5.492 mg/kg, con un nivel máximo de 99.339 mg/kg. Estos valores exceden por mucho los niveles recomendados (Waliszewski 1997). Otras muestras de leche fueron tomadas de 15 madres en la región de la Comarca Lagunera en México, y fueron analizadas para la determinación de residuos de plaguicidas OC. Los más abundantes fueron p,p'DDE, p,p'DDT y β -BCH y sus niveles estuvieron por arriba de los recomendados por la FAO/WHO (Albert *et al.* 1981).

Gradientes de niveles de plaguicidas organoclorados en más de una matriz biológica

Algunos estudios han propuesto determinar los niveles de β -HCH, p,p'DDE, o,p'DDT y p,p'DDT, y calcular las razones de los coeficientes de partición en tejido adiposo materno, suero sanguíneo materno y suero de sangre de cordón umbilical, en los binomios madre/hijo. En el estado de Veracruz, México, se analizaron 70 binomios madre/hijo por GC-ECD, en las diferentes matrices biológicas indicadas. Como en la mayoría de los estudios descritos, el p,p'DDE fue el mayor componente OC detectado en tejido adiposo materno (0.770 mg/kg), suero sanguíneo materno (5.8 mg/kg) y suero de cordón umbilical (6.9 mg/kg). El p,p'DDT fue detectado a 0.101 mg/kg, 2.2 mg/kg, y 5.9 mg/kg respectivamente. Los niveles detectados de β -HCH fueron 0.027 mg/kg, 4.2 mg/kg y 28.0 mg/kg respectivamente. El o,p'DDT fue encontrado únicamente en el tejido adiposo materno con una concentración de 0.11 mg/kg. Los coeficientes de partición entre las muestras identifican incrementos significativos en las concentraciones del tejido adiposo al suero sanguíneo materno y al suero sanguíneo del cordón umbilical. Los incrementos indican que

el tejido adiposo materno libera plaguicidas OC al suero sanguíneo y que éstos son transportados a la sangre del cordón umbilical (Herrero-Mercado *et al.* 2011). Por otro lado, se determinaron los niveles de DDT y de sus metabolitos en tejido adiposo materno, suero sanguíneo y leche materna de 112 residentes en Veracruz, México, entre 1997 y 1999. Los resultados mostraron niveles mayores del p,p'DDE en tejido adiposo con 3.76 mg/kg, seguido por 3.49 mg/kg en suero sanguíneo, y 3.23 mg/kg en leche materna, la misma tendencia se observó con p,p'DDT con 0.97, 0.82 y 0.51 mg/kg en el mismo orden de muestras. La mayor concentración de DDT total en leche materna se encontró en la población suburbana con 4.84 mg/kg *vs.* 2.49 mg/kg de la población urbana. También se observó un aumento en los niveles con la edad, de 2.97 mg/kg en madres menores de 20 años a 4.60 mg/kg en mujeres mayores de 40 años y un descenso con el número de hijos de 4.10 a 3.41 mg/kg en madres con uno y tres hijos respectivamente. Se concluyó que el DDT acumulado en el tejido adiposo materno forma un equilibrio con el suero sanguíneo y se excreta con las grasas endógenas que participan en la formación de la leche (Waliszewski *et al.* 2002).

Para establecer la distribución de plaguicidas OC en el cuerpo humano, los gradientes de concentración entre tejido adiposo, el suero de sangre materna y el suero de cordón umbilical han sido determinados. Fueron tomadas muestras de tejido adiposo materno, de suero sanguíneo y de sangre de cordón umbilical de 64 voluntarias admitidas para una cirugía cesárea en Veracruz entre 1997 y 1998. Los resultados encontrados por GC indican que los plaguicidas OC absorbidos atraviesan la barrera placentaria y alcanzan un estado de equilibrio entre la madre y el feto. Los niveles totales más elevados fueron encontrados en el tejido adiposo materno (4.51 mg/kg DDE y 1.27 mg/kg p,p'DDT) seguido del suero sanguíneo materno (4.45 mg/kg DDE y 0.78 mg/kg p,p'DDT), y del suero de sangre de cordón umbilical (4.70 mg/kg DDE y 0.88 mg/kg p,p'DDT) (Waliszewski *et al.* 2000b).

El DDT y otros plaguicidas relacionados fueron detectados en leche materna, suero sanguíneo, sangre de cordón umbilical, así como de tejido adiposo en mujeres sanas en etapa terminal de embarazo. Las muestras fueron tomadas durante las cirugías de cesárea, excepto la leche materna que se recolectó el décimo día del puerperio. Los compuestos analizados fueron: β -HCH, γ -HCH, heptacloro, aldrín, dieldrín, p,p'DDE, p,p'DDD, p,p'DDT y metoxicloro. En todas las muestras analizadas se identificó al menos uno de los plaguicidas OC evaluados. El análisis de correlación entre las concentraciones totales de DDT presentes en suero materno con las identificadas en el tejido adiposo y suero del cordón umbilical fueron altamente significativas. En la leche materna se encontraron los niveles más elevados de DDT total con un promedio de 2.053

$\mu\text{g/g}$, 2.8 veces más que el límite permitido de IDA. Este nivel se incrementa en una relación positiva con la edad de la madre (Terrones *et al.* 2000).

Los niveles de DDE en tejido adiposo han sido referidos como un indicador preferente de la exposición acumulada a DDT, sin embargo, muestras de suero sanguíneo son más fáciles de obtener y analizar. Como parte de un estudio realizado entre 1994 y 1996, 198 muestras pareadas de tejido adiposo y suero fueron obtenidas de 72 mujeres con cáncer de seno histológicamente confirmado y de 126 mujeres con enfermedades de seno benignas. Se encontró una correlación significativa entre los niveles de plaguicidas encontrados, la relación tejido adiposo/suero no varía con el tipo de enfermedad diagnosticada. Por lo que se recomienda la determinación en suero en lugar del tejido adiposo por ser una técnica menos invasiva (López-Carrillo *et al.* 1999).

Residuos de plaguicidas en alimentos

Desde el punto de vista legislativo, existen varios reglamentos de tipo internacional en donde se estipulan los LMR que pueden tener los alimentos, uno de ellos es la base de datos en línea del codex para los plaguicidas y los límites máximos para residuos extraños (LMRE) adoptados por la Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius en su 22^o período de sesiones de 1997.

Los alimentos enumerados no deben contener una cantidad mayor de residuos de plaguicidas que la que señala el LMR o LMRE (en mg/kg) en las situaciones siguientes: a) el punto de entrada a un país, o b) el punto de entrada en los canales comerciales de un país. Los LMR y LMRE son de aplicación para el contenido en residuos de la muestra final representativa del lote y de la porción de los productos básicos analizados.

Sobre los alimentos que más plaguicidas requieren en su cultivo

Los cultivos que mayor volumen de estos productos requieren son el maíz y las hortalizas (Tabla 3.1). Según la Asociación Mexicana de la Industria de los Plaguicidas y Fertilizantes (AMIPFAC), en 1995 el volumen de plaguicidas utilizados ascendió a 54,678.96 t de las cuales: 25,516.71 toneladas (47%) fueron insecticidas, 15,719.13 toneladas (29%) fueron herbicidas, 9,318.65 toneladas (17%) fungicidas y 4,318.65 toneladas (7%) de otros.

Investigaciones realizadas en México sobre la presencia de plaguicidas en alimentos

Aún cuando los plaguicidas han sido desarrollados para producir efectos tóxicos en las plagas a las que combaten, y a pesar de que estos efectos también pueden

llegar a producirse en organismos vivos no blanco, la exposición en el ambiente y el ser humano ha creado serios problemas. A pesar de la importancia de tal situación se han realizado muy contadas investigaciones en México sobre el problema de la contaminación de alimentos, de las cuales destacan los siguientes resultados (Tabla 3.2), en donde se han reportado cantidades de plaguicidas que rebasan la normatividad internacional.

Tabla 3.1. Demanda de plaguicidas en los principales cultivos en México (t).

Cultivo	Insecticidas	Herbicidas	Fungicidas	Otros	Total
Maíz	7,831.7	5,209.7	32.7	88.9	13,163.1
Algodón	2,370	473.2	313.6	264.4	3,422.9
Papa	1,529.1	137.2	1,456.9	175.8	3,298.9
Chile	1,708.5	143.9	601.5	242.4	2,696.3
Tomate	1,298.9	183.1	1,277.1	300.8	3,059.9
Frijol	1,825.2	70.8	179.3	22.2	2,097.5
Cítricos	329.1	604.0	540.1	146.5	1,619.7
Sorgo	578.2	1,022.9	0.9	1.9	1,603.9
Plátano	338.7	460.5	560.4	114.7	1,474.2
Potreros	40.3	848.2	0.0	2.0	890.5
Trigo	233.6	417.9	147.4	6.6	805.5
Aguacate	76.3	133.0	303.6	57.4	570.3
Café	129.2	291.2	111.0	26.9	559.0
Soya	420.8	23.6	69.6	8.5	522.5
Arroz	51.7	362.6	4.0	5.6	423.9
Piña	190.0	171.9	9.7	31.1	402.7
Tabaco	281.2	0.0	63.4	50.4	394.9
Control industrial	4.2	339.5	0.0	22.7	366.3
Cebada	119.2	178.5	15.2	6.6	319.5

Fuente: AMIPFAC 1995.

Tabla 3.2. Algunos estudios de contaminación en alimentos realizados en México.

Lugar	Año	Estudios
Sinaloa	1988	Determinación de residuos de plaguicidas piretroides en el cultivo de tomate.
México	1997	Determinación de residuos de plaguicidas OC en leche pasteurizada de vaca de diversas zonas de la república.
Chiapas	1998	Huertos frutales encontrando organofosforados (OF) de alta peligrosidad.
Yucatán	1998	En huertos de hortalizas y aguas subterráneas, encontrando OF en altas concentraciones en temporada de lluvias.
Sonora	2010	Piretroides en tomate, lechuga, chile verde, cebolla blanca, cebollín y papa

Fuente: Milenio 2012.

En México existe una legislación que se aplica en las diversas etapas del ciclo de vida de los plaguicidas: importación, exportación, uso, comercialización y transporte. Para su control en alimentos, existen normas sólo a nivel de análisis de residuos de plaguicidas en grasas de diversas especies animales, y para

productos agrícolas se establecen normas para efectuar ensayos en campo y para límites máximos de residuos de plaguicidas.

Las normativas internacionales sobre seguridad alimentaria consideran la presencia de plaguicidas en las materias primas de origen animal o vegetal a través de la gestión de los materiales comprados, los cuales son definidos como programas prerequisites, son programas que desarrollan las empresas en temas específicos, por ejemplo presencia de contaminantes químicos en materias primas. Se les llama prerequisites porque es necesario aplicarlos antes de acceder a alguna certificación de producto o de la certificación del Sistema de Gestión de Seguridad Alimentaria, adicionalmente las empresas procesadoras de alimentos requieren elaborar un inventario de normativas nacionales e internacionales aplicables a materias primas ("Boletín técnico" 2011). En los siguientes niveles de la cadena alimentaria sería necesario verificar si los alimentos mínimamente procesados, como frutas y vegetales listos para consumo han sido verificados para determinar la presencia de plaguicidas por parte del comercializador, antes de colocar dichos alimentos en el punto de venta final.

Consideraciones finales

Es clara la inexistencia de programas gubernamentales permanentes de verificación de los niveles de residuos de plaguicidas en alimentos y seres humanos. Se han realizados estudios puntuales en varios estados de la República Mexicana y algunos sólo se abordan cuando se presentan brotes por intoxicación directa o alimentaria, principalmente por plaguicidas OC algunos de los cuales ya están fuera del mercado. Se necesita investigar las posibles enfermedades que pudieran desarrollarse en animales y humanos, que tengan plaguicidas en su interior, así como documentar la contaminación por plaguicidas de otros grupos químicos.

Referencias

- Albert L., Cebrián M.E., Méndez F., Portales A. (1980). Organochlorine pesticide residues in human adipose tissue in Mexico: results of a preliminary study in three Mexican cities. *Archives Environmental Health*. 35(5):262-9.
- Albert L., Vega P., Portales A. (1981). Organochlorine pesticide residues in human milk samples from Comarca Lagunera, Mexico, 1976. *Pesticides Monitoring Journal*. 15(3):135-8.
- Aldana-Madrid M.L., Valenzuela-Quintanar A.I., Silveira-Gramont M.I., Rodríguez-Olibarría G., Grajeda-Cota P., Zuno-Floriano F.G., Miller

- M.G. (2011). Residual pyrethroids in fresh horticultural products in Sonora, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 87(4):436-9.
- Alegria H., Wong F., Bidleman, T.M. Figueroa S., Gold-Boucholt G., Waliszewski S., Ceja M.V., Infanzón R. (2005) Ambient air levels of organochlorine pesticides in air in southern Mexico. *En: Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental. Tendencias y diagnóstico, 2ª edición*. Botello A.V., Rendón von Osten J., Gold Boucholt G. y Agraz H. C., Editores. Universidad Autónoma de Campeche, México.
- AMIPFAC. (Asociación Mexicana de la Industriade Plaguicidas y Fertilizantes. (1995). "Los plaguicidas en México".
<http://www.monografias.com/trabajos14/losplaguicidas.shtml#que>
- Barraza-Vázquez A., Borja-Aburto V.H., Bassol-Mayagoitia S., Monrroy A., Recio-Vega R. (2008) Dichlorodiphenyldichloroethylene concentrations in umbilical cord of newborns and determinant maternal factors. *Journal of Applied Toxicology*. 28(1):27-34.
- Burgos-Hernández A., García-Sifuentes C.O., Aldana-Madrid M.L., Meza-Montenegro M.M. (2008). Insecticide residues in stored grains in Sonora, Mexico: quantification and toxicity testing. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 74(2):335-41.
- Boletín técnico. (2011). FSSC 22000 Food Safety System Certificación, G. Systems Certification. 6 pp.
- Castillo-Cadena J., Tenorio-Vieyra L.E., Quintana-Carabia A.I., Garcia-Fabila M.M., Ramirez-San J.E., Madrigal-Bujaidar E. (2006). Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixture of pesticides. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2006:1-12.
- Elvia L.F., Sioban H.D., Bernardo H.P., Carillo Constanza S. (2000) Organochlorine pesticide exposure in rural and urban areas in Mexico. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 10(4):394-9.
- Galván-Portillo M., Jiménez-Gutiérrez C., Torres-Sánchez L., López-Carrillo L. (2002) Food consumption and adipose tissue DDT levels in Mexican women. *Cadernos de Saúde Pública*. 18(2):447-52.
- Herrera-Portugal C., Franco G., Reyes K., Rodríguez M.A., Schlottfeldt Y. (2008) Niveles sanguíneos de DDT y DDE en mujeres en edad reproductiva de Tapachula, Chiapas (México). *Higiene y Sanidad Ambiental*. 8:315-319.
- Herrera-Portugal C., Franco-Sánchez G., Zelada-Castillo V., Schlottfeldt-Trujillo Y., Rodríguez-Feliciano M.A., Barrientos-Becerra H. (2008) Niveles de plaguicidas organoclorados (DDT y DDE) en niños de comunidades endémicas de paludismo en Chiapas, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 4:349-356.

- Herrera-Portugal C., Franco G., Schlottfeldt Y., Rodríguez M.A. (2009). Niveles de plaguicidas organoclorados (DDT y DDE) en trabajadores del Programa de Prevención y Control del Paludismo en Tapachula, Chiapas (México). *Higiene y Sanidad Ambiental*. 9:510-513.
- Herrero-Mercado M., Waliszewski S.M., Valencia-Quintana R., Caba M., Hernández-Chalate F., García-Aguilar E. y Villalba R. (2010). Organochlorine pesticide levels in adipose tissue of pregnant women in Veracruz, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 84(6):652-6.
- Herrero-Mercado M., Waliszewski S.M., Caba M., Martínez-Valenzuela C., Hernández-Chalate F. (2010) Organochlorine pesticide levels in umbilical cordblood of newborn in Veracruz, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 85(4):367-71.
- Herrero-Mercado M., Waliszewski S.M., Caba M., Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Cantú-Martínez P.C., Hernández-Chalate F.(2011). Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 86:289-293.
- López-Carrillo L., Bravo-Alvarado J., Poblano-Verastegui O. y Ortega-Altamirano D. (1997). Reproductive determinants of breast cancer in Mexican women. *Preventive Strategies for Living in a Chemical World. Annals of the New York Academy of Sciences*. 837:537-550.
- López-Carrillo L., Torres-Sánchez L., López-Cervantes M., Blair A., Cebrián M.E., Uribe M. (1999). The adipose tissue to serum dichlorodiphenyldichloro-ethane (DDE) ratio: some methodological considerations. *Environmental Research*. 81(2):142-5.
- López-Carrillo L., Torres-Sánchez L., Moline J., Ireland K., Wolff M.S. (2001). Breast-feeding and serum *p,p'*DDT levels among Mexican women of childbearing age: a pilot study. *Environmental Research*. 87(3):131-5.
- Prado G., Méndez I., Díaz G., Noa M., González M., Ramírez A., Vega y León S., Pérez N., Pinto M. (2001). Factores de participación en el contenido de plaguicidas organoclorados persistentes en leche humana en una población suburbana de la Ciudad de México. *Agro Sur*. 29:128-140.
- Prado G., Díaz G., Noa M., Méndez I., Cisneros I., Castorena F., Pinto M. (2004). Niveles de pesticidas organoclorados en leche humana de la ciudad de México. *Agro Sur*. 32:60-69.
- Rivero-Rodríguez L., Borja-Aburto V.H., Santos-Burgoa C., Waliszewski S.M., Rios C., Cruz V. (1997). Exposure assessment for workers applying DDT to control malaria in Veracruz, México. *Environmental Health Perspectives*. 105:98-101.

- Rodas-Ortíz J.P., Ceja-Moreno V., González-Navarrete R.L., Alvarado-Mejía J., Rodríguez-Hernández M.E., Gold-Bouchot G. (2008). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls levels in human milk from Chelem, Yucatán, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 80(3):255-9.
- Terrones M.C., Llamas J., Jaramillo F., Espino M.G., León J.S. (2000) DDT y plaguicidas relacionados presentes en la leche materna y otros tejidos de mujeres sanas con embarazo de término. *Ginecol. Obstret. Mex.* 68:97-104.
- Torres A. L., López-Carrillo L., Torres-Sánchez L., Cebrián M., Rueda C., Reyes R., López-Cervantes M. (1999) Levels of dichloro-dyphenyl-trichloroethane (DDT) metabolites in maternal milk and their determinant factors. *Archives Environmental Health*. 54(2):124-9.
- Waliszewski S.M., Pardo-Sedas V., Chantiri-Pérez J.N., Infanzón R.M., Rivera J. (1995a). Evaluación de los niveles de DDT y HCH en el tejido adiposo de algunas personas fallecidas en el estado de Veracruz, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 11: 87-93.
- Waliszewski S.M., Pardo-Sedas V., Infanzón R.M., Rivera J. (1995b) Determination of organochlorine pesticide residues in human adipose tissue: 1992 study in Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 55:43-49.
- Waliszewski S.M., Pardo V.T., Chantiri J.N., Infanzón R.M., Rivera J. (1996) Organochlorine pesticide residues in adipose tissue of Mexicans. *Science of the Total Environment*. 15;181(2):125-31.
- Waliszewski S.M. (1997). Contaminación de leche materna por plaguicidas organoclorados. *La Ciencia y El Hombre* 25:23-35.
- Waliszewski S.M., Aguirre A.A., Infanzón R.M., Rivera J., Infanzón R. (1998). Time trend of organochlorine pesticide residues in human adipose tissue in Veracruz, Mexico: 1988-1997 survey. *Science of the Total Environment*. 8; 221(2-3):201-4.
- Waliszewski S.M., Aguirre-Gutiérrez A.A., Infanzón-Ruiz R.M., (2000a). Tendencia de 1988 a 1998 de los niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en tejido adiposo humano en Veracruz, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 16:3-18.
- Waliszewski S.M., Aguirre A.A., Infanzón R.M., Siliceo J. (2000) Carry-over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. *Salud Publica Mex.* 42(5):384-90.
- Waliszewski S.M., Aguirre A.A., Infanzón R.M., Silva C.S., Siliceo J. (2001) Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of

- Veracruz, Mexico. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 40(3):432-8.
- Waliszewski S.M., Bermúdez M.T., Infanzón R.M., (2002) Niveles de DDT en tejido adiposo materno, suero sanguíneo y leche de madres residentes en Veracruz, México. Estudio 1997-1999. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 18:17-25.
- Waliszewski S.M., Meza Hernández M.V., Infanzón R.M., Trujillo P., Morales-Guzmán M.I. (2003) Niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en mujeres con carcinoma mamario en Veracruz. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 19:59.65.
- Waliszewski S.M., Gómez-Arroyo S., Infanzón R.M., Carvajal O., Villalobos-Pietrini R., Trujillo P. y Maxwell M. (2004a). Persistent organochlorine pesticide levels in bovine fat from Mexico. Food Additives and Contaminants. 21(8):774-780.
- Waliszewski S.M., Carvajal O., Infanzón R.M., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Trujillo P., Hart M.M. (2004b) Organochlorine pesticide levels in blood serum samples taken at autopsy from auto accident victims in Veracruz, Mexico. Archives Environmental Health. 59(9):441-8.
- Waliszewski S.M., Infanzón R.M., Gomez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Carvajal O., Trujillo P., and Hayward-Jones P.M (2005a). Persistent organochlorine pesticides levels in blood serum lipids in women bearing babies with undescended testis. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 75(5):952-959.
- Waliszewski S.M., Bermúdez M.T., Silva C.S., Infanzón R.M., Carvajal O., Gómez Arroyo S., Villalobos Pietrini R., Saldaña V., Melo G., Esquivel S., Castro F., Ocampo H., Torres J. and Hayward-Jones P.M. (2005b). DDT's, HCH and HCB levels in breast adipose tissue in women with breast tumors. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 21:133-142.
- Waliszewski S.M., Herrero-Mercado M., Cantú Martínez P.C. (2008). Tejido adiposo: indicador de la contaminación por plaguicidas organoclorados. RESPYN 9: 1-7.
- Waliszewski S.M., Melo-Santiesteban G., Villalobos-Pietrini R., Gómez-Arroyo S., Amador-Muñoz O., Herrero-Mercado M., Carvajal O. (2009). Breast milk excretion Kinetic of b-HCH, *p,p'*DDE and *p,p'*DDT. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 83(6):869-73.
- Waliszewski S.M., Valencia Quintana R., Corona C.A., Herrero M., Sánchez K., Aguirre H., Aldave I.A., Gómez Arroyo S., Villalobos Pietrini R. (2010). Comparison of organochlorine pesticide levels in human adipose tissue of inhabitants from Veracruz and Puebla, Mexico. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 58(1):230-6.

- Waliszewski S.M., Caba M., Herrero-Mercado M., Saldariaga-Noreña H., Meza E., Zepeda R., Martínez-Valenzuela C., Infanzon R., Hernández-Chalate F. (2011a). Monitoring of organochlorine pesticide residue levels in adipose tissue of Veracruz, Mexico inhabitants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 87(5):539-44.
- Waliszewski S.M., Caba M., Herrero-Mercado M., Saldariaga-Noreña H., Meza E., Zepeda R., Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S. and Villalobos-Pietrini R. (2011b). Organochlorine pesticide residue levels in blood serum of inhabitants from Veracruz, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*. DOI:10.1007/s10661-011-2366-2
- Waliszewski S.M., Sánchez K., Caba M., Saldariaga-Noreña H., Meza E., Zepeda R., Valencia-Quintana R., Infanzon R. (2012). Organochlorine pesticide levels in female adipose tissue from Puebla, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 88:296-301
- Yáñez L., Ortiz-Pérez D., Batres L.E., Borja-Aburto V.H., Díaz-Barriga F. (2002). Levels of dichlorodiphenyltrichloroethane and deltamethrin in humans and environmental samples in malarious areas of Mexico. *Environmental Research* 88(3):174-81.
- Milenio (2012). "Los plaguicidas"
<http://www.milenio.com/cdb/doc/noticias2011/1b6bcde8bf538d981ccb8ca58c7ef638>.

CAPÍTULO 4

GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS: BIOENSAYOS A CORTO PLAZO

Rafael Valencia-Quintana¹, Sandra Gómez-Arroyo², Julieta Castillo-Cadena³ y
Juana Sánchez-Alarcón¹

Introducción

La demostración de que los plaguicidas pueden inducir efectos genotóxicos, desde microorganismos hasta seres humanos, ha estimulado la investigación en esta área. El progreso alcanzado en este campo se debe, en gran parte, al desarrollo y uso amplio de bioensayos genéticos de corto plazo. Su simplicidad, sensibilidad al daño genético y relativa rapidez han permitido que la investigación en toxicología genética florezca.

Los resultados de los bioensayos genéticos son relevantes para los seres humanos ya que el blanco toxicológico es el ADN, el cual existe en todas las formas de vida. Así, en teoría, se podría pensar que los compuestos que son capaces de alterar el material genético de alguna especie, tienen el potencial de producir efectos similares en otras especies, incluyendo el ser humano, aunque en la realidad no es tan sencillo. En general, las alteraciones al material genético son deletéreas para el organismo y pueden llevar a severas e irreversibles consecuencias para la salud. Estas consecuencias comúnmente se asocian a la exposición a compuestos genotóxicos incluyen al cáncer, defectos en el nacimiento y enfermedades cardíacas.

Los estudios sobre la genotoxicidad de los plaguicidas en México son relativamente pocos. Este trabajo presenta una compilación y un análisis de la información encontrada, contiene una breve descripción acerca de los bioensayos (Figura 4.1) y los biomarcadores genéticos que han sido usados para evaluar a los plaguicidas (Figura 4.2).

¹ Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Calle del Bosque s/n, col. Centro, Tlaxcala. C.P. 90000.

² Laboratorios de Citogenética y Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México.

³ Laboratorio de Genética, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

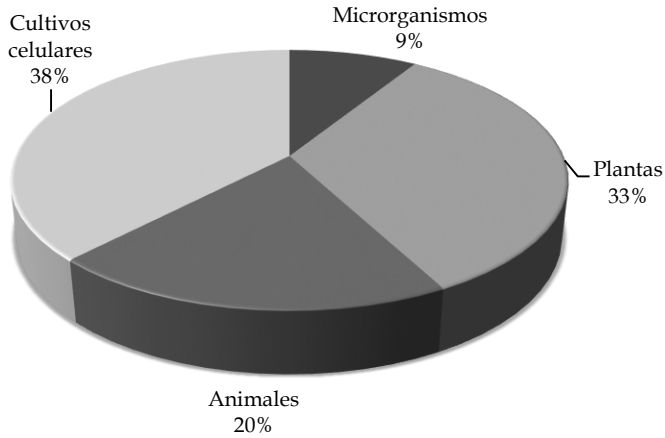


Figura 4.1. Bioensayos de genotoxicidad de corto plazo empleados en el estudio de plaguicidas en México.

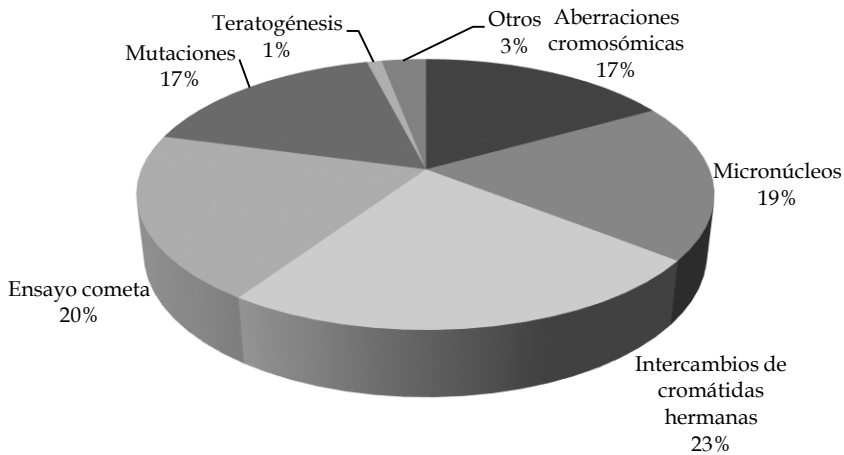


Figura 4.2. Biomarcadores citogenéticos identificados en estudios con plaguicidas en México.

En México, los ensayos de mutagenicidad que usan microorganismos tales como bacterias, representan el 8% de todos los que se emplean para evaluar la actividad genotóxica de los plaguicidas (Gómez Arroyo *et al.* 1991, 2007a; Cortés-Eslava *et al.* 1993, 1994, 2009a, 2009b; Jiménez y Villasana 2009) (Figura 4.1). Aunque pueden emplearse diversos organismos, el ensayo de *Salmonella* desarrollado por Bruce N. Ames es el que predomina en esta categoría con sus diferentes variantes. Investigadores en México también han utilizado las pruebas de mutación rosa en *Tradescantia* (Álvarez-Moya *et al.* 2002, 2003, 2011), así como mutaciones letales ligadas al sexo (Rodríguez Arnaiz *et al.* 1989) y

mutación somática y recombinación mitótica (Heres-Pulido *et al.* 2007, 2008; Ramos-Morales *et al.* 2009) en *Drosophila melanogaster*. Además de la mutagenicidad, han sido empleados otros bioensayos sensibles a otras categorías de daño genético para evaluar a los plaguicidas. Daño al ADN y daño cromosómico han sido evaluados usando plantas, animales y cultivos celulares, también se han realizado bioensayos a corto plazo *in vivo*.

Entre los biomarcadores empleados en México destacan los intercambios de cromátidas hermanas (ICH, 23%); la fragmentación del ADN o ensayo cometa (EC) (20%); los micronúcleos (MN, 19%); las aberraciones cromosómicas (AC, 17%); y las mutaciones (17%). Sólo en un estudio se evaluaron los posibles efectos teratogénicos de los plaguicidas (Altamirano-Lozano *et al.* 1989). Algunos estudios han aplicado el ensayo de contenido de ADN (Yáñez *et al.* 2004), así como el de daño a este último en espermatozoides de ratones (Piña-Guzmán *et al.* 2006, 2009) así como de humanos (Salazar-Arredondo *et al.* 2008), los cuales representaron el 3% de los estudios realizados en México entre 1985 y 2011 para la determinación del potencial genotóxico de plaguicidas empleando bioensayos de corto plazo (Figura 4.2). A continuación se hará un breve análisis de estos estudios. En primer lugar sobre bioensayos utilizados, y en segundo lugar en relación a los biomarcadores de genotoxicidad inducidos por estos compuestos.

Bioensayos de genotoxicidad empleados en el estudio de plaguicidas en México

El daño genético se precisa en términos de lesiones estructurales que ocurren en el ADN, de estas, tres tipos principales pueden ser descritas: la mutagénesis se refiere a cambios puntuales en los genes, los cuales ocurren en la secuencia de bases del ADN dentro de un gen; la clastogénesis se refiere a cambios en la estructura cromosómica, que resulta en la ganancia, pérdida o rearrreglos de los cromosomas; y finalmente, la aneuploidía, que se refiere a la ganancia o pérdida de cromosomas intactos.

Más de 200 pruebas de corto plazo que utilizan microorganismos, insectos, plantas y animales han sido desarrolladas durante los últimos 50 años para ayudar a la identificación de agentes que representen un riesgo genético para los humanos (Valencia Quintana *et al.* 2009). Las pruebas pueden ser organizadas en grupos mayores con base en los sistemas biológicos empleados, tales como microorganismos, plantas, animales y cultivos celulares; y al biomarcador genético detectado, como AC, MN, ICH y fragmentación de ADN (ensayo cometa), entre otros.

Microorganismos

Los bioensayos bacterianos detectan agentes que inducen mutaciones génicas y daño primario al ADN. En esta categoría se encuentra la bien conocida prueba de *Salmonella* o prueba de Ames.

Salmonella typhimurium. Una deficiencia de los ensayos con microorganismos es que las bacterias carecen de muchas de las enzimas metabólicas presentes en los mamíferos. Algunas de estas enzimas transforman los xenobióticos en compuestos electrofílicos que se unen covalentemente al ADN. El metabolismo de los mamíferos puede ser imitado *in vitro* adicionando homogenado de hígado de roedor, denominado fracción S9. Las enzimas de este homogenado, junto con cofactores pueden activar muchos compuestos que de lo contrario serían no mutagénicos en los bioensayos *in vitro*. La contraparte vegetal de este metabolismo se obtiene de fracciones de tejidos vegetales como la raíz y se denomina fracción S10.

El ensayo de coincubación de células vegetales TX1 de *Nicotiana*/microorganismo (*Salmonella*) ha sido utilizado para analizar la activación genotóxica de plaguicidas organofosforados (OF) como volatón (o foxim), gusatión (o metil azinfos) (Gómez-Arroyo *et al.* 1991, 2007a; Cortés-Eslava *et al.* 1993, 2009a,b) y baitión (Cortés-Eslava *et al.* 1994). También se han evaluado los herbicidas tiocarbámicos, Eradicane y Asulox y micoherbicida derivado de *Cercospora piaropi* (Jiménez y Villasana 2009).

Otra forma de suplir la activación metabólica es empleando las fracciones microsómicas de hígado de rata, *fracción S9* o la fracción microsómica de raíces de *Vicia faba*, *fracción S10*. Con ambas fracciones se han evaluado los herbicidas Eradicane y Asulox y con la activación vegetal exógena han sido estudiados el azinfos metil y el foxim (Gómez-Arroyo *et al.* 2007a; Cortés-Eslava *et al.* 2009a,b). Este tipo de estudios han sido importantes en la elucidación de promutágenos, que son sustancias inactivas por sí mismas, pero que los metabolitos producidos por la acción de las fracciones microsómicas animal (S9) y/o vegetal (S10) y/o del sistema vegetal coincubado con la bacteria (células TX1 de *Nicotiana*, o algún otro sistema vegetal), son capaces de inducir daño genético en el organismo centinela.

El metil azinfos es incapaz de inducir daño cuando se expone de forma directa a *Salmonella*, sin embargo, cuando se aplica en presencia de células vegetales de *Nicotiana* o la fracción microsómica vegetal S10, tiene el potencial de incrementar significativamente su actividad mutagénica, lo que demuestra que éste es un

mutágeno indirecto o promutágeno, que puede ser activado por el metabolismo vegetal. De igual manera, el efecto contrario puede ser evidenciado con este mismo sistema de prueba. Foxim (o volatón) tiene el potencial de incrementar significativamente la actividad mutagénica de forma directa en *Salmonella*. Sin embargo, en presencia de la activación vegetal, la actividad mutagénica no fue detectada. En otras palabras, un mutágeno directo puede ser inactivado por efecto del metabolismo (Gómez-Arroyo *et al.* 1991a, 2007a; Cortés-Eslava *et al.* 1993, 2009a,b).

Se ha probado la activación vegetal *in vivo*, en donde el plaguicida es aplicado a un sistema vegetal y, posteriormente, los extractos de esta planta son aplicados al microorganismo, así se evalúa su actividad mutagénica. El baitión fue aplicado a las raíces de *Vicia faba* y posteriormente los extractos de las raíces se aplicaron a *Salmonella*. Los resultados demostraron que los extractos fueron capaces de incrementar la frecuencia de mutaciones revertantes en la cepa TA100. Por el contrario, al aplicar el insecticida de forma directa no produjo efecto mutagénico (Cortés-Eslava *et al.* 1994).

Los estudios realizados con Eradicane, Asulox y el micoherbicida (bioplaguicida) (Jiménez y Villasana 2009), fueron negativos aún en presencia de la activación metabólica.

Plantas

Como en muchos otros estudios en donde se emplean plantas para evaluar el potencial genotóxico de los xenobióticos, *V. faba* es el organismo más utilizado (67%), para el estudio de la actividad de los plaguicidas (Figura 4.3) (Gómez Arroyo *et al.* 1985, 1988, 1990, 1992; Fernández *et al.* 1991, 1994; Valencia-Quintana *et al.* 1991, 1996, 1998, 1993a,b, 2002, 2005, 2009; Rosales-Hernández *et al.* 1996; Guillén y Bautista 2002; Guillén *et al.* 2002; Flores-Maya *et al.* 2005, Flores-Márquez *et al.* 2009; Barba-García *et al.* 2010).

Otros estudios en México con plaguicidas han sido desarrollados con *Tradescantia* (17%) (Rico *et al.* 1999; Álvarez-Moya *et al.* 2001b, 2002, 2003, 2011; Ruiz-Flores 2003), *Allium cepa* (13%) (Fernández *et al.* 1994, 2002; Fernández y Gómez-Arroyo 1996; Rivera-León *et al.* 2009) y sólo un trabajo se realizó con *Agave tequilana*, cuyos resultados indicaron que puede ser utilizada para demostrar daño genético, además de los sistemas tradicionalmente usados como bioensayos de genotoxicidad (3%) (Álvarez-Moya *et al.* 2001) (Figura 4.3).

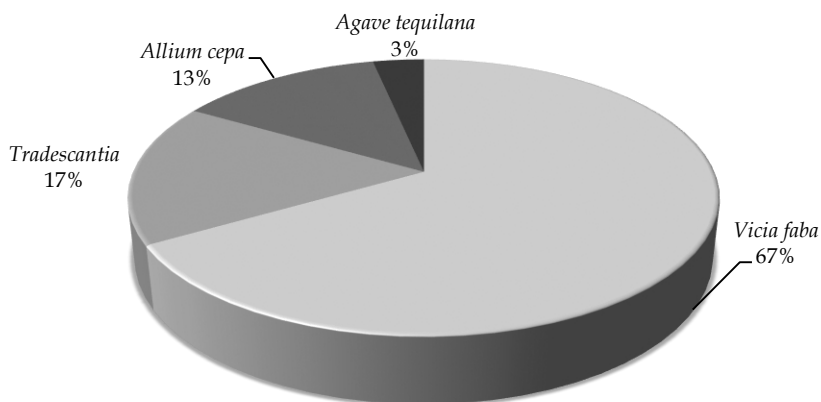


Figura 4.3. Bioensayos con plantas empleados en el estudio del potencial genotóxico de plaguicidas en México.

Vicia faba. Los diferentes grupos químicos de plaguicidas han sido evaluados con *V. faba*. El heptacloro, un insecticida organoclorado (OC), resultó ser activo en la inducción de daño genético en este sistema (Gómez-Arroyo *et al.* 1985). La misma respuesta fue encontrada con los OF y sus metabolitos como malatión (Gómez-Arroyo *et al.* 1985), metil paratión (Gómez-Arroyo *et al.* 1985, 1988), dimetoato, oxidemetón metil, metil azinfos y foxim (Gómez-Arroyo *et al.* 1988; Flores-Márquez *et al.* 2009), así como diazinón (Guillén y Bautista 2002; Barba-García *et al.* 2010). Plaguicidas de otros grupos también han dado respuestas positivas como linurón (Gómez-Arroyo *et al.* 1990), carbofuradán (Fernández *et al.* 1991), metomil (o lannate-90) (Valencia-Quintana *et al.* 1991, 1993a,b, 1998, 2002, 2009), carbofurán (Fernández *et al.* 1994), eptán y asulán (Rosales-Hernández *et al.* 1996), pirimor-50 (Valencia-Quintana *et al.* 1996, 2002), captán y maneb (Guillén y Bautista 2002), metribuzin y ametrín (Flores-Maya *et al.* 2005), oxamil (o Vydate L-24) (Valencia-Quintana *et al.* 2005), y volatón (Gómez-Arroyo *et al.* 2009). Las respuestas negativas en este sistema han sido reportados en metil paratión (Gómez-Arroyo *et al.* 1985), Vydate L-24 (Valencia-Quintana *et al.* 1993a,b), diurón (Gómez-Arroyo *et al.* 1990), y diazinón, en presencia de un extracto en dimetilsulfóxido (DMSO) de ruda (Guillén *et al.* 2002).

Tradescantia. Con este sistema se han evaluado la hidrazida málica (Álvarez-Moya *et al.* 2001) y el glifosato (Álvarez-Moya *et al.* 2001, 2003, 2011). Se han reportado respuestas positivas en el primer caso, y en el último, los resultados

han sido contradictorios, ya que depende del marcador evaluado y de las condiciones del estudio.

Allium cepa. El carbofurán ha dado respuestas positivas en su capacidad genotóxica con este bioensayo (Fernández *et al.* 1994). Lo mismo ocurre con unden-50 (Fernández y Gómez-Arroyo 1996) y faena (Fernández *et al.* 2002; Rivera-León *et al.* 2009).

Estudios en animales

Son pocos los animales que han sido empleados como bioensayos en estudios de genotoxicidad inducida por plaguicidas en México, se han utilizado básicamente roedores (41%), peces (29%) e insectos (24%) entre otros (Figura 4.4).

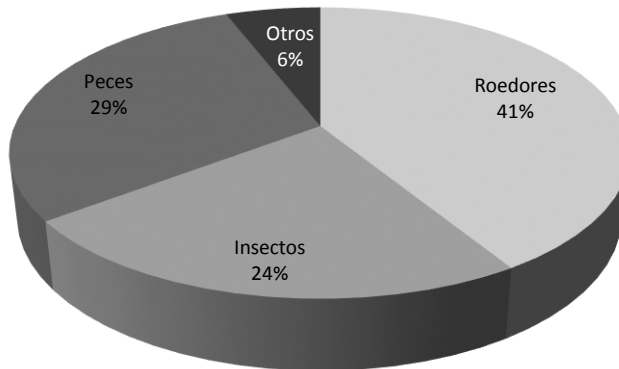


Figura 4.4. Principales bioensayos animales empleados en estudios de genotoxicidad de plaguicidas en México.

Drosophila melanogaster. Con este sistema han sido encontrados resultados positivos con dalapón (Rodríguez-Arnaiz *et al.* 1989), al igual que con triasulfurón, amber, bentazón, basagran (Heres-Pulido *et al.* 2007, 2008), y con glifosato (Ramos-Morales *et al.* 2009), herbicidas ampliamente utilizados.

Roedores. El diazinón (Altamirano-Lozano *et al.* 1989), el 2,4-D (Piña y Madrigal 1996; Madrigal-Bujaidar *et al.* 2001), el metamidofos (Noriega-Ortega 2005) y el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (Canales-Aguirre *et al.* 2011), han sido analizados por sus propiedades genotóxicas con estos organismos como bioensayo de genotoxicidad. Todos los resultados obtenidos fueron positivos. El

criceto sirio también ha sido utilizado como bioensayo. Se han expuesto células embrionarias de este roedor al insecticida bufoprezín, el cual mostró tener capacidad genotóxica (Herrera *et al.* 1993).

Peces. Especies como *Cyprinus carpio* (Nepomuceno y Spano *et al.* 1995), *Oncorhynchus mykiss* y *Goodea atripinnis* (Arévalo Hernández *et al.* 2011), entre otras (Márquez 2008; González-Mille *et al.* 2010), han sido empleadas para evaluar el efecto de metil paratión, paraquat, benlate, HCB, HCH, DDT, DDE, mirex y una mezcla compleja con 2,4-D. La trucha arcoíris también ha resultado ser un buen ensayo como se demostró al exponerla al paraquat y al ácido 2,4-diclorofenoxiacético (Martínez-Tabche *et al.* 2004), en todos los casos se reportaron resultados positivos.

Cultivos celulares

Por mucho, en México, los linfocitos humanos en cultivo son el sistema biológico más utilizado para determinar el daño genético inducido por los plaguicidas (Figura 4.5). También se han empleado otras líneas celulares como las hepáticas (Vega *et al.* 2009) y en células TK6, TK7, entre otras.

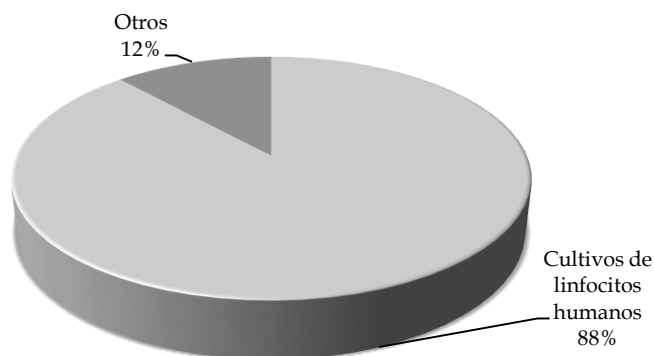


Figura 4.5. Cultivos celulares empleados en la evaluación del potencial genotóxico de plaguicidas en estudios realizados en México.

Linfocitos humanos. Metil paratión (o folidol), dimetoato (o rogor), foxim (o bay77488) (Gómez-Arroyo *et al.* 1987), propoxur (Gómez-Arroyo *et al.* 1995), oxamilo y tiodicarb (Valencia-Quintana *et al.* 1995), metasistox R-25 (Bojórquez y Márquez 1996), butilate y molinate (Espinoza-Ramírez *et al.* 1996; Gómez-Arroyo *et al.* 1996; Calderón-Segura *et al.* 1999), lannate (Hernández y Castillo 1999; Calderón-Segura *et al.* 2007; Valencia-Quintana *et al.* 2009), metribuzina y

ametrina (Flores-Maya 1999, 2005; Gómez de la Cruz *et al.* 2002), metil azinfos (Andrade-Morales *et al.* 2002), glifosato (Álvarez-Moya *et al.* 2003), DDT y sus metabolitos (Yáñez *et al.* 2004), etil paraoxón (metabolito) (Islas-González *et al.* 2005), tamarón, lannate y manzate, así como la combinación entre estos (Castillo-Cadena *et al.* 2007, 2008), gusación folífol y folimat (Sánchez-Estrada *et al.* 2011), han dado respuestas positivas con todos y cada uno de ellos, bajo diferentes condiciones de estudio, en algunos casos de forma directa, pero la mayoría de ellos con activación metabólica, ya sea vegetal o animal, lo cual quiere decir que son promutágenos y requieren ser transformados para manifestar su actividad genotóxica.

En tratamientos directos, se han encontrado resultados negativos con algunos de estos plaguicidas. De igual manera otros plaguicidas han sido incapaces de inducir daño genético en este sistema de prueba como el metil azinfos (o gusación) (Gómez-Arroyo *et al.* 1987), diurón (Gómez-Arroyo *et al.* 1991), endosulfán, z-cipermetrina y azadiractina (Gómez-Arroyo *et al.* 2007b). Sin embargo, estos últimos no han sido probados en presencia de alguna fracción metabólica exógena, por lo que será necesario demostrar si alguno de ellos es un promutágeno antes de presentarlo como inocuo. El paraoxón ha sido evaluado para determinar si es capaz de inducir MN y examinar el papel de los polimorfismos de PON1 en su potencial genotóxico, lo cual ha dado resultados positivos en este sistema de prueba (Rojas-García *et al.* 2009).

Biomarcadores citogenéticos y su asociación con los plaguicidas

Además de la mutagénesis, los otros dos tipos de daño al ADN son la clastogénesis y la aneuploidía, los cuales se refieren a alteraciones en la estructura de los cromosomas o en su número de estos. Los efectos clastogénicos incluyen: las AC, las cuales involucran grandes deleciones, traslocaciones u otros rearrreglos del ADN; la formación de MN, los cuales son fragmentos de cromosomas, o cromosomas cuyo centrómero ha sido dañado; y los ICH que son intercambios de ADN en loci homólogos. Los biomarcadores inducidos por los plaguicidas abarcan AC, MN, ICH y la fragmentación del ADN a través del ensayo cometa, entre otros.

Aberraciones cromosómicas

Cuando se utilizaron las AC como biomarcadores de daño genotóxico todos los plaguicidas evaluados dieron respuestas positivas, a excepción del propoxur (Gómez-Arroyo *et al.* 1991), y aunque el Vydate L-24 fue negativo en linfocitos humanos (Valencia-Quintana *et al.* 1993a,b), cuando se probó en *V. faba* fue capaz de inducir AC (Valencia-Quintana *et al.* 2005). Este comportamiento, como en

otros casos, hace sospechar que este insecticida pudiera comportarse como un promutágeno en sistemas animales que requiere del metabolismo vegetal para ser activado, lo cual deberá ser probado.

La inducción de AC por los plaguicidas ha sido demostrada en *V. faba* (Gómez-Arroyo *et al.* 1985, 1992; Fernández *et al.* 1991, 1994; Valencia-Quintana *et al.* 1991, 1993a,b, 2005, 2009), en *A. cepa* (Fernández *et al.* 1994; Fernández y Gómez-Arroyo 1996), en linfocitos humanos (Gómez-Arroyo *et al.* 1991; Bojórquez y Márquez 1996; Rocha y Castillo 1999; Yáñez *et al.* 2004; Valencia-Quintana *et al.* 2008), en células de médula ósea (Altamirano-Lozano *et al.* 1989) y en espermatozoides de ratón (Piña y Madrigal 1996).

Micronúcleos

Los plaguicidas tiene la capacidad de inducir MN en *V. faba* (Gómez-Arroyo *et al.* 1985; Fernández *et al.* 1994; Guillén y Bautista 2002; Guillén *et al.* 2002), células embrionarias de criceto sirio en cultivo (Herrera *et al.* 1993), *A. cepa* (Fernández *et al.* 1994, 2002; Fernández y Gómez-Arroyo 1996; Rivera-Prado *et al.* 2009), peces (Nepomuceno y Spano 1995; Márquez 2008), linfocitos humanos (Bojórquez y Márquez 1996; Islas-González *et al.* 2005; Márquez 2008), *Tradescantia* (Rico *et al.* 1999; Ruiz-Flores 2003), ratones Balb/c (Noriega-Ortega 2005), células TK6 (Prado-Flores *et al.* 2007, 2009), y células de la mucosa oral de ratas Wistar (Canales-Aguirre *et al.* 2011). El metil paratión fue incapaz de inducir MN en *V. faba* (Gómez Arroyo *et al.* 1985).

Intercambios de cromátidas hermanas

La inducción de ICH fue un biomarcador efectivo, cuando los plaguicidas fueron probados para determinar su potencial genotóxico en linfocitos humanos (Gómez-Arroyo *et al.* 1987, 1995, 1996; Espinoza-Ramírez *et al.* 1996; Calderón-Segura *et al.* 1999; Hernández y Castillo 1999; Flores-Maya *et al.* 2005; Andrade-Morales *et al.* 2002; Gómez de la Cruz *et al.* 2002; Castillo-Cadena *et al.* 2007, 2008; Valencia-Quintana *et al.* 2009), *V. faba* (Gómez-Arroyo *et al.* 1988, 1990; Rosales-Hernández 1996; Valencia-Quintana *et al.* 1996, 1998, 2002), células de médula ósea de ratón (Altamirano-Lozano *et al.* 1989; Hernández y Madrigal 1996; Madrigal Bujaidar *et al.* 2001), y espermatozoides de ratón (Madrigal Bujaidar *et al.* 2001)

Con esta prueba se han encontrado resultados negativos con diurón y linurón (Gómez-Arroyo *et al.* 1990), así como con endosulfán, metamidofos y Z-cipermetrina (Gómez-Arroyo *et al.* 2007). Cabe señalar que son el resultado de

pruebas directas, es decir, en ausencia de cualquier fracción metabólica. Se demostró que algunos de estos plaguicidas eran promutágenos, pues las respuestas positivas solo se dieron en presencia de una fracción metabólica exógena ya fuera animal (S9) o vegetal (S10). En tratamientos directos no se encontraron incrementos significativos en las frecuencias de ICH con propoxur (Gómez-Arroyo *et al.* 1991), molinate y butilate (Calderón-Segura *et al.* 1999), así como con lannate (Hernández y Castillo 1999), metribuzina y ametrina (Gómez de la Cruz *et al.* 2002; Flores-Maya *et al.* 2005), ni con metilazinfos (o gusatión) (Gómez-Arroyo *et al.* 1987; Andrade-Morales *et al.* 2002).

Ensayo cometa

Una de las pruebas que cada vez tiene más resonancia en la evaluación de las propiedades mutagénicas de los diversos contaminantes ambientales es la de fraccionamiento de ADN o EC. Esta prueba ha ayudado a identificar plaguicidas potencialmente mutagénicos en diversos bioensayos de prueba como el *Agave tequilana* (Álvarez Moya *et al.* 2001), *Tradescantia* (Álvarez Moya *et al.* 2001, 2003, 2011), peces (Martínez-Tabche *et al.* 2004; González-Mille *et al.* 2010; Arévalo Hernández *et al.* 2011), células sanguíneas (Yáñez *et al.* 2004; Islas Guzmán *et al.* 2005; Calderón-Segura *et al.* 2007, 2010; Sánchez-Estrada *et al.* 2011), ostras (Anguiano *et al.* 2007), *V. faba* (Flores-Márquez *et al.* 2009; Barba-García *et al.* 2010), células TK6 (Prado *et al.* 2009), células hepáticas (Vega *et al.* 2009), lombriz de tierra (Espinoza-Reyes 2010), y en roedores (Canales-Aguirre *et al.* 2011). En este tipo de ensayo también se puede incluir la activación metabólica como parte del diseño experimental.

Índice mitótico, índice de replicación, cinética de proliferación celular

Complementando, los análisis de biomarcadores de genotoxicidad para determinar el potencial genotóxico de plaguicidas, algunos autores analizan los efectos de estos plaguicidas sobre parámetros como el índice mitótico (IM), índice de replicación (IR) y la cinética de proliferación celular (Figura 4.6). Los efectos encontrados son muy diversos, algunos plaguicidas tienen la capacidad de reducir o retrasar estos parámetros y en otros casos inhibirlos o aumentarlos, e incluso no inducir alguna alteración de los mismos. Todo esto depende del bioensayo utilizado y de las condiciones de experimentación, es decir, si fueron tratamientos directos o en presencia de activación metabólica *in vivo* o *in vitro*, ya fuera animal (S9) o vegetal (S10).

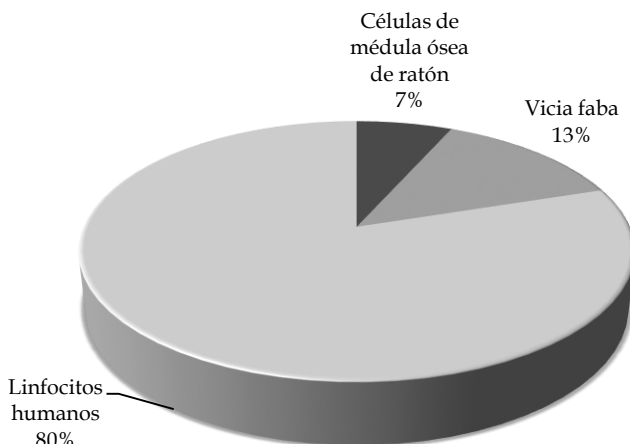


Figura 4.6. Bioensayos en donde se evalúan los parámetros de citotoxicidad como complemento de los análisis de genotoxicidad de plaguicidas en estudios realizados en México.

Estos biomarcadores se han determinado cuando los plaguicidas han sido probados en: células de médula ósea de ratón (Altamirano-Lozano *et al.* 1989), *V. faba* (Valencia-Quintana *et al.* 1993a, b), y linfocitos humanos (Valencia-Quintana *et al.* 1995, 2009; Gómez-Arroyo *et al.* 1996, 2007b; Calderón-Segura y Espinoza-Ramírez 1998; Hernández y Castillo 1999; Rocha y Castillo 1999; Flores-Maya 2000, Castillo-Cadena *et al.* 2007, 2008; Sodi y Arce *et al.* 2007; Márquez 2008).

Otros estudios realizados en México con plaguicidas que involucran efectos sobre el material genético

Expresión génica. Se han evaluado los efectos del lindano sobre la expresión génica en tilapia (Colli-Dula *et al.* 2009). La expresión de algunos genes fue confirmada mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR-RT), encontrando que la exposición a lindano dispara la expresión diferencial de los genes de la inmunoglobulina de cadena pesada (IgH), del factor de coagulación V (FV), de la caseína 2 alfa (CK2a) y del receptor "protein-tyrosine-like phosphatase" (RPT-LP), sugiriendo que la exposición a este insecticida puede disparar una rápida respuesta del sistema inmune en tilapias.

Se han analizado las alteraciones en la expresión génica en mórulas de embriones de cerdo a diferentes concentraciones de malatión después de la fertilización *in vitro* (Salazar *et al.* 2007). Genes relacionados con el metabolismo mitocondrial, como citocromo c, subunidades I y III, genes nucleares como el

complejo mayor de histocompatibilidad I (MCH I) y una proteína hipotética relacionada con un factor “splicing” fueron los blancos del efecto desregulador del malatión. Se cree que el uso y la exposición a malatión pueden tener implicaciones reproductoras.

Polimorfismos. Los polimorfismos de la PON1 dan mayor susceptibilidad a la intoxicación por OF, como fue demostrado con el paraoxón, al inducir un incremento significativo dosis-dependiente de la frecuencia de MN en linfocitos humanos (Rojas-García *et al.* 2009).

Antigenotoxicidad. En algunas investigaciones se han evaluado las propiedades antigenotóxicas de diferentes agentes como extractos vegetales y de algunos frutos. Hernández y Castillo (1999), así como Rocha y Castillo (1999), demostraron el efecto genoprotector de la vitamina C en linfocitos humanos contra el daño inducido por Iannate, determinando la frecuencia de ICH. El extracto de ruda con DMSO fue eficaz para evitar la inducción de MN por diazinón en *V. faba* (Guillén *et al.* 2002), lo cual no ocurrió con el extracto de la misma planta en acetona. Cortés-Eslava *et al.* (2003) probaron el efecto genoprotector del perejil en el ensayo de coincubación de célula vegetal (*Nicotiana*)/microorganismo (*Salmonella*), con metil paratión. Ruiz-Flores *et al.* (2003) han evaluado los efectos anticlastogénicos de los extractos de *Spirullina máxima* sobre la inducción de micronúcleos por hidrazida málica en *Tradescantia*. Los índices de inhibición del efecto genotóxico obtenidos indican que la espirulina es un agente anticlastogénico. Los extractos de tuna (Cortés-Eslava *et al.* 2008) y de kiwi (Cortés-Eslava *et al.* 2009b) también han demostrado sus propiedades genoprotectoras, al disminuir el número de revertantes inducidos por azinfos metil y gusatión, respectivamente, en el sistema de prueba de *Salmonella* con fracción metabólica exógena vegetal (S10).

Consideraciones finales

Cuando los plaguicidas son manejados inadecuadamente ponen en peligro la integridad genética de los seres humanos y de la biota en general. Las evidencias de sus efectos genotóxicos han sido citadas. La genotoxicidad de algunos contaminantes ambientales puede afectar la salud humana. Los plaguicidas son una clase de contaminantes ambientales que pueden, en algunos casos, alterar las rutas hormonales o afectar directamente el ADN. El número de biomarcadores disponibles para evaluar el riesgo genético es muy amplio, no obstante los estudios realizados en México solo han empleado una pequeña fracción de éstos, al igual que de los bioensayos. Los cultivos celulares son los

bioensayos más empleados en la evaluación de la genotoxicidad de plaguicidas en México, seguido de las plantas, animales y microorganismos.

Aunque el EC cada vez está siendo más aceptado como biomarcador para determinar la genotoxicidad de diferentes agentes, los ICH han resultado ser los más empleados. Después del EC se encuentran los MN y las mutaciones entre otros. Sólo un estudio abordó la teratogénesis en ratón.

Dentro de los ensayos vegetales, destaca por mucho *V. faba*, sobre *Tradescantia* y *Allium cepa*, siendo muy sensibles a la exposición de plaguicidas. Roedores, insectos (*D. melanogaster*) y peces destacan entre los bioensayos animales. Los linfocitos humanos dominan cuando los cultivos celulares son empleados como bioensayo. En pocos estudios se han empleado líneas celulares hepáticas y linfoblastoides (TK6, TK7). La variedad de plaguicidas que ha sido evaluada en los estudios desarrollados en México es muy poca, aunque destacan los OF y OC; otros grupos de plaguicidas han sido descuidados, puesto que de ellos sólo hay poco estudios o inclusive no han sido probados para demostrar su actividad genotóxica.

Es importante estimular la investigación en esta línea, dado el papel preponderante que tienen los plaguicidas en nuestro país, la peligrosidad demostrada hasta el momento, y su ubicua presencia, puesto que se han encontrado en alimentos, sangre, músculos y leche no solo de animales sino también de seres humanos, además de encontrarse en diferentes matrices ambientales (aire, agua y suelo). Es importante destacar algunos estudios que intentan descubrir agentes genoprotectores en extractos vegetales y de frutos, entre otras fuentes, como una posible alternativa para disminuir el riesgo por la exposición a plaguicidas, pero aún falta mucho por hacer.

Referencias

- Altamirano-Lozano M.A., Camacho-Manzanilla M.C., Loyola-Álvarez R., Roldan-Reyes E. (1989). Mutagenic and teratogenic effects of diazinon. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 5:49-58.
- Álvarez-Moya C., Santerre-Lucas A., Zúñiga-González G., Padilla-Cambreros E., Feria-Velasco A. (2001a). A model on *Agave tequila* weber for detection of damaged DNA from diseased cell and cells exposed to glyphosate. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19:78-83
- Álvarez-Moya C., Santerre-Lucas A., Zúñiga-González G., Torres-Bugarin O., Padilla-Cambreros E., Feria-Velasco A. (2001b). Evaluation of genotoxic

- activity of maleic hydrazide, ethyl methane sulfonate, and N-nitroso diethylamine in *Tradescantia*. Salud Pública de México. 43:563-569.
- Álvarez-Moya C., Ochoa Hernández S., Sucedo-Orendain A., Ayala-Chávez, N., Urbina-Cano P. (2002). Actividad genotóxica del glifosato en *Tradescantia* (4430). pp 3. En: Congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Álvarez-Moya C., Reinoso-Silva M., Villalobos-Arámbula A.R., Islas-Sandoval A., Castañeda-Vázquez H., González-Montes R.M. (2011). Evaluation of genetic damage induced by glyphosate isopropylamine salt using *Tradescantia* bioassays. Genetics and Molecular Biology. 34:127-130.
- Andrade-Morales L., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (2002). Activación metabólica del metil azinfos por *Vicia faba* y el efecto genotóxico de sus metabolitos. pp 4. En: Congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Anguiano G., Llera-Herrera R., Rojas E., Vázquez-Boucard C. (2007). Subchronic organismal toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and feeding response of Pacific oyster *Crassostrea gigas* to lindane (gamma-HCH) exposure under experimental. Environmental Toxicology and Chemistry. 26(10):2192-2197.
- Arévalo-Hernández A., Reynoso-Silva M., Álvarez-Moya C. (2011). Compuestos organo-persistentes y daño genético en núcleos hepáticos de *Goodea atripinnis* del lago de Chapala. Scientia-CUCBA. 13(1-2):1-8.
- Barba-García J.A., Cortés-Eslava J., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (2010). Evaluación del daño al ADN por diazinón y folicur en *Vicia faba* mediante el ensayo cometa. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 26:288.
- Bojórquez G., Márquez C. (1996). Efectos genotóxicos del oxidemeton metil (Metasistox R-25) en linfocitos humanos cultivados. En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.
- Calderón-Segura M.E., Espinosa-Ramírez M. (1998). Efecto de butylate y de molinate sobre la división de los linfocitos humanos en cultivos con y sin activación metabólica *in vivo* o *in vitro* por *Vicia faba*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 14:39-42.
- Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Espinosa-Ramírez M. (1999). *In vivo* and *in vitro* promutagen activation by *Vicia faba* of thiocarbamate herbicides molinate and butylate to products

- inducing sister chromatic exchanges in human lymphocytes cultures. *Mutation Research*. 13:81-88.
- Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Molina-Álvarez B., Villalobos-Pietrini R., Calderón-Ezquerro C., Cortés-Eslava J., Valencia-Quintana P.R., López-González L., Zúñiga-Reyes R., Sánchez-Rincón J. (2007). Metabolic activation of herbicide products by *Vicia faba* detected in human peripheral lymphocytes using alkaline single cell gel electrophoresis. *Toxicology in Vitro*. 21:1143-1154.
- Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Méndez P.P. (2010). Comparación genotóxica y citotóxica de dos formulaciones comerciales del insecticida imidacloprid en linfocitos periféricos humanos *in vitro*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 26:452.
- Canales-Aguirre A., Padilla-Camberos E., Gómez-Pinedo U., Salado-Ponce H., Feria-Velasco A., De Celis R. (2011). Genotoxic effect of chronic exposure to DDT on lymphocytes, oral mucosa and breast cells of female rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 8(2):540-53.
- Castillo-Cadena J., Poblano-Bata R., Posada-González R., Contreras-Gómez S., Vera-Fabela P., Ortega-Soto R.D. (2007). Intercambio entre cromátidas hermanas e índice de replicación por mezclas de los plaguicidas tamarón, lannate y manzate 200 en linfocitos humanos. pp 45-46. *En: Congreso Nacional de Genética 2007. Memorias. Universidad Autónoma de Zacatecas.*
- Castillo-Cadena J., Poblano-Bata R., Posada-González R., Contreras-Gómez S., Vera-Fabela P., Ortega-Soto R.D. (2008). Intercambio entre cromátidas hermanas e índice de la replicación por mezcla de los plaguicidas tamarón, lannate y manzate en linfocitos humanos. pp 57. *En: VII Congreso Nacional de Toxicología. Memorias. Universidad Autónoma del Estado de México.*
- Castillo-Cadena J., Hernández-Caballero N., Rocha-Sánchez R., Bernal-Olivares B. (2009). Genotoxicidad del insecticida Lannate en linfocitos humanos con y sin activación metabólica. *Contacto Químico*. 4(3):16-18.
- Cortés-Eslava J., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1993). Evaluación del daño mutagénico provocado por los insecticidas organofosforados foxim y metil azinfos en *Salmonella typhimurium* a través del metabolismo vegetal. pp 63-64. *En: Congreso Nacional de Genética 1993. Memorias. Universidad Autónoma de Guanajuato.*
- Cortés-Eslava J., Gómez-Arroyo S., Villalobos Pietrini R. (1994). Evaluación de la mutagenicidad del insecticida baytión en *Salmonella typhimurium* previa activación metabólica *in vivo* por *Vicia faba*. *En: 11° Congreso Latinoamericano de Genética y 3° de Mutagénesis, Carcinogénesis y*

- Teratogénesis Ambiental. Memorias. Asociación Latinoamericana de Genética, Asociación Latinoamericana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis. pp 295.
- Cortés-Eslava J., Gómez-Arroyo S., Flores-Maya S., Villalobos-Pietrini R., Amador O., Díaz M.E. (2003). Efecto de extractos vegetales frente a la mutagenicidad inducida por contaminantes ambientales. *En: Memorias Congreso Nacional 2003, Sociedad Mexicana de Genética. Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, 23-27 de octubre.* pp 55.
- Cortés-Eslava J., Álvarez D., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (2009a). Potencial antimutagénico del jugo de tuna sobre metabolitos de un insecticida y una amina aromática. *En: Congreso Nacional Genética 2009. Memorias. Universidad Veracruzana.* pp 78-79.
- Cortés-Eslava J., Ojeda Z.P.M., Saldívar M.G., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (2009b). Actividad antigenotóxica del kiwi (*Actinidia chinensis*) frente a mutágenos ambientales. *En: Congreso Nacional Genética 2009. Memorias. Universidad Veracruzana.* pp 64.
- Espinosa-Ramírez M., Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1996). Evaluación de la capacidad metabólica *in vitro* de la fracción S10 de *Vicia faba* de los herbicidas tiocarbámicos butilate y molinate en cultivo de linfocitos humanos. *En: Memorias del 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética A. C. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes del 29 de septiembre al 3 de octubre.* pp 21.
- Espinosa-Reyes G., Ilizaliturri C.A., González-Mille D.J., Costilla R., Díaz-Barriga F., Carmen-Cuevas M.D., Martínez M.A., Mejía-Saavedra J. (2010). DNA damage in earthworms *Eisenia spp.* as an indicator of environmental stress in the industrial zone of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering.* 45:49-55.
- Fernández M.S., Gómez-Arroyo S. (1991). Efecto citogenético del carbamato carbofuradán en *Vicia faba*. *En: II Congreso Nacional de Genética. Memorias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.* pp 38.
- Fernández M.S., Gómez Arroyo S. (1996). Efecto genotóxico del insecticida carbámico Uden-50e *Allium cepa*. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.* pp 17.
- Fernández M.S., Arguelles C., Gómez-Arroyo S. (1994). Efectos citogenéticos producidos por carbofurán en *Vicia faba* y *Allium cepa*. *En: 11º Congreso Latinoamericano de Genética y 3º de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental. En: Memorias. Asociación Latinoamericana de*

- Genética, Asociación Latinoamericana de Mutagénesis, Carcinogénesis y teratogénesis. pp 297.
- Fernández M.S., Lozada G.A., Morales V.R., Parada M.M. (2002). Efecto del glifosfato en células de *Allium cepa* y espermatozoides de *Xiphophorus maculatus* (Gunter). En: congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp 13.
- Flores-Maya S. (2000). Efecto de los herbicidas metribuzina y ametrina (trazinas) sin y con activación metabólica vegetal *in vivo* sobre la cinética del ciclo celular y el índice mitótico en linfocitos humanos en cultivo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 16:127-137
- Flores-Maya S., Gómez-Arroyo S., Calderón-Segura M.E., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S.M., de la Cruz G.L. (2005). Promutagen activation of triazine herbicides metribuzin and ametryn through *Vicia faba* metabolism inducing sister chromatic exchanges in human lymphocytes *in vitro* and in *V. faba* root tip meristems. Toxicol In Vitro. 19(2):243-251.
- Gómez-Arroyo S., Baiza A.M., López G., Villalobos-Pietrini R. (1985). A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion, and methyl parathion en *Vicia faba*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 1:7-16.
- Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N., Juárez-Rodríguez D., Villalobos-Pietrini R. (1987). Sister chromatic exchanges induced by the organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, phoxim and methyl azinfos in cultured human lymphocytes. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 3:63-70.
- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz P., Cortés-Eslava J., Villalobos-Pietrini R. (1988). *Vicia faba* sister chromatic exchanges of methyl parathion, dimethonate, oxydemeton methyl, azinphos methyl and phoxim. Cytologia. 53(4):627-634.
- Gómez-Arroyo S., Cortés-Eslava J., Ramírez-Domínguez A., Gutiérrez-Abad A., Villalobos-Pietrini R. (1990). Cytogenetic effects produced by the ureic herbicides diurón and linurón in *Vicia faba* and human lymphocytes cultures. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 6:69-74.
- Gómez-Arroyo S., Cortés-Eslava J., Villalobos-Pietrini R. (1991). Efecto mutagénico de insecticidas organofosforados en *Salmonella typhimurium* a través del metabolismo vegetal. En: II Congreso Nacional de Genética. Memorias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 10.
- Gómez-Arroyo S., Rodríguez-Madrid L., Villalobos-Pietrini R. (1992). Chromosomal alterations induced by the thiocarbamate herbicide molinate (ordram) in *Vicia faba*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 8(2):77-80.

- Gómez-Arroyo S., Calderón-Segura M.E., Villalobos-Pietrini R. (1995). Sister chromatic exchange in human lymphocytes induced by propoxur following plant activation by *Vicia faba*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 26(4):324-330.
- Gómez-Arroyo S., Calderón Segura M.E., Villalobos-Pietrini R. (1996). Influencia del metabolismo de *Vicia faba* en el efecto citogenético de los herbicidas Molinate y Butilate en cultivo de linfocitos humanos. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. En: Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.* pp 43.
- Gómez-Arroyo S., Cortés-Eslava J., Villalobos-Pietrini R., Calderón-Segura M.E., Flores-Márquez A.R., Espinosa-Aguirre J.J. (2007a). Differential mutagenic response of *Salmonella typhymurium* to the plant-metabolized organophosphorus insecticides, phoxim and azinphos methyl. *Toxicol In Vitro*. 21:950-955.
- Gómez-Arroyo S., González-Torres C., Calderón-Segura M.E., Cortés-Eslava J., Villalobos-Pietrini R. (2007b). Genotoxicidad y alteraciones en la cinética celular provocada por plaguicidas en linfocitos humanos *in vitro*. *En: Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Genética 2007. Memorias. Universidad Autónoma de Zacatecas.* pp 33.
- Gómez-Arroyo S., Cortés-Eslava J., Flores-Márquez A.R., Villalobos-Pietrini R. (2009). Efecto genotóxico del insecticida Volatón en *Vicia faba* detectado mediante el ensayo cometa. *En: Congreso Nacional Genética 2009. Memorias. Universidad Veracruzana.* pp 58-59.
- Gómez de la Cruz L., Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (2002). Efecto citogenético de los productos de activación metabólica *in vitro* por la raíz de *Vicia faba*, de los herbicidas ametrina y metribuzina en linfocitos humanos e cultivo. *En: congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* pp 17.
- González-Mille D.J., Ilizaliturri-Hernández C.A., Espinosa-Reyes G., Costilla-Salazar R., Díaz-Barriga F., Ize-Lema I., Mejía-Saavedra J. (2010). Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish of different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Ecotoxicology*. 19(7):1238-1248.
- Guillén A.O.H., Gutiérrez R.R., Díaz Barriga A.S. (2002). Estudio antigenotóxico de diferentes extractos de ruda (*Ruta graveolens*) sobre el daño cromosómico producido por el diazinón, en células radiculares de Haba (*Vicia faba*). *En: congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* pp 20.

- Heres-Pulido M.E., Lombera-Hernández S., Perales-Canales I., Castañeda-Partida L., Dueñas-García I.E., Duran-Díaz A., Graf U. (2007). El herbicida triasulfurón es genotóxico en la prueba del ala de *Drosophila melanogaster* y es modulado por el metabolismo del trigo de invierno. *En: Congreso Nacional de Genética 2007. Memorias. Universidad Autónoma de Zacatecas.* pp 54.
- Heres-Pulido M.E., Lombrera-Hernández S., Dueñas-García I., Perales-Canales I., Castañeda-Partida L., Rocha-Ortiz C., Flores-Maya S., Durán-Díaz A., Graf U. (2008). Genotoxicity of triasulfuron in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* is modulated by winter wheat seedlings. *Mutation Research.* 31:70-75.
- Hernández C.N., Castillo C.J. (1999). Vitamina C como antimutágeno y citostático en el daño inducido por Lannate. *En: IV Congreso Nacional de Ciencias Ambientales "Por una mañana con vida". Memorias. Universidad Autónoma del Estado de México, Academia Nacional de Ciencias Ambientales.* pp. 55.
- Hernández A., Madrigal E. (1996). Estudio *in vivo* e *in vitro* de la genotoxicidad del diltiazem evaluado por la técnica de intercambio entre cromátidas hermanas. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.* pp 48.
- Hernández A., Cassani M., Madrigal E. (1996). Efecto genotóxico del ácido 2, 4-diclorofenoxiacético en médula ósea de ratón. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.* pp 9.
- Herrera L.A., Ostosky-Wegman P., Schiffmann D., Chen Q.Y., Ziegler-Skylakakis K., Andrae U. (1993). The insecticide buprofezin induces morphological transformation and kinetochore-positive micronuclei in cultured Syrian hamster embryo cells in the absence of detectable DNA damage. *Mutation Research.* 303(3):121-125.
- Islas-González K., González-Horta C., Sánchez-Ramírez B., Reyes-Aragón E., Levario-Carrillo M. (2005). *In vitro* assessment of the genotoxicity of ethyl paraoxon in newborns and adults. *Human & Experimental Toxicology.* 24(6):319-324.
- Jiménez M.M., Villasana A.M. (2009). Evaluation of toxicity of *Cercospora piaropi* in a mycoherbicide formulation by using bacterial bioluminescence and the Ames mutagenicity tests. *Mycopathologia.* 167(4):203-208.
- Madrigal-Bujaidar E., Hernández-Ciruelos A., Chamorro G. (2001). Introduction of sister chromatid exchange by 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in

- somatic and germ cells of mice exposed *in vivo*. Food and Chemical Toxicology. 39(9):941-946.
- Márquez B.C. (2008). Estudios genotóxicos y citotóxicos en Baja California. *En: Congreso Nacional de Genética 2008. Memoria. Universidad Autónoma de Baja California.* 30 pp.
- Martínez-Tabche L., Madrigal-Bujaidar E., Negrete T. (2004). Genotoxicity and lipoperoxidation produced by paraquat and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the gills of rainbow trout *Oncorhynchus mikiss*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 73(1):146-152.
- Nepomuceno J.C., Spano M.A. (1995). Induction of micronuclei in peripheral erythrocytes of *Cyprinus carpio* fish by methyl parathion. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 11:9-12.
- Noriega-Ortega B.R., Armenta-Aldana E., Chávez-Fonseca M.G., Cervantes-Mexi E., Ojeda-Figueroa L.E, Quevedo-López I.Y. (2005). Valoración de genotoxicidad con determinación de micronúcleos en ratones expuestos a metamidofos. Boletín Médico, Facultad de Medicina UAS. 1:13
- Piña A., Madrigal E. (1996). Estudio del efecto del ácidos 2-4 diclorofenoxiacético en espermatoцитos de ratón. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética.* pp 3.
- Piña-Guzmán B., Sánchez-Gutiérrez M., Marchetti F., Hernández-Ochoa I., Solís-Heredia M.J., Quintanilla-Vega B. (2009). Methyl-parathion decreases sperm function and fertilization capacity after targeting spermatocytes and maturing spermatozoa. Toxicology and Applied Pharmacology. 15:238(2):141-149.
- Prado-Flores M.G., Umbert G., Sodi-Arce D., Chávez M., Aguilar S.M.A. (2007). Respuesta de la exposición a Heptacloro y Epóxido de Heptacloro en células TK6 sobre producción de micronúcleos. *En: Congreso Nacional de Genética 2007. Memorias. Universidad Autónoma de Zacatecas.* pp 65.
- Prado G., Ahmad-Bhalli J., Marcos R. (2009). Genotoxicity of heptachlor and heptachlor epoxide in human TK6 lymphoblastoid cells. Mutation Research. 673:87-91.
- Ramos-Morales P., Muñoz-Hernández A., Rivas-Martínez H., Hernández-Bernal B.R., Muñoz-Moya J.A. (2009). Efecto tóxico, genotóxico y reprotóxico del glifosato (Aquamaster©) en *D melanogaster*. *En: Congreso Nacional Genética 2009. Memorias. Universidad Veracruzana.* pp 50.
- Rico M.R., Villalobos P.R., Flores M.A.R., Meneses M.A., Gómez A.S. (1999). Genotoxicidad ocasionada en células gaméticas de *Tradescantia* por el piretroide esbiotrina liberado de vaporizadores eléctricos. *En: IV*

- Congreso Nacional de Ciencias Ambientales "Por una mañana con vida". Memorias. Universidad Autónoma del Estado de México, Academia Nacional de Ciencias Ambientales. pp 61.
- Rivera-León E.A., Ramírez-Benítez M.C., Palmeros-Sánchez B., Fernández M.S. (2009). Estudios *in vivo* e *in vitro* del efecto genotóxico del glifosfato (N-fosfometil glicina) en diferentes organismos. *En: Congreso Nacional Genética 2009*. Memorias. Universidad Veracruzana. pp 67-68.
- Rocha S.R., Castillo C.J. (1999). Efecto anticlastogénico y anticitotóxico de la Vitamina C sobre el daño inducido por el insecticida Lannate en Villa Guerrero, México. *En: IV Congreso Nacional de Ciencias Ambientales "Por una mañana con vida"*. Memorias. Universidad Autónoma del Estado de México, Academia Nacional de Ciencias Ambientales. pp 60.
- Rodríguez-Arnaiz R., Ramos-Morales P., Gaytán-Oyarzun J.C., Rodríguez-Zúñiga D.L., Zimmering S. (1989). The herbicides dalapon and diurón tested for genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional Contaminación Ambiental*. 5:59-64.
- Rojas-García A.E., Sordo M., Vega L., Quintanilla-Vega B., Solís-Heredia M., Ostrosky-Wegman P. (2009). The role of paraoxonase polymorphisms in the induction of micronucleus in paraoxon-treated human lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 50:823-829.
- Rosales-Hernández B., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1996). Efecto citogenético provocado por los herbicidas tiocarbámicos eptam y asulam en *Vicia faba*. *En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología genética*. pp 53.
- Ruiz-Flores L.E., Madrigal-Bujaidar E., Salazar M., Chamorro G. (2003). Anticlastogenic effect of *Spirulina máxima* extract on the micronuclei induced by maleic hydrazide in *Tradescantia*. *Life Sciences*. 7:72(12):1345-1351.
- Salazar-Arredondo E., Solís-Heredia M.J., Rojas-García E., Hernández-Ochoa I., Quintanilla-Vega B. (2008). Sperm chromatin and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology*. 25(4):455-460.
- Sánchez-Estrada L., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Rodríguez-Romero M.I. (2011). Daño inducido en el ADN de linfocitos de sangre periférica humana por los insecticidas organofosforados gusatión, folidol y folimat activados por la fracción S10 de *Vicia faba*. *En: Congreso Nacional de Genética 2011*. Memorias. Universidad de las Américas Puebla. pp 100-101.
- Sodi y Arce D., Hurtado-Maldonado M., Aguilar S.M.A., Prado-Flores M.G. (2007). Efectos citotóxicos de heptacloro y epóxido de heptacloro en

- linfocitos humanos *in vitro*. En: Congreso Nacional de Genética 2007. Memorias. Universidad Autónoma de Zacatecas. pp 67.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1991). Inducción de alteraciones cromosómicas por el insecticida carbámico metomil en *Vicia faba*. En: II Congreso Nacional de Genética. Memorias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 20.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1993). Efecto de los insecticidas carbámicos metomil y oxamil sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. En: Congreso Nacional de Genética 1993. Memorias. Universidad Autónoma de Guanajuato. pp 51-52.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. (1993). Cytological effects of some carbamate insecticides. I. Methomyl and oxamil in *Vicia faba*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 9(2):65-69.
- Valencia-Quintana R., Juárez-Santacruz L., Sánchez-Alarcón J. (1995). Efecto citogenético de los plaguicidas carbámicos Oxamilo y Tiodicarb en linfocitos humanos en cultivo. En: VI Congreso Sociedad Iberoamericana de Biología Celular. Memorias. Sociedad Iberoamericana de Biología Celular. pp C128.
- Valencia-Quintana R., Juárez-Santacruz L., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Sánchez-Alarcón J. (1996). Efecto citogenético de primor sobre las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. En: 4º Congreso Conjunto de las Sociedades Mexicanas de Genética y Toxicología Genética, A.C. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética y Sociedad Mexicana de Toxicología Genética. pp 21.
- Valencia-Quintana R., Juárez-Santacruz L., Delgado-Rodríguez A., Sánchez-Alarcón J. (1998). Cytological effects of some carbamate insecticides. II. Induction of sister chromatic exchanges in *Vicia faba* by lannate-90. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 14(1):49-53.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Gómez J.L. y Sánchez-Alarcón J. (2002) Inducción de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) por plaguicidas carbámicos en *Vicia faba*. En: Congreso Nacional de Genética 2002. Memorias. Sociedad Mexicana de Genética, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp 46.
- Valencia-Quintana R., Sánchez-Alarcón J., Gómez-Olivares J.L., Juárez-Santacruz L., García-Gallegos E., Montiel-González J.M.R., García-Nieto E., Waliszewski S.M. (2005). Vydate L-24, un plaguicida carbámico que induce aberraciones cromosómicas en células meristemáticas de *Vicia faba*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 21:63-70.

- Valencia-Quintana R., Sánchez-Alarcón J., Gómez-Olivares J.L., Waliszewski S.M. (2009). Efectos citogenéticos de plaguicidas carbámicos en linfocitos humanos y células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. En: Congreso Nacional Genética 2009. Memorias. Universidad Veracruzana. pp 51.
- Vega L., Valverde M., Elizondo G., Leyva J.F., Rojas E. (2009). Diethylthiophosphate induce genotoxicity in hepatic cell lines when activated by further biotransformation via Cytochrome P450. *Mutation Research*. 679:39-43.
- Yáñez L., Borja-Aburto V.H., Rojas E., de la Fuente H., González-Amaro R., Gómez H., Jongitud A.A., Díaz-Barriga F. (2004). DDT induces DNA damage in blood cells. Studies in vitro and in women chronically exposed to this insecticide. *Environmental Research*. 94(1):18-24.

CAPÍTULO 5

GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS. ESTUDIOS EN PERSONAS LABORAL Y/O AMBIENTALMENTE EXPUESTAS

Julieta Castillo-Cadena¹, Juana Sánchez-Alarcón², Juan Carlos Sánchez-Meza¹
y Rafael Valencia-Quintana²

Introducción

Los plaguicidas se pueden definir como sustancias que sirven para combatir los parásitos en los cultivos, ganado, animales domésticos y seres humanos, así como su ambiente (Primo y Carrasco 1996). La utilización de estas sustancias ha conseguido aumentar la producción de alimentos y mejorar la salud humana, sin embargo es importante conocer los riesgos y la toxicidad de los plaguicidas, especialmente para las especies que no son su objetivo, antes de que sean aplicados masivamente, así como asegurar que la aplicación se lleve a cabo de una manera adecuada, disminuyendo así los posibles daños. Los plaguicidas han sido considerados como mutágenos potenciales, por contener ingredientes con propiedades para provocar cambios en el ADN (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo 2007).

Hay una preocupación constante por los efectos nocivos derivados de la utilización de plaguicidas en las actividades agrícolas, ya que, el número de plaguicidas usados en la actualidad es muy alto, y su composición química muy variada, por lo que los efectos tóxicos y los problemas ambientales son complejos y diversos. Por otro lado, la introducción de especies nuevas y más productivas por el agricultor genera desequilibrios ecológicos que tienen como consecuencia la proliferación de plagas debido a la desaparición de los predadores naturales, y como consecuencia, mayor uso de plaguicidas.

El sector agrícola es considerado como el grupo poblacional con más alto riesgo de exposición a estos compuestos, por lo que se han realizado diversos estudios con la finalidad de evaluar el riesgo genotóxico que implican, sobre todo para los trabajadores agrícolas. Se han empleado biomarcadores como las de aberraciones cromosómicas (AC), micronúcleos (MN), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y ensayo cometa (EC), cuyos resultados han sido

¹ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Toluca s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

² Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Calle del Bosque s/n, col. Centro, Tlaxcala. C.P. 90000.

controvertidos, ya que existen diferentes factores que pueden causar diferencias como pueden ser el grupo químico al que pertenecen los plaguicidas, la formulación técnica y el ingrediente activo que constituye el producto, el tipo de exposición (crónica o aguda), el tiempo que ha estado expuesto el individuo, la forma en que ha sido el contacto (directo o indirecto), la cantidad empleada, la exposición a mezclas, el clima y la temporada del año en el que se asperjan y la edad de las personas, entre otros (Martínez-Valenzuela y Gómez Arroyo 2007).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se intoxican con plaguicidas entre 500 mil y 1 millón de personas, y unas 20 mil mueren. Al menos la mitad de los intoxicados y el 75% de los que fallecen son trabajadores agrícolas, el resto de los casos se debe a envenenamientos por consumo de alimentos contaminados. Las agencias de regulación estiman que alrededor del 30% de los plaguicidas comercializados en los países en desarrollo, destinados a la agricultura y a la salud pública, no cumplen con las normas de calidad aceptadas internacionalmente. Estos plaguicidas contienen con frecuencia compuestos o impurezas que han sido restringidos en otros países por su peligrosidad, pues constituyen una amenaza para la salud humana y el ambiente (OMS 1993).

Podemos considerar que los daños a la salud, particularmente sobre el ADN en individuos ocupacionalmente expuestos a plaguicidas, comparados con los estudios en modelos experimentales, han sido poco documentados a nivel mundial, situación que es muy similar en México. En este capítulo se mostrarán y comentarán los datos nacionales, destacando los plaguicidas más empleados según el tipo de actividad agrícola y los efectos genotóxicos encontrados.

Biomarcadores de genotoxicidad

Los biomarcadores de genotoxicidad son aquellos indicadores biológicos que ponen de manifiesto la forma en que está siendo dañado el material genético. Dentro de los estudios para el análisis de genotoxicidad, el citogenético es el más utilizado por ser uno de los más conocidos y experimentados, además de que es cuantitativo y ha sido considerado como uno de los métodos más sensibles para detectar mutágenos ambientales (Vega 1985). Dentro de los parámetros citogenéticos existe una variedad de biomarcadores de efecto genotóxico, de los cuales podemos mencionar el índice mitótico (IM), aberraciones cromosómicas (AC), intercambio entre cromátidas hermanas (ICH), la cinética de proliferación celular (CPC), los micronúcleos, las mutaciones génicas y el ensayo cometa (Gonsebatt *et al.* 1994; Tice 1995).

Índice mitótico

El IM es un parámetro citológico que mide la capacidad de una célula para dividirse y ha sido muy útil para evaluar efectos citotóxicos. El IM se refiere al porcentaje de acumulación de metafases después de la detención de la mitosis. Las células en el estadio G_0 se dedican a tareas metabólicas generales y permanecen así durante días o semanas. No obstante tan pronto como la célula se prepara para dividirse, pasa del periodo G_0 a G_1 e inicia los procesos bioquímicos conducentes a la mitosis. Una variación en el índice mitótico se atribuye principalmente a la fase G_1 (Lyne *et al.* 1992) (Figura 5.1).

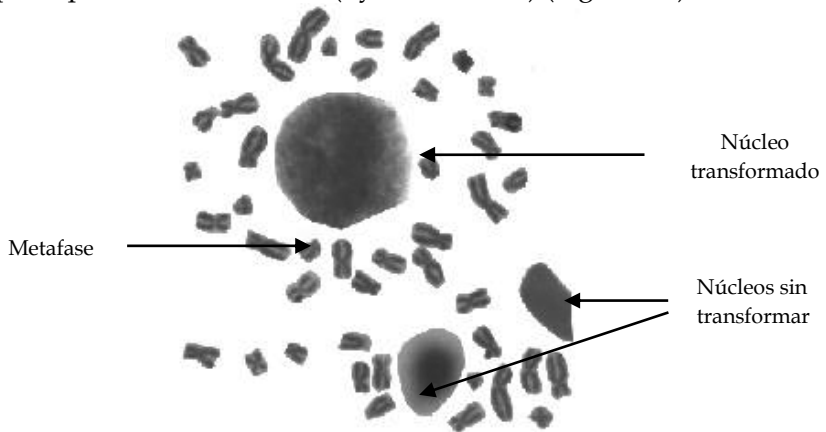


Figura 5.1. En esta imagen se puede apreciar una mitosis. En la parte de arriba un núcleo transformado y hacia abajo y a la derecha dos núcleos no transformados.

Aberraciones cromosómicas

Las AC pueden ser estudiadas en cualquier población de células en proliferación o en cualquier población de células que no estén ciclando, ya que puede ser estimulada por un agente mitogénico para entrar al ciclo celular (De Weerd-Kastelein *et al.* 1997). Es frecuente asumir que éste es un ensayo simple e informativo para monitorear poblaciones humanas, dando información sobre el potencial clastogénico o mutagénico de exposiciones. Las aberraciones estructurales se dan como resultado de la exposición de los cromosomas a la acción de agentes clastogénicos que los dañan y ocasionan alteraciones en su estructura. Existen mecanismos de reparación celular que tratan de subsanar el daño, pero éste puede ser tan grave o los mecanismos de reparación ser deficientes, que se producen alteraciones estructurales permanentes, este marcador es útil para conocer el daño cromosómico no reparado. En la Figura 5.2 se presentan los diferentes tipos de AC estructurales.

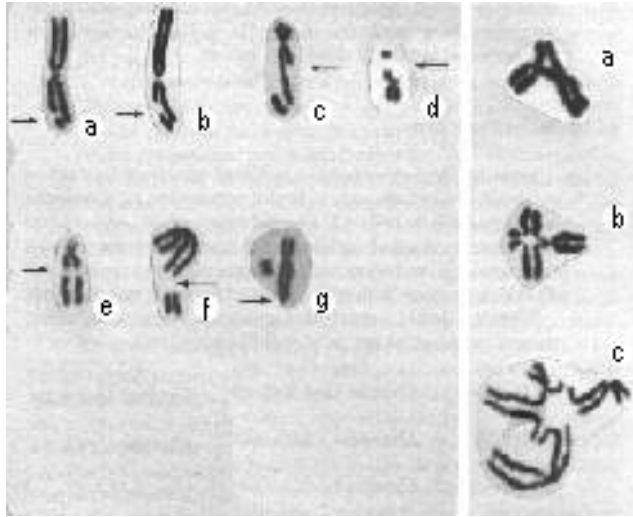


Figura 5.2. Clasificación de las AC según el Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (1985). Del lado izquierdo: gaps cromatídicos a, b; rompimientos cromatídicos c, d; gap cromosómico e; rompimientos cromosómicos f, g. Del lado derecho: intercambio cromatídico, dicéntrico, triradio y completo a; intercambio cromatídico, dicéntrico, cuadriradial y completo b; intercambio cromatídico, tricéntrico complejo e incompleto c.

Intercambio entre cromátidas hermanas

Los ICH representan intercambios de segmentos simétricos equivalentes entre las cromátidas hermanas de un mismo cromosoma (Bianchi 1978). Los ICH son inducidos de manera más eficiente por sustancias que forman aductos covalentes con el ADN o interfieren con los precursores del metabolismo o reparación del ADN. Está bien documentado que los ICH son producidos durante la replicación del ADN y que la polaridad de la molécula es mantenida en el proceso del intercambio (Wolff y Perry 1974).

En principio, los ICH pueden ser observados en cualquier célula que ha completado dos ciclos de replicación en presencia de 5-bromodesoxiuridina (BrdU). En la Figura 5.3 se muestran los ICH como se observan en un microscopio.

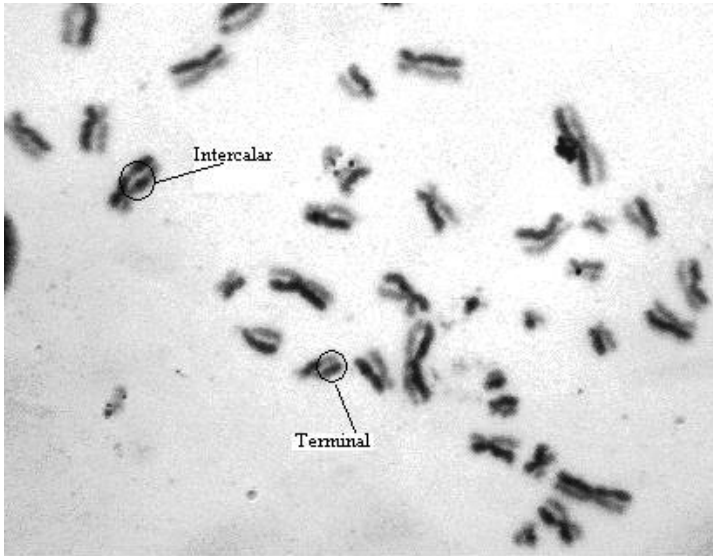
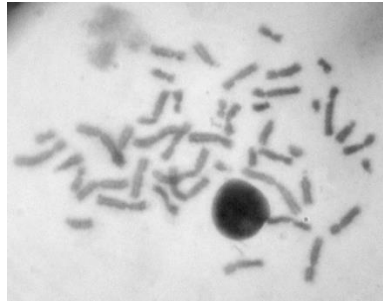


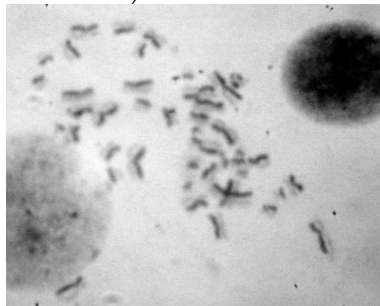
Figura 5.3. Metafase humana después de realizar dos ciclos de replicación en presencia de BrdU y tñida con el colorante Giemsa. Las cromátidas más coloreadas están formadas por una cadena de ADN con BrdU y una cadena sin BrdU. Las cromátidas menos tñidas tienen ambas cadenas de ADN con BrdU. Se muestran algunas regiones donde hubo intercambio entre cromátidas hermanas, señaladas con las flechas.

Índice de replicación

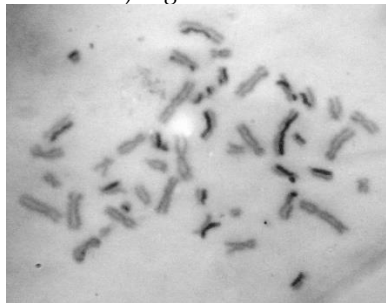
El IR es un parámetro citológico que mide la cinética celular, útil para conocer efectos citostáticos (Gonsebatt *et al.* 1994). En la Figura 5.4 se muestran las metafases en diferentes ciclos de división celular. Para el estudio acerca del paso de las células a través del ciclo la celular o dinámica celular se han empleado diferentes metodologías (Ostrosky 1994), dentro de las que se encuentra la inducción de tinción diferencial de las cromátidas hermanas del cromosoma. Las células que sólo han pasado por un ciclo de duplicación en presencia de BrdU muestran en la mitosis todos sus cromosomas oscuros ya que ambas cromátidas son iguales químicamente, es decir, se encuentran monosustituidas.



a) Primer ciclo



b) Segundo ciclo



c) Tercer ciclo

Figura 5.4. Metafases en diferentes ciclos de replicación. Se leen 100 metafases consecutivas para determinar el IR.

En aquellas metafases que han pasado por dos ciclos de duplicación en presencia de BrdU sus cromosomas presentan una cromátida oscura que está monosustituida con BrdU y una cromátida clara que está doblemente sustituida con el análogo, en estas mitosis todos los cromosomas se encuentran formados por una cromatida clara y una oscura. En las metafases que han pasado por tres ciclos de duplicación en presencia de BrdU se pueden observar cromosomas con ambas cromátidas claras, esto es, doblemente sustituidas por BrdU y cromosomas con una cromátida clara y una oscura, en estas mitosis se observa el 75% de cromátidas claras y el 25% restantes oscuras.

Micronúcleos

El ensayo de MN es considerado como práctico, universalmente validado y accesible tecnológicamente, útil para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. Los MN son la expresión en interfase de los fragmentos acéntricos, que al no tener centrómero no se incluirán en los núcleos hijos durante la división celular, ya que no interactúan con las fibras del huso mitótico en la anafase; estos fragmentos se rodean de membrana nuclear y aparecen como pequeños núcleos en interfase. Este ensayo puede realizarse en cultivo de sangre periférica, así como en células de descamación de la vejiga urinaria y de la mucosa oral y nasal (Zalacain *et al.* 2005) (Figura 5.5).

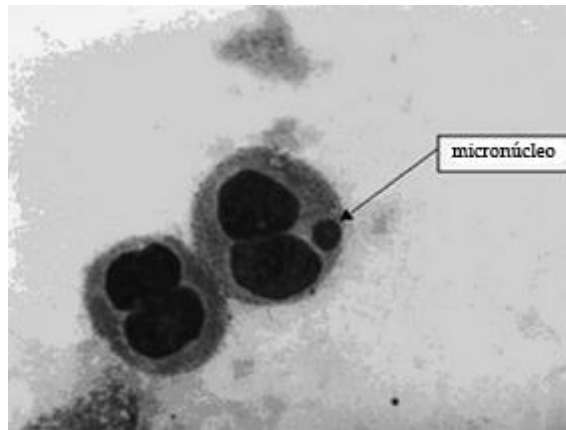


Figura 5.5. Esta imagen muestra un MN al microscopio de campo claro.

Ensayo cometa

La electroforesis de células individuales o EC es una prueba rápida, de bajo costo y con una sensibilidad que supera en más de cien veces a las pruebas citogenéticas, permite detectar rupturas de cadena simple y sitios lábiles a los álcalis. Este ensayo puede ser aplicado a cualquier célula eucariótica y permite el análisis del daño genético al nivel de células individuales. Se utiliza además para monitoreo ambiental y análisis de sensibilidad a radiaciones (Møller *et al.* 2000). El procedimiento es el siguiente: las células son embebidas en agarosa sobre una laminilla; en la agarosa, las membranas celular y nuclear son lisadas y el ADN se somete a una electroforesis alcalina; y finalmente, se visualiza usando un microscopio de fluorescencia después de teñir las células con un colorante apropiado. El EC mide rompimientos de cadena sencilla o sitios álcali lábiles del ADN. El nivel del daño se determina por la longitud de la cauda del

cometa o por el “momento de la cauda” (longitud de la cauda del cometa multiplicado por la intensidad de la fluorescencia en la cauda) (Tice 1995). En la Figura 5.6 se muestran ejemplos de núcleos con y sin daño al ADN.

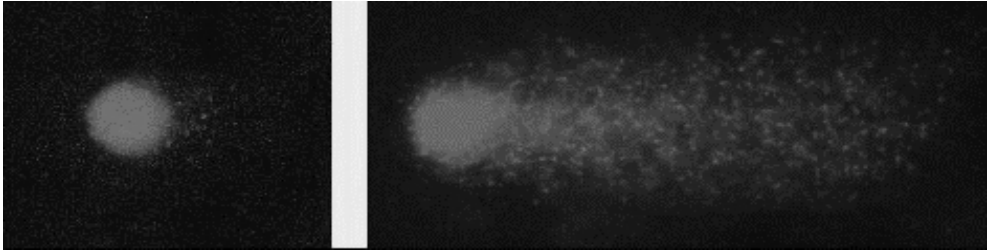


Figura 5.6. En la imagen de la izquierda se muestra un núcleo sin daño y en la de la derecha con daño al ADN.

Exposición laboral

La exposición a productos tóxicos en el ámbito laboral es un problema sin resolver, en parte porque no hay suficientes estudios sobre el tema, y también porque la normativa aún es laxa. Desde hace algunos años, agencias gubernamentales de diferentes países han publicado, para determinados productos químicos, lo que se conoce como índice de exposición biológica o BEI. Los BEI indican, de los diferentes fluidos biológicos, cuál es la concentración por encima de la cual la presencia de un agente químico puede ser peligrosa para la salud. Por su parte, la Unión Europea ha publicado una Directiva del Consejo (98/24/CE) en la que se recoge la necesidad de establecer en los BEI, el mayor número posible de sustancias que puedan suponer un riesgo a corto y largo plazo y, al mismo tiempo, insta a los empresarios a hacerse responsables de establecer los programas sanitarios de control para valorar cuál es el grado de exposición de los trabajadores (“La exposición laboral a productos tóxicos, un problema sin resolver” 2001).

Los efectos citogenéticos han sido poco estudiados en personas laboralmente expuestas (Arroyo *et al.* 1992). Las exposiciones ocupacionales se dan entre agricultores, peones de campo, obreros industriales, exterminadores de plagas, trabajadores de invernaderos y otros. Sobre la agricultura, se considera que es el sector económico más amplio del mundo. A nivel global, hay más gente que se dedica a la agricultura que el total de otras ocupaciones. Todas las actividades económicas que abarca dicho sector tienen su fundamento en la explotación de los recursos que la tierra origina, favorecida por la acción del ser humano con el empleo de los plaguicidas para la obtención de alimentos: vegetales, cereales, frutas, hortalizas, pastos cultivados y forrajes; fibras utilizadas por la industria textil; cultivos energéticos y tubérculos, entre otros. Es importante mencionar de

forma independiente el cultivo de la flor, el cual, a diferencia de los otros, requiere de los plaguicidas a lo largo de todo su crecimiento.

Genotoxicidad en los agricultores

En espacio abierto, la exposición de los jornaleros que laboran en actividades agrícolas se da en distintos niveles, tanto para el que formula y hace mezclas como para el que las aplica. En espacios cerrados como invernaderos, el efecto de las moléculas es más prolongado debido a la humedad relativa alta y la temperatura, además es frecuente que los trabajadores de dichas actividades no respeten las instrucciones de aplicación de los plaguicidas y reingresen a las áreas asperjadas antes del tiempo recomendado, de esta manera los trabajadores se exponen a los plaguicidas a través diferentes vías (Arroyo *et al.* 1992).

En algunos estudios de biomonitorio citogenético por exposición ocupacional a plaguicidas los resultados indicaron inducción de AC (Paldy *et al.* 1987; Rupa *et al.* 1989; De Ferrari *et al.* 1991; Garj-Vrhovac y Zeljezic 2001, 2002; Sailija *et al.* 2006), de igual forma, mediante la utilización de ICH y MN se han encontrado diferencias significativas (Dulout *et al.* 1985; See *et al.* 1990), contrariamente a los hallazgos de Gómez Arroyo *et al.* (1992), quienes determinaron ICH en 94 jornaleros mexicanos expuestos a mezclas de plaguicidas organoclorados (OC), carbámicos, organofosforados (OF), triazinas y uréicos, en los cuales no se encontraron diferencias significativas. Este ha sido el único trabajo en jornaleros agrícolas realizado en México.

Usos de los plaguicidas en la floricultura

Se estima que la floricultura emplea un promedio de 16 personas por hectárea, mientras que el cultivo de café, la segunda actividad agrícola en densidad de personas por hectárea, emplea un promedio de 0.8 personas por hectárea. Para la producción de flores, se emplean diversos plaguicidas, principalmente insecticidas, fungicidas y acaricidas para contrarrestar las plagas que atacan mayor frecuencia al cultivo de flores, dentro de los que se encuentran las que se muestran en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Plagas que atacan con mayor frecuencia a las flores.

Actividad biológica	Plaga que controla	Especie
Acaricidas	Ácaros o arañas pequeñas	<i>Tetranychus urticae</i> y <i>Tetranychus cinabarinus</i> .
Fumigantes	desinfectantes del suelo	<i>Fusarium oxysporum</i> .
Fungicidas	Moho gris	<i>Botrytis cinérea</i> .
Fungicidas	Mancha foliar anillada	<i>Cladosporium echinulatum</i> .
Fungicidas	Mildeo veloso	<i>Peronospora sparsa</i> y <i>Erysiphe</i> spp.
Fungicidas	Royas	<i>Uromyces dianthi</i> y <i>Puccinia horiana</i> .
Fungicidas	Mildeo polvoso	<i>Sphaerotheca pannosa</i> .
Fungicidas	Hongos patógenos del suelo	<i>Pythium debaryanum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia</i> spp. y <i>Sclerotium rolfsi</i> .
Insecticidas	Pulgones o áfidos	<i>Macrosiphum rosae</i> , <i>Myzus persicae</i> y otros.
Insecticidas	Minadores	<i>Liriomyza trifolii</i> y <i>Liriomyza huidobrensis</i> .
Insecticidas	Mosca blanca	<i>Trialeurodes vaporariorum</i> y <i>Bemisia tabaci</i> .
Insecticidas	Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i> y <i>Trips tabaci</i> .

Fuente: Castillo-Cadena 2011.

Dentro de la gama de plaguicidas empleados en el cultivo de flores, y en relación a su estructura química, los más empleados son, en orden decreciente, el benzimidazol, seguido del triazol, los clorados, los piretroides, los OF, la fenilamina, los ditiocarbamatos, el imidazol, los carbámicos y por último la dicarboximida (SAC 2000).

Por otro lado, los plaguicidas empleados en la floricultura tienen diferentes niveles de toxicidad, entre los que se encuentran algunos que son alta y extremadamente tóxicos, es decir que corresponden a los niveles I y II de toxicidad, como son el Tamaron, Temik y Curacron. En la Tabla 5.2 se muestran los agroquímicos más usados en el cultivo de flores, así como su grado de toxicidad y clasificación química documentados en la zona hortiflorícola del Estado de México, como ejemplo de su uso en México.

Tabla 5.2. Agroquímicos más empleados por los floricultores en Villa Guerrero, Estado de México.

Actividad Biológica*	Nombre Comercial	Clasificación Química*	Toxicidad*
Fertilizantes	Agro-K	Óxidos	L
	Nitrofoska	Metales	L
Fungicidas	Alliette	Fosetil-Al	L
	Baycor	Bitertanol	L
	Bayfidan	Triadimenol	M
	Benlate	Carbamato	L
	Bravo 720	Organoclorado	L
	Captan	Dicaboximida	L
	Daconil	Clorotalonil	L
	Meltatox	Morfilinas	L
	Rally 40W	Myclobutanol	L
	Soprol	Triforine	L
	Tecto 60	---	L
	Zandofan	Oxadixil	M
	Zineb 80	Carbamato	L
Insecticidas	Agrimec	Abamectina	L
	Fluvalin	Fluvalinate	L
	Furadan	Carbamato	E
	Herald	Piretroide	A
	Lannate LV	Carbamato	A
	Nuvacron	Organofosforado	E
	Perfekthion	Carbamato	M
	Tolstar	Bifentrina	M
	Tamaron	Organofosforado	A
Temik	Carbamato	E	

*Clasificación de acuerdo con Moses (1992). **Fuente:** Castillo-Cadena 2011.

El proceso productivo de la flor requiere de varias actividades en las cuales se utilizan plaguicidas, éstos se aplican dos o tres veces por semana en actividades como la desinfección del suelo, en donde se emplean fumigantes; en la fertilización en donde se aplican los plaguicidas generalmente como mezclas; y antes del corte de la flor.

La floricultura, como se lleva a cabo generalmente en México, se realiza con el mínimo equipo de protección por parte de los trabajadores, entre los que participan hombres y mujeres, ancianos, adultos, jóvenes y niños. Esta actividad se caracteriza por el uso intensivo de agroquímicos, ya que se trata de un cultivo

permanente y de cosecha diaria. Los floricultores trabajan en promedio 8 horas diarias, a excepción del domingo, en el que sólo laboran el tiempo suficiente para realizar el corte y la fumigación. Emplean mezclas de plaguicidas cuyos componentes pertenecen a varias familias químicas, con actividades biológicas diferentes y grados variables de toxicidad. Estas mezclas se aplican cada tercer día y en ocasiones varios días seguidos para controlar diversas plagas (Castillo-Cadena 2011).

Daño genotóxico en floricultores de México

De los trabajos más relevantes en relación a la evaluación genotóxica en floricultores en México, utilizando como bioindicadores AC, ICH, IM, IR y EC podemos mencionar los siguientes:

Gómez-Arroyo *et al.* (2000) estudiaron a 30 floricultores expuestos mezclas de carbamatos, OC y OF. Realizaron cultivos de linfocitos y determinaron la frecuencia de ICH y MN. No encontraron diferencias significativas al comparar los resultados con 30 testigos.

Castillo-Cadena (1997) realizó cultivos de linfocitos de sangre periférica en dos muestras de la población de Villa Guerrero, Estado de México, la primera constituida por 66 floricultores y la segunda por 44 habitantes del mismo municipio con actividades distintas al cultivo de la flor. En ambos grupos se determinó el IM, la frecuencia de AC, de ICH y CPC. Se encontró que entre los floricultores y los no floricultores no hay diferencia significativa en el IM (5.24 *vs.* 4.401) y la frecuencia de AC (2.93 *vs.* 2.44), pero sí entre la frecuencia de ICH (7.09 *vs.* 6.141) y en el IR, no se encontró asociación con la antigüedad laboral, edad, sexo, ni con los hábitos de tabaquismo y alcoholismo.

Vargas-Maldonado (2008) determinó la frecuencia de AC, así como el cariotipo en 22 floricultores de Villa Guerrero, Estado de México y lo comparó con 21 individuos no expuestos ocupacionalmente. El cariotipo fue normal para todos. El tipo de AC encontradas en ambos grupos fueron: gap cromatídico y cromosómico, ruptura cromatídica y cromosómica, deleciones, fragmentos acéntricos, figuras radiales y dicéntricos. Las figuras radiales y dicéntricos sólo se presentaron en el grupo expuesto. Encontró diferencia significativa entre ambos grupos.

Castillo-Cadena *et al.* (2006) aplicaron el EC a tres grupos de individuos. El primero estuvo compuesto de floricultores de Villa Guerrero, México, el segundo por comerciantes del mercado local del mismo municipio, y el tercero

por trabajadores y estudiantes de la ciudad de Toluca. También evaluaron el IM en cultivo de linfocitos con y sin PHA. Se encontró un incremento en el IM en los cultivos de linfocitos del control al compararlo con el de los comerciantes, y control cuando la PHA fue adicionada $p < 0.05$. Sin embargo, las células no estimuladas de los floricultores mostraron una proporción mayor de proliferación cuando se comparó con la del control y comerciantes, $p < 0.05$. El daño al ADN fue mayor en los floricultores y diferente estadísticamente a los otros dos grupos ($p < 0.001$), lo que indica genotoxicidad. No se encontró correlación entre todos los biomarcadores determinados con respecto a las características personales.

Estudios en humanos laboral y ambientalmente expuestos

Esperma

Pocos estudios han reportado el papel de los plaguicidas en las alteraciones en la cromatina y el ADN del esperma. El estrés oxidante ha sido relacionado con su capacidad de daño. Las células espermáticas son muy sensibles al daño oxidante, el cual ha sido asociado con disfunciones reproductoras. El amplio uso de plaguicidas OF por hombres jóvenes, representa un problema de salud pública. Los OF alteran la calidad seminal, así como la cromatina y el ADN del esperma, en los diferentes etapas de la espermatogénesis. Salazar-Arredondo *et al.* (2008) evaluaron el daño al ADN de diferentes compuestos OF y sus derivados oxón (metil paratión, clorpirifos, clorpirifos-oxón, diazinón, diazoxón) en espermatozoides humanos y sugieren que los metabolitos oxón participan en la genotoxicidad espermática de los OF.

Se ha reportado multinucleación en espermatozoides y espermátidas en hombres infértiles crónicamente expuestos a carbofurán (Gallegos-Ávila *et al.* 2010). Piña-Guzmán *et al.* (2006) han evaluado los efectos del metil paratión sobre el ADN espermático, explorando las etapas sensibles de la espermatogénesis y la relación con el estrés oxidante. Se observaron correlaciones positivas entre la peroxidación lipídica y los daños al ADN espermático, lo que sugiere que el estrés oxidante está relacionado a las alteraciones inducidas por el metil paratión sobre la integridad del ADN espermático y que las células en meiosis y en maduración en el epidídimo son sus blancos, lo que implica un riesgo para la descendencia.

La exposición a plaguicidas OF incrementa la frecuencia de aneuploidías en esperma. Se ha estimado que 4 de cada 1000 recién nacidos vivos, y el 35% de abortos son aneuploides, y que una importante proporción de los embriones y recién nacidos aneuploides son de origen paterno. La exposición a OF puede interferir con la segregación cromosómica en el esperma e incrementar el riesgo

de síndromes genéticos como el de Turner. Se requiere de mayores estudios para evaluar la prevalencia de abortos espontáneos, defectos en el nacimiento y síndromes genéticos en las comunidades agrícolas (Recio *et al.* 2001).

Exposición prenatal

El feto humano está expuesto a una variedad de agentes ambientales como los plaguicidas, que atraviesan la placenta y pueden inducir daño al ADN. Levario-Carrillo *et al.* (2005) midieron la frecuencia de MN en células de cordón umbilical de tres grupos de recién nacidos saludables: 35 de ellos de madres que vivían en ciudades, 16 de un área agrícola y 15 recién nacidos de madres con embarazo de alto riesgo. La correlación entre la frecuencia de MN en madres y recién nacidos fue significativa. Una mayor frecuencia significativa de MN fue encontrada sólo en linfocitos de recién nacidos de embarazos de alto riesgo.

Niños

Ortiz-Pérez *et al.* (2005) evaluaron el daño al ADN en niños antes y 24 horas después de la fumigación en el interior de las casas con deltametrín y no encontraron diferencia significativa con el EC.

Consideraciones finales

Los daños citogenéticos en la población ocupacionalmente expuesta con base en los resultados obtenidos en México y en el mundo, empleando las AC, los ICH, los IM e IR, la frecuencia de MN y el EC como biomarcadores, indican que los individuos ocupacionalmente expuestos sí están siendo afectados por los agroquímicos con mayor propensión que los habitantes que se dedican a otras actividades. Sin embargo, hay discrepancias entre los resultados de diferentes estudios, ya que se deben considerar en ellos factores como la edad, el empleo de mezclas de plaguicidas, la antigüedad laboral, la forma y frecuencia de aplicación de los compuestos, así como sus características químicas y el biomarcador empleado para que éstos sean representativos, asunto que es bastante difícil de conciliar.

En México, el monitoreo citogenético de poblaciones expuestas es aún incipiente, en él se la utilización de todos los biomarcadores de genotoxicidad descritos principalmente en agricultores. Es necesario establecer más programas de investigación, los cuales se integren a los ya existentes para potencializar los recursos y las experiencias de cada uno, y de esta manera evaluar, prevenir y remediar, en su caso, los efectos que la exposición a los agroquímicos tienen sobre la salud humana, y del impacto que han tenido sobre el ecosistema, de tal forma que pueda seguirse explotando, pero de manera racional o controlada el recurso edafológico.

Referencias

- Bianchi N. (1978). Duplicación cromosómica y heterocromatina a nivel molecular y citológico. Serie de biología No. 19. Organización de los Estados Americanos. 19-24.
- Castillo-Cadena J. (1997). Determinación de posible daño genotóxico en floricultores de Villa Guerrero, Estado de México expuestos laboralmente a agroquímicos. Tesis de Maestría. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México. pp 63-68.
- Castillo-Cadena J. (2005). Análisis genotóxico, inmunotóxico y de los polimorfismos de la glutatión S-transferasa en floricultores expuestos a plaguicidas. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. pp 13-28.
- Castillo-Cadena J., Tenorio-Vieyra L.E., Quintana-Carabia A.I., Garcia-Fabila M.M. , Ramirez-San J.E., Madrigal-Bujaidar E. (2006). Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixture of pesticides. *J. of Biomedicine and Biotechnology*. 2006:1-12.
- Castillo-Cadena J. (2011). Plaguicidas, un acercamiento sobre sus usos y efectos en floricultores. Primera edición. Editorial Académica Española. España. 98 pp.
- De Ferrari M., Artuso M., Bonassi S., Bonatti S., Cavalieri Z., Pescatore D., Marchini E., Pisano V., Abbondandolo A. (1991). Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research*. 260:105-113.
- Dulout F.N., Pastori M.C., Olivero O.A. (1985). Sister chromatid exchange and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutation Research*. 143:237-244.
- Gallegos-Ávila G., Ancer-Rodríguez J., Niderhauser-García A., Ortega-Martínez M., Jaramillo-Rangel G. (2010). Multinucleation of spermatozoa and spermatids in infertile men chronically exposed to carbofuran. *Reproductive Toxicology*. 29(4):458-60.
- Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. (2000). Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay pesticides genotoxicity revealed by comet assay. *Mutation Research*. 469:279-285.

- Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N., Osorio A. (1992). Sister chromatid exchange analysis in a rural population of Mexico exposed to pesticides. *Mutation Research*. 281:173-179.
- Gómez-Arroyo S., Díaz-Sánchez Y., Meneses-Pérez M.A., Villalobos-Prietrini R., De León-Rodríguez J. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutation Research*. 466:117-124.
- Gonsebatt M.E., Herrera L.A., Ostrosky-Wegman P. (1994). Lymphocyte proliferation as a biomarker in environmental monitoring: label, mitotic and replication indices as biomarkers in environmental monitoring. *En: Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change. A Handbook*. Plenum Press. pp 81-94.
- ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature). (1985). *Cytogenetics and Cell Genetics* and Karger. Suiza. 66-76.
- “La exposición laboral a productos tóxicos, un problema sin resolver”. (2001). <http://www.dicat.csic.es/rdcsic/rdcscisp/rdqu7esp.htm>. Consultado febrero 2012.
- Levario-Carrillo M., Sordo M., Rocha F., González-Horta C., Amato D., Ostrosky-Wegman P. (2005). Micronucleus frequency in human umbilical cord lymphocytes. *Mutation Research*. 586(1):68-75.
- Lyne T.B., Bickham J.W., Lamb T., Gibbons J.W. (1992). The application of bioassays in risk assesment of environmental pollution. *Risk Analysis* 12:25-32.
- Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 23(4):185-200.
- Moses M.C. (1992). Cosecha dolorosa. *Campesinos y pesticidas, parte II. Mezcladores, Cargadores y Aplicadores*. Pesticide Education Center, E.U.A. pp 30-51.
- Møller P., Knudsen L.E., Loft S., Wallin H. (2000). The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 9:1005-1015.
- OMS (Organización Mundial de la Salud) (1993). Environmental health hriteria 155. *En: Biomarkers and risk. Assessment: concepts and principle*. Génova. pp 14-19.
- Ortiz-Pérez M.D., Torres-Dosal A., Batres L.B., López-Guzmán O.D., Grimaldo M.I.C., Carranza C., Pérez-Maldonado I.N., Flavio-Martínez F., Pérez-Urizar J., Díaz-Barriga F. (2005). Environmental health assessment of

- deltamethrin in a malarious area of Mexico: environmental persistence, toxicokinetics, and genotoxicity in exposed children. *Environmental Health Perspectives*. 113(6):782-786.
- Ostrosky W.P. (1994). El índice mitótico y la cinética de proliferación linfocitaria en el monitoreo biológico. *Gaceta Médica de México*. 130:432-437.
- Páldy A., Puskás N., Vincze K., Hadházi M. (1987). Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutation Research*. 187:127-132.
- Perry P., Wolff S. (1974). New giemsa method for the differential staining of sister-chromatids. *Nature*. 251:156-158.
- Piña-Guzmán B., Solís-Heredia M.J., Rojas-García A.E., Urióstegi-Acosta M., Quintanilla-Vega B. (2006). Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is related to oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 216:216-224.
- Primo E., Carrasco J.M. (1996) *Química Agrícola II. Plaguicidas y fitoreguladores*. Editorial Alhambra. Madrid, España. pp 25.
- Recio R., Robbins W.A., Borja-Aburto V., Morán-Martínez J., Froines J.R., Hernández R.M., Cebrián M.E. (2001). Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environmental Health Perspectives*. 109(12):1237-40.
- Rupa D.S., Reddy P.P., Reddi O.S. (1989). Analysis of sister-chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticides sprayer. *Mutation Research*. 223:253-258.
- SAC (Sociedad de Agricultores de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente). (2000). Descripción del proceso productivo. *En: guía ambiental para la floricultura*. República de Colombia. pp 35-38.
- Salazar-Arredondo E., Solís-Heredia M.J., Rojas-García E., Hernández-Ochoa I., Quintanilla-Vega B. (2008). Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology*. 25:455-460.
- Sailaja N., Chandrasekhar M., Rekhadevi P.V., Mahboob M., Rahman M.F., Vuyyuri S.B., Danadevi K., Hussain S.A., Grover P. (2006). Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutation Research*. 10:609(1):74-80.
- See H.R., Dunn P.B., San H.C.R. (1990). Clastogenic activity in urine of workers occupationally exposed to pesticides. *Mutation Research*. 241:251-259.
- Vargas-Maldonado E.M. (2008). Frecuencia de aberraciones cromosómicas en individuos cromosómicamente normales expuestos ocupacionalmente a

agroquímicos. Tesis QFB. Facultad de Química, UAEM. Toluca, Estado de México.

Tice R.R. (1995). The single cell gel/comet assay: a microgel electrophoresis technique for the detection of DNA damage and repair in individual cells. Phillips D.H. Venitt S. Eds. Bios Scientific Publishers Oxford. United Kingdom.

Vega S.G. (1985). Toxicología V: Genotoxicidad y daño al sistema reproductor. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, México. pp 1-5.

Zalacain M., Sierrasesúmaga L., Patiño A. (2005). The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents. <http://dx.doi.org/10.4321/S1137-66272005000300007>.

CAPÍTULO 6

GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS: DAÑOS A LA SALUD

Juana Sánchez-Alarcón¹, Rafael Valencia-Quintana¹, Julieta Castillo-Cadena² y
José Luis Gómez-Olivares³

Introducción

En México al igual que en otros países, los plaguicidas son utilizados sin las medidas de seguridad adecuadas, situación que puede generar problemas de salud. Rachel Carson advirtió de los peligros de los plaguicidas, sin embargo, los avisos no fueron bien acogidos. Hoy en día estamos expuestos a este tipo de sustancias de manera cotidiana pues se han encontrado en alimentos e incluso en la sangre, leche, músculos y grasa, no sólo de animales, sino también de seres humanos, así como en las diferentes matrices ambientales (agua, aire, suelo). Algunas personas en virtud de su tipo de actividad económica se exponen laboralmente a los plaguicidas.

Existen evidencias científicas de que los plaguicidas pueden alterar el funcionamiento del ser humano a diferentes niveles (Payán-Rentería *et al.* 2012). Son diversos los organismos y los marcadores de daño empleados en la evaluación de los daños causados por los plaguicidas, aunque lo que más nos importa son los efectos sobre la salud humana.

El uso de plaguicidas en México es amplio, por lo cual existe un gran riesgo de repercusiones a la salud por la exposición a estos compuestos. Se cuenta con algunas evidencias de daños a la salud especialmente relacionadas con el área reproductora y más recientemente de daños a nivel celular, así como de alteraciones en el desarrollo psicomotor de niños expuestos durante la gestación. Sin embargo, que aún existen muchos huecos en el conocimiento concernientes a otros efectos adversos en la salud relacionados con los compuestos parentales así como con su metabolitos.

Los plaguicidas pueden tener diferentes blancos que impactan en la salud de los organismos expuestos, entre estos efectos podemos citar los trastornos

¹ Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Calle del Bosque s/n, col. Centro, Tlaxcala. C.P. 90000.

² Laboratorio de Genética, Facultad de Química Universidad, Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Tllocan s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

³ División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. San Rafael Atlixco No. 186, col. Vicentina, Iztapalapa, México C.P. 09340.

neurológicos, reproductivos, dermatológicos, oftalmológicos, respiratorios, hepáticos, inmunológicos, mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos. El propósito de este capítulo es centrarse en los últimos tres efectos, haciendo una revisión de los estudios realizados en México que los involucran.

Efectos genotóxicos por plaguicidas: mutagénesis, carcinogénesis teratogénesis

Muchos de los efectos mutagénicos de los plaguicidas pueden ser traducidos en efectos carcinogénicos y teratogénicos. Sin embargo, es difícil probar en humanos una relación causal entre un plaguicida específico y un tipo de cáncer o algún efecto teratogénico en particular. Pero como se mostrará más adelante, existen diversos estudios epidemiológicos en agricultores y en algunos de ellos se ha reportado una correlación positiva, por lo que a nivel mundial y particularmente en México, falta mucho por hacer en esta área.

En el caso del cáncer, se ha determinado que la mayoría de ellos son causados por factores relacionados con hábitos de vida y otros factores ambientales. El cáncer de mama es uno de los problemas de salud más importantes, no solo en México sino en el mundo y va en aumento. Así también, otros tipos de cáncer que han sido relacionados con la exposición a plaguicidas son: el linfoma, el linfoma no-Hodgkin, el mieloma múltiple, los sarcoma de tejidos blandos, el sarcoma de Ewing, la leucemia mieloide, los tumores cerebrales, el retinoblastoma, el cáncer en órganos de los tractos gastrointestinal, respiratorio, reproductor y urinario, entre otros.

Algunos plaguicidas producen daño al simular o bloquear las hormonas sexuales, es decir, pueden ser disruptores endócrinos, lo que puede tener consecuencias en el sistema reproductor en desarrollo. En el caso de las mujeres, la pubertad se presenta a edades más tempranas, presentan endometriosis e incremento en la incidencia de ciertos tipos de cáncer como vagina, cuello uterino y de mama, entre otros.

En relación a los efectos reproductivos, si bien el efecto teratogénico potencial de las exposiciones parentales representa una preocupación, se han observado otro tipo de efectos, como la esterilidad, alteraciones del esperma, la muerte fetal y los abortos espontáneos, nacimientos prematuros, bajo crecimiento intrauterino, así como paladar hendido, defectos en el tubo neural y retraso del embarazo, entre otros (Figura 6.1).

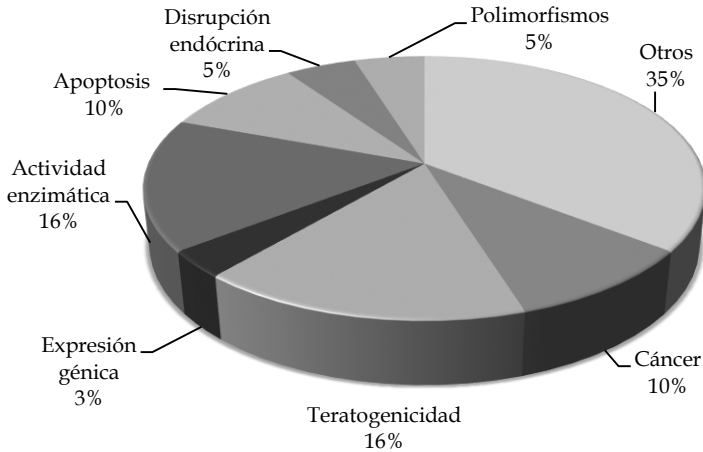


Figura 6.1. Aspectos abordados en diversos estudios en México que asocian efectos en la salud con las propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas de los plaguicidas.

Biomarcadores de daño y su relación con la exposición a plaguicidas

Se ha sugerido que los aumentos en los índices de infertilidad, abortos espontáneos y embarazos anormales pueden estar asociados a los efectos adversos de los plaguicidas, pero se desconoce en qué medida la exposición ambiental u ocupacional contribuyen a ello. La manifestación de los efectos de los plaguicidas a este nivel puede incluir: alteraciones en la conducta sexual, tiempo de inicio de la pubertad, fertilidad, embarazo, alteraciones de la integridad del sistema reproductivo. Se ha sugerido que la exposición ocupacional a plaguicidas se asocia con una pobre calidad espermática y un mayor riesgo de infertilidad masculina, criptorquidia e hipospadias en recién nacidos. El cáncer testicular y otras alteraciones funcionales también se han incrementado. En mujeres se han relacionado alteraciones ovulatorias y en las trompas de Falopio, así como partos prematuros o abortos debido a la exposición a plaguicidas (Cebrian 1998).

Estudios en animales

Como se mencionó anteriormente son pocos los estudios que se han desarrollado en México en relación a estos factores mutagénicos ligados con la carcinogénesis y la teratogénesis. Han sido realizados 22 estudios con animales que van desde invertebrados hasta mamíferos tales como: camarones, peces, anfibios, roedores y cerdos, para evaluar diferentes efectos (Figura 6.2).

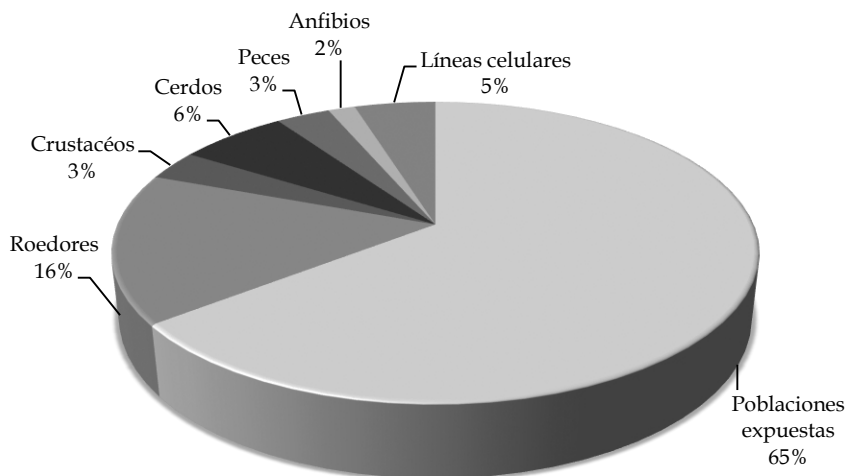


Figura 6.2. Bioensayos aplicados en México para el estudio de los efectos en la salud relacionados con las propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas de plaguicidas en México.

En camarón blanco se ha determinado reducción en las tasas de crecimiento (Castro-Castro *et al.* 2005) y se han inducido deformaciones morfológicas como consecuencia de la exposición a plaguicidas (Betancourt *et al.* 2006a).

Arellano-Aguilar y Macías-García (2009), evalúan las consecuencias de la exposición a metil paratión durante el desarrollo del pez amarillo (*Girardinichthys multiradiatus*). Los peces exhiben una reducción significativa en el peso así como en su tasa de crecimiento. De igual manera su descendencia presenta un incremento en las malformaciones espinales y una reducción en la supervivencia.

Otro organismo que ha sido utilizado es el ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*), en donde Robles Mendoza *et al.* (2009) evaluaron la toxicidad de clorpirifós y malatión sobre larvas y embriones. El estudio permitió identificar el potencial toxicológico de plaguicidas organofosforados (OF) en las primeras etapas del desarrollo del *A. mexicanum*.

Estudios en mamíferos mostraron que las placentas de ratas hembra expuestas a plaguicidas, presentan cambios severos (Levario-Carrillo *et al.* 2004a; González García *et al.* 2008). Las células germinales de cerdo, tanto femeninas como masculinas, se han visto afectadas en su viabilidad y maduración por efecto de la exposición a plaguicidas como el malatión, el fenoxaprop-etilo, el diazinón y la atrazina (Casas *et al.* 2010); también se produce un retraso en la movilidad y

eventualmente la muerte celular (Betancourt *et al.* 2006b); así como alteraciones en la fertilización *in vitro* y en el desarrollo embrionario (Ducolomb *et al.* 2009). Los mismos plaguicidas han sido evaluados en ovocitos de ratón, los resultados proveen evidencia de que los plaguicidas son tóxicos durante el comienzo de la ovogénesis (Bonilla *et al.* 2008). Por el contrario, en machos son alteradas las últimas etapas de la maduración por el diazinón (Piña-Guzmán *et al.* 2005) y por el metilparatión (Piña-Guzmán *et al.* 2009)

Efectos en poblaciones expuestas

Son diversas las actividades en las que el hombre puede estar expuesto a los plaguicidas y de igual manera son diversos los marcadores que han sido empleados para evidenciar la exposición, el daño y la susceptibilidad de estas poblaciones en México. En todos estos estudios se han estructurado cuestionarios para obtener información sobre las características socioeconómicas y otras variables de las poblaciones estudiadas, como antropometría, historia clínica, consumo de alcohol y tabaco, exposición química residencial e historia laboral entre otras.

Se han descrito los patrones de sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas OF y es necesario estudiar la prevalencia de esta sintomatología en poblaciones expuestas y no expuestas (Chaín-Castro *et al.* 1998; Palacios-Nava *et al.* 1999).

Efectos reproductores

En los últimos años los trastornos en los órganos reproductores han sido más frecuentes, y la infertilidad parece ir en aumento, así como el cáncer testicular, la criptorquidia y otros efectos en el ser humano.

Daños en células germinales

La exposición de las células germinales paternas a plaguicidas OF ha sido asociada con alteraciones en la reproducción y efectos adversos en la descendencia. Diversos estudios han sugerido que la calidad del semen humano ha declinado en las últimas décadas y algunos de éstos lo asocian con la exposición ocupacional a plaguicidas (Recio-Vega *et al.* 2001, 2005; Sánchez-Peña *et al.* 2004)

Exposición prenatal

Se sabe que los plaguicidas atraviesan la barrera placentaria y de igual manera pueden causar alteraciones en el desarrollo de las estructuras de la misma, que pueden incidir en la reproducción. En el estudio realizado por Acosta Maldonado *et al.* (2009), encontraron que existe una relación entre la exposición prenatal a plaguicidas y la madurez de la placenta y puede potencialmente afectar el transporte de nutrientes de la madre al feto. Se encontró una asociación positiva entre la exposición a plaguicidas y el retraso en el crecimiento uterino (Levario-Carrillo *et al.* 2004b). Por su parte, Torres-Arreola *et al.* (2003), encuentran una la asociación positiva de los niveles séricos de DDE, beta-HCH y HCB con la interrupción del embarazo.

Sin embargo, otros estudios han sido contradictorios al no encontrar una asociación entre la exposición a DDE y estos marcadores (Cupul-Uicab *et al.* 2010). Asimismo, Salazar-García *et al.* (2004), no encontraron una asociación positiva entre los niveles de exposición y el incremento de riesgos de alteraciones en el nacimiento en trabajadores de campañas sanitarias.

Efectos teratogénicos

Se ha valorado la asociación entre la exposición a plaguicidas y las malformaciones congénitas. Medina-Carrillo *et al.* (2002) evaluaron recién nacidos con malformaciones congénitas del sistema nervioso central, de la cara, de los genitales, de la cadera, del pie o de los dedos. En este estudio reportaron que el riesgo fue más alto en las madres que tenían exposición ocupacional a plaguicidas y en madres que vivían cerca de áreas bajo tratamiento con este tipo de compuestos. El aborto y el parto prematuro fueron significativos. En general este estudio expone la asociación entre la exposición a plaguicidas y las malformaciones congénitas.

Entre los años 1999 a 2001 se identificó y se determinó la etiología de las malformaciones congénitas de todos los recién nacidos en el Hospital General de Tenancingo (HG) (municipio eminentemente florícola), y se compararon con las del Hospital de Gineco-Obstetricia de Toluca (HGO), ambos municipios del Estado de México. Se encontró que, en Toluca, un 21% de los recién nacidos tenían malformaciones, contra un 5.6% en Tenancingo, siendo las de etiología multifactorial la más frecuente en ambos, enfatizando un mayor porcentajes en el HG de Tenancingo 72.78%, contra un 47% en el HGO de Toluca (Soteno 1999; González 1999; Pérez 2000; Arizmendi 2002; Villanueva 2004).

Otras alteraciones del desarrollo que han sido asociadas a los plaguicidas son: la espina bífida (González-Herrera *et al.* 2010), la anencefalia (Lacasaña *et al.* 2006), la mortalidad debida a defectos del tubo neural (Ramírez-Espitia *et al.* 2003), el criptorquidismo (Bustamante-Montes *et al.* 2010), las hipospadias (Flores-Luevano *et al.* 2003), y el labio leporino (González *et al.* 2008), también se ha evaluado la distancia ano-genital como un probable biomarcador (Longneker *et al.* 2007; Torres-Sánchez *et al.* 2008).

Cáncer

Uno de los padecimientos más comúnmente investigados sobre los efectos en la salud por algún compuesto es el cáncer. La identificación de un mecanismo causal del cáncer es frecuentemente problemático debido a múltiples exposiciones y a los largos periodos de latencia.

La posible relación entre la exposición a plaguicidas y el cáncer existe. El cáncer de mama es una de las enfermedades más importantes de la mujer. En México ocupa el segundo lugar como causa de muerte. Se considera que algunos de estos casos son dependientes de hormonas, siendo los estrógenos los más importantes, ya que juegan un papel crucial en todas las etapas del desarrollo del cáncer. De los seis estudios encontrados, 5 se refieren a cáncer de seno y uno a leucemia.

Hernández-Morales *et al.* (2009) han propuesto que el uso doméstico de plaguicidas, tres meses antes del embarazo, puede jugar un papel en la etiología de leucemias agudas en infantes.

La relación entre la exposición a DDT y el cáncer de seno, ha recibido mayor atención desde el comienzo de la década de 1990. Sin embargo, resultados encontrados por López Cervantes *et al.* (2004) descartan la posibilidad de la relación entre p,p'-DDE y el riesgo de cáncer de seno. De igual manera, Romieu *et al.* (2000) y López Carrillo *et al.* (1997, 2002), no encontraron sustento para relacionar la exposición al DDT y sus metabolitos, así como a β -HCH, HCB o PCB, con cáncer de seno respectivamente.

Otros efectos de plaguicidas con riesgos potenciales en la salud

Existen evidencias de que los plaguicidas son inductores de oxidasas de función múltiple dependientes del CYP450 del sistema hepático de oxidasas. Por lo tanto, es posible que la exposición pueda modificar el balance hormonal en el organismo. Se ha observado la inducción de diversos citocromos entre los cuales

se encuentran el CYP2B1, 2B2, 3A1 y 3A2, todos ellos involucrados en el metabolismo de hormonas, observándose una dependencia del género en la inducción (Cebrian 1998).

Actividades enzimáticas

Estudios sobre la inducción enzimática de los plaguicidas se han llevado a cabo en ratas, observando incrementos de la actividad de los CYP450 (Sierra-Santoyo *et al.* 2000), del CYP2B (Albores *et al.* 2001) de los CYP1A, 2B, 2C, 2E y 3a (Oropeza Hernández *et al.* 2003), así como del CYP3A4 (Medina-Díaz y Elizondo 2005; Medina-Díaz *et al.* 2007).

Otros estudios han evaluado la presencia de polimorfismos en algunos citocromos como: CYP2E1 (Yerena *et al.* 2005) y CYP1A2*1F (Sánchez-Guerra *et al.* 2007), en los cuales se ha reportado que la portación de algunas de las isoformas dan mayor susceptibilidad al riesgo por exposición a plaguicidas.

La baja actividad de paraoxonasa-1 (PON1) ha sido asociada con una mayor sensibilidad a estos plaguicidas (Rojas-García *et al.* 2005 López-Flores 2009). Lacasaña *et al.* (2010a), encuentran una fuerte asociación entre los plaguicidas OF y las alteraciones en la función tiroidea en individuos con baja actividad PON1. Pérez Herrera *et al.* (2008) han reportado que los agricultores portadores del genotipo 192RR fueron más susceptibles a desarrollar efectos reproductivos tóxicos por la exposición a OF.

Por su parte Castillo Cadena *et al.* (2007) reportaron alteraciones de la expresión de la GST T1 en individuos expuestos. Medina Díaz *et al.* (2011) demuestran que plaguicidas OF pueden inducir la expresión de GST A1 en células HepG2.

Disruptores endócrinos

Estudios experimentales en animales han encontrado que los plaguicidas OF pueden actuar como disruptores endócrinos, sin embargo sus efectos sobre los perfiles hormonales humanos aún no han sido caracterizados adecuadamente. Blanco Muñoz *et al.* (2010) evaluaron la asociación entre la exposición a plaguicidas OF y el perfil hormonal. Los resultados sugieren que los plaguicidas OF pueden actuar como disruptores endócrinos en humanos. Resultados similares fueron obtenidos por Lacasaña *et al.* (2010b) con hormonas tiroideas en floricultores, encontrando un incremento en los niveles de hormonas tiroideas.

Recio Vega *et al.* (2005) evaluaron la asociación entre la exposición a OF y los niveles de hormonas sexuales y pituitarias. Encontraron una disrupción hormonal en trabajadores agrícolas lo que sugiere que la exposición a OF interfiere con la función endócrina del hipotálamo-pituitaria y que las hormonas más afectadas fueron la FSH y la LH.

Apoptosis

Se ha reportado que los plaguicidas tienen el potencial de inducir apoptosis por el DDE en sangre periférica (Alegría-Torres *et al.* 2009). Por su parte, Pérez Maldonado *et al.* (2005) han demostrado que la inducción de apoptosis por estos compuestos en el mismo sistema de prueba es precedida por un incremento en los niveles de especies reactivas al oxígeno (ROS).

En niños expuestos, una ligera asociación positiva fue encontrada entre la frecuencia de apoptosis y la exposición a plaguicidas (Pérez-Maldonado *et al.* 2004). Sin embargo el mismo grupo de investigación, en otros estudios, ha reportado resultados contradictorios (Pérez-Maldonado *et al.* 2006, 2011).

Este marcador también ha sido evaluado en la tilapia del Nilo en donde se observó disminución de la actividad apoptótica en estos organismos (Téllez-Bañuelos 2009).

Expresión génica

Este tipo de estudios solo se ha desarrollado en animales. Romero Navarro *et al.* (2006) encontraron que los diclorvos tienen el potencial de afectar la actividad y la expresión génica de las glucocinasa pancreática y hepática de la rata.

El efecto hepatotóxico de la cipermetrina y la expresión de genes hepáticos en ratas después de la exposición a la cipermetrina. Las ratas tratadas presentan un decremento significativo en la expresión de los genes de albumina y apo E. Por el contrario, los niveles de los ARNm de ApoA-1 y ApoB incrementaron (Aldana *et al.* 1998).

En embriones de cerdo expuestos a malatión también se ha observado la desregulación de la expresión génica con probables implicaciones reproductivas (Salazar *et al.* 2007).

Consideraciones finales

Los estudios en México relacionados con la salud y los efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos de los plaguicidas son limitados. Será necesario incrementar el número de investigaciones en esta área que evidencien los riesgos potenciales que implica la exposición a este tipo de sustancias de amplio uso en nuestro país.

Son muchas las limitaciones y factores que se tienen que considerar, sobre todo en los estudios epidemiológicos en donde el tamaño de muestra es un factor crítico para poder llegar a conclusiones adecuadas. Existe la necesidad de desarrollar bases de datos sistemáticos y representativos sobre la contaminación de plaguicidas en alimentos y otras matrices ambientales como una fuente potencial de ingreso de éstos al cuerpo humano.

Deberemos hacernos más preguntas e incorporar las nuevas metodologías para evaluar el impacto en la salud que tiene la exposición ambiental u ocupacional a los plaguicidas a diferentes niveles y enfocarnos en los grupos de mayor vulnerabilidad.

Referencias

- Acosta-Maldonado B., Sánchez-Ramírez B., Reza-López S., Levario-Carrillo M. (2009). Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns: a cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Human & Experimental Toxicology*. 28(8):451-9.
- Albores A., Ortega-Mantilla G., Sierra-Sanntoyo A., Cebrian M.E., Muñoz-Sánchez J.L., Calderón-Salinas J.V., Manno M. (2001). Cytochrome P450 2B (CYP2B)-mediated activation of methyl-parathion in rat brain extracts. *Toxicology Letters*. 124:1-10.
- Aldana L., González de Mejía E., Craigmill A., Tsutsumi V., Armendariz-Borunda J., Panduro A., Rincón A.R. (1998). Cypermethrin increases apo A-1 and apo B mRNA but not hyperlipidemia in rats. *Toxicology Letters*. 16; 95(1):31-9.
- Alegría-Torres J.A., Díaz-Barriga F., Gandolfi A.J., Pérez-Maldonado I.N. (2009). Mechanisms of p,p'-DDE-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. *Toxicology in Vitro*. 23(6):1000-6.

- Arellano-Aguilar O., Macías García C. (2009). Effects of methyl parathion exposure on development and reproduction in the viviparous fish *Girardinichthys multiradiatus*. *Environmental Toxicology*. 24(2):178-86.
- Arizmendi-Arizmendi A.L. (2002). Determinación de la etiología de las malformaciones congénitas en recién nacido del hospital General de Tenancingo. Tesis de Licenciatura QFB. Facultad de Química, UAEM, Toluca, Estado de México.
- Betancourt-Lozano M., Baird D.J., Sangha R.S., González-Farías F. (2006a). Induction of morphological deformities and moulting alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles exposed to the triazole-derivative fungicide tilt. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 51:69-78.
- Betancourt M., Reséndiz A., Fierro E.C. (2006b). Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) in vitro. *Reproductive Toxicology*. 22(3):508-12.
- Blanco-Muñoz J., Morales M.M., Lacasaña M., Aguilar-Garduño C., Bassol S., Cebrián M.E. (2010). Exposure to organophosphate pesticides and male hormone profile in floriculturist of the state of Morelos, México. *Human Reproduction*. 25(7):1787-95.
- Bonilla E., Hernández F., Cortés L., Mendoza M., Mejía J., Carrillo E., Casas E., Betancourt M. (2008). Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. *Environmental Toxicology*. 23(2):240-5.
- Bustamante-Montes L.P., Waliszewski S., Hernández-Valero M., Sanín-Aguirre L., Infanzón-Ruiz R.M., Jañas A.G. (2010). Exposición prenatal a los plaguicidas organoclorados y criptorquidia. *Ciência & Saúde Coletiva*. 15 Supl. 1:1169-74.
- Casas E., Bonilla E., Ducolomb Y., Betancourt M. (2010). Differential effects of herbicides atrazine and fenoxaprop-ethyl, and insecticides diazinon and malathion, on viability and maturation of porcine oocytes in vitro. *Toxicology in Vitro*. 24(1):224-30.
- Castillo-Cadena J., Contreras-Gómez S., Poblano-Bata R., Posadas-González R., Ramírez-García J.J. (2007). Actividad de la enzima glutatión S-transferasa T1 en floricultores expuestos a plaguicidas. *Bioquímica*. 32 Supl. A:138.
- Castro-Castro V., Siu-Rodas Y., González-Huerta L.V., Sokolov M.Y. (2005). Toxic effect of DDT and endosulfan in white shrimp postlarvae

- Litopenaeus vannamei (Decapoda: Penaeidae) from Chiapas, Mexico. *Revista de Biología Tropical*. 53(1-2):141-51.
- Cebrian M.E. (1998). Efectos de los plaguicidas sobre la función reproductiva humana: una asignatura pendiente. *Avance y Perspectiva*. 17:205-213.
- Chain-Castro T.J., Barrón-Aragón R., Haro-García L. (1998). Pesticide poisoning in Mexican seasonal farm workers. *International Journal of Occupational and Environmental Health*. 4(3):202-3.
- Cupul-Uicab L.A., Hernández-Ávila M., Terrazas-Medina E.A., Pennell M.L., Longnecker M.P. (2010). Prenatal exposure to the major DDT metabolite 1, 1-dichloro-2, 2-bis (p-chlorophenyl) ethylene (DDE) and growth in boys from Mexico. *Environmental Research*. 110(6):595-603.
- Ducolomb Y., Casas E., Valdez A., González G., Altamirano-Lozano M., Betancourt M. (2009). In vitro effect of malathion and diazinon on oocytes fertilization and embryo development in porcine. *Cell Biology and Toxicology*. 25(6):623-33.
- Flores-Luévano S., Farías P., Hernández M., Romano-Riquer P., Weber J.P., Dewailly E., Cuevas-Alpuche J., Romieu I. (2003). DDT/DDE concentrations and risk of hypospadias. Pilot case-control study. *Salud Pública México*. 45(6):431-8.
- González A.A. (1999). Registro de malformaciones congénitas según etiología en recién nacidos del Hospital de Gineco Obstetricia del DIF de Toluca. Tesis de Licenciatura QFB. Facultad de Química, UAEM, Toluca, Estado de México.
- González B.S., López M.L., Rico M.A., Garduño F. (2008). Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the State of Mexico. *Journal of Oral Science*. 50(2):123-9.
- González-García B., Olave M.E., Ramos-Martínez E., González-Horta C., Levario-Carrillo M., Sánchez-Ramírez B. (2008). Decrease of muscarinic cholinergic receptors expression in placenta from rats exposed to methyl parathion. *Human & Experimental Toxicology*. 27(3):241-6.
- González-Herrera L., Martín Cerda-Flores R., Luna-Rivero M., Canto-Herrera J., Pinto-Escalante D., Pérez-Herrera N., Quintanilla-Vega B. (2010). Paraoxonase 1 polymorphisms and haplotypes and the risk for having offspring affected with spina bifida in Southeast Mexico. *Birth Defects Research Part. A: Clinical and Molecular Teratology*. 11:987-94.
- Hernández-Morales A.L., Zonana-Nacach A., Zaragoza-Sandoval V.M. (2009). Associated risk factors in acute leukemia in children. A cases and controls study. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Social*. 47(5):497-503.

- Lacasaña M., Vázquez-Grameix H., Borja-Aburto V.H., Blanco-Muñoz J., Romieu I., Aguilar-Garduño C., García A.M. (2006). Maternal and paternal occupational exposure to agricultural work and the risk of anencephaly. *Occupational and Environmental Medicine*. 63(10):649-56.
- Lacasaña M., López-Flores I., Rodríguez-Barranco M., Aguilar-Garduño C., Blanco-Muñoz J., Pérez-Méndez O., Gamboa R., Gonzalez-Alzaga B., Bassol S., Cebrian M.E. (2010a). Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 249(1):16-24.
- Lacasaña M., López-Flores I., Rodríguez-Barranco M., Aguilar-Garduño C., Blanco-Muñoz J., Pérez-Méndez O., Gamboa R., Bassol S., Cebrian M.E. (2010b). Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 243(1):19-26.
- Levario-Carrillo M., Olave M.E., Corral D.C., Alderete J.G., Gagiotti S.M., Bevilacqua E. (2004a). Placental morphology of rats prenatally exposed to methyl parathion. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 55(6):489-96.
- Levario-Carrillo M., Amato D., Ostrosky-Wegman P., González-Horta C., Corona Y., Sanin L.H. (2004b). Relation between pesticide exposure and intrauterine growth retardation. *Chemosphere*. 55(10):1421-7.
- Longnecker M.P., Gladen B.C., Cupul-Ulicab L.A., Romano-Riquer S.P., Weber J.Ph., Chapin R.E., Hernández-Ávila M. (2007). In utero exposure to the antiandrogen 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) in relation to anogenital distance in male newborns from Chiapas, México. *American Journal of Epidemiology*. 165 (9): 1015-1022.
- López-Carrillo L., Blair A., López-Cervantes M., Cebrián M., Rueda C., Reyes R., Mohar A., Bravo J. (1997). Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Research*. 1; 57(17):3728-32.
- López-Carrillo L., López-Cervantes M., Torres-Sánchez L., Blair A., Cebrián M.E., García R.M. (2002). Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. *European Journal of Cancer Prevention*. 11(2):129-35.
- López-Cervantes M., Torres-Sánchez L., Tobías A., López-Carrillo L. (2004). Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environmental Health Perspectives*. 112(2):207-14.

- López-Flores I., Lacasaña M., Blanco-Muñoz J., Aguilar-Garduño C., Sánchez-Villegas P., Pérez-Méndez O.A., Gamboa-Ávila R. (2009). Relationship between human paraoxonase-1 activity and PON1 polymorphisms in Mexican workers exposed to organophosphate pesticides. *Toxicology Letters*. 24; 188(2):84-90.
- Medina-Carrillo L., Rivas Solís F., Fernández-Arguelles R. (2002). Risk for congenital malformations in pregnant women exposed to pesticides in the state of Nayarit, Mexico. *Ginecol. Obstet. Mex.* 70:538-44.
- Medina-Díaz I.M., Elizondo G. (2005). Transcriptional induction of CYP3A4 by o,p'-DDT in HepG2 cells. *Toxicology Letters*. 157:41-47.
- Medina-Díaz I.M., Arteaga-Illán G., Bermudes de León M., Cisneros B., Sierra-Santoyo A., Vega L., González F.J., Elizondo G. (2007). Pregnane X receptor-dependent induction of the CYP3A4 gene by o, p'-1, 1, 1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl ethane). *Drug Metabolism Disposition*. 35:95-102.
- Medina-Díaz I.M., Rubio-Ortiz M., Martínez-Guzmán M.C., Dávalos-Ibarra R.L., Rojas-García A.E., Robledo-Marengo M.L., Barrón-Vivanco B.S., Girón-Pérez M.I., Elizondo G. (2011). Organophosphate pesticides increase the expression of alpha glutathione S-transferase in HepG2 cells. *Toxicology in Vitro*. 25(8):2074-9.
- Oropeza-Hernández L.F., López-Romero R., Albores A. (2003). Hepatic CYP1A, 2B, 2C, 2E y 3a regulation by methoxychlor in male and female rats. *Toxicology Letters*. 144: 993-103.
- Palacios-Nava M.E., Paz-Román P., Hernández-Robles S., Mendoza-Alvarado L. (1999). Persistent symptomatology in workers industrially exposed to organophosphate pesticides. *Salud Pública México*. 41(1):55-61.
- Payán-Rentería R., Garibay-Chávez G., Rangel-Asencio R., Preciado-Martínez V., Muñoz-Islas L., Beltrán-Miranda C., Mena-Munguía S., Jave-Suárez L., Feria-Velasco A., De Celis R. (2012). Effect of chronic pesticide exposure in farm workers of a Mexico community. *Archives of Environmental and Occupational Health*. 67:22-30.
- Pérez-Herrera N., Polanco-Minaya H., Salazar-Arredondo E., Solís-Heredia M.J., Hernández-Ochoa I., Rojas-García E., Alvarado-Mejía J., Borja-Aburto V.H., Quintanilla-Vega B. (2008). PON1Q192R genetic polymorphism modifies organophosphorous pesticide effects on semen quality and DNA integrity in agricultural workers from southern Mexico. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 230(2):261-8.
- Pérez-Maldonado I.N., Díaz-Barriga F., De la Fuente H., González-Amaro R., Calderón Yáñez L. (2004). DDT induces apoptosis in human

- mononuclear cells in vitro and is associated with increased apoptosis in exposed children. *Environmental Research*. 94(1):38-46.
- Pérez-Maldonado I.N., Herrera C., Batres L.E., González-Amaro R., Díaz-Barriga F., Yáñez L. (2005). DDT-induced oxidative damage in human blood mononuclear cells. *Environmental Research*. 98(2):177-84.
- Pérez-Maldonado I.N., Athanasiadou M., Yáñez L., González-Amaro R., Bergman A., Díaz-Barriga F. (2006). DDE-induced apoptosis in children exposed to the DDT metabolite. *Science of the Total Environment*. 1; 370(2-3):343-51.
- Pérez-Maldonado I.N., Pérez-Vázquez F.J., Gaspar-Ramírez O., González-Amaro R., Díaz-Barriga F. (2011). Variability in DDT-induced apoptosis in Mexican indigenous populations. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 21:675-680.
- Pérez-Mora A. (2000). Determinación de la etiología de las malformaciones congénitas en el Hospital de Gineco Obstetricia del DIFEM. Tesis de Licenciatura QFB. Facultad de Química, UAEM, Toluca Estado de México.
- Piña-Guzmán B., Solís-Heredia M.J., Quintanilla-Vega B. (2005). Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 202(2):189-98.
- Piña-Guzmán B., Sánchez-Gutiérrez M., Marchetti F., Hernández-Ochoa I., Solís-Heredia M.J., Quintanilla-Vega B. (2009). Methyl-parathion decreases sperm function and fertilization capacity after targeting spermatocytes and maturing spermatozoa. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 238(2):141-9.
- Ramírez-Espitia J.A., Benavides F.G., Lacasaña-Navarro M., Martínez J.M., García A.M., Benach J. (2003). Mortalidad por defectos del tubo neural en México, 1980-1997. *Salud Pública México*. 45:356-364.
- Recio-Vega R., Robbins W.A., Borja-Aburto V.H., Morán-Martínez J., Froines J.R., Hernández R.M., Cebrian-Garcia M.E. (2001). Organophosphorus pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environmental Health Perspectives*. 109:1237-1240.
- Recio-Vega R., Ocampo-Gómez G., Morán-Martínez J., Borja-Aburto V., López-Cervantes M., Uribe M., Torres-Sánchez L., Cebrián M.E. (2005). Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. *Environmental Health Perspectives*. 113(9):1160-3.
- Robles-Mendoza C., García-Basilio C., Cram-Heydrich S., Hernández-Quiroz M., Vanegas-Pérez C. (2009). Organophosphorus pesticides effect on

- early stages of the axolotl *Ambystoma mexicanum* (Amphibia: Caudata). *Chemosphere*. 74(5):703-10.
- Rojas-García A.E., Solís-Heredia M.J., Piña-Guzmán B., Vega L., López-Carrillo L., Quintanilla-Vega B. (2005). Genetic polymorphisms and activity of PON1 in a Mexican population. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 15; 205(3):282-9.
- Romero-Navarro G., López-Aceves T., Rojas-Ochoa A., Fernández-Mejía C. (2006). Effect of dichlorvos on hepatic and pancreatic glucokinase activity and gene expression, and on insulin mRNA levels. *Life Sciences*. 25; 78(9):1015-20.
- Romieu I., Hernandez-Avila M., Lazcano-Ponce E., Weber J.P., Dewailly E. (2000). Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J. Epidemiol*. 15; 152(4):363-70.
- Salazar Z., Ducolomb Y., Betancourt M., Bonilla E., Cortés L., Hernández-Hernández F., González-Márquez H. (2007). Gene expression analysis on the early development of pig embryos exposed to malathion. *International Journal of Toxicology*. 26:143-149.
- Salazar-García F., Gallardo-Díaz E., Cerón-Mireles P., Loomis D., Borja-Aburto V.H. (2004). Reproductive effects of occupational DDT exposure among male malaria control workers. *Environmental Health Perspectives*. 112(5):542-7.
- Sánchez-Guerra M.A., Elizondo-Azuela G., Pérez-Herrera N., Borja-Aburto V., Quintanilla-Vega B. (2007). Participation of CYP1A2*1F polymorphism in the susceptibility of neurological effects by organophosphate pesticide exposure. *Epidemiology*. 18:S146.
- Sánchez-Peña L.C., Reyes B.E., López-Carrillo L., Recio R., Morán-Martínez J., Cebrián M.E., Quintanilla-Vega B. (2004). Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1; 196(1):108-13.
- Sierra-Santoyo A., Hernández M., Albores A., Cebrian M.E. (2000). Sex-dependent regulation of hepatic cytochrome P-450 by DDT. *Toxicological Sciences*. 54:81-87.
- Soteno S.E. (1999). Malformaciones congénitas según etiología en una zona de uso intensivo de agroquímicos. Tesis de Licenciatura QFB. Facultad de Química, UAEM, Toluca, Estado de México.
- Tellez-Bañuelos M.C., Santerre A., Casas-Solis J., Bravo-Cuellar A., Zaitseva G. (2009). Oxidative stress in macrophages from spleen of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentration of endosulfan. *Fish and Shellfish Immunology*. 27(2):105-11.

- Torres-Arreola L., Berkowitz G., Torres-Sánchez L., López-Cervantes M., Cebrián M.E., Uribe M., López-Carrillo L. (2003). Preterm birth in relation to maternal organochlorine serum levels. *Annals of Epidemiology*. 13(3):158-62.
- Torres-Sánchez L., Zepeda M., Cebrián M.E., Belkind-Gerson J., García Hernández R.M., Belkind-Valdovinos U., López-Carrillo L. (2008). Dichlorodiphenyldichloroethylene exposure during the first trimester of pregnancy alters the anal position in male infants. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1140: 155-162.
- Villanueva-Moreno M.M. (2004). Registro según etiología de malformaciones congénitas externas en recién nacidos del hospital de Gineco-Obstetricia del DIF de Toluca. Tesis de Licenciatura QFB. Facultad de Química, UAEM, Toluca, Estado de México.
- Yerena C.E., Hernández-Kelly L.C.R., Ramírez J., Riaño M.E., López M.R., Fernández S., Ortega A. (2005). Influencia del polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas. *Bioquímica*. 30:68-75.

PARTE III
PLAGUICIDAS Y AMBIENTE

CAPÍTULO 7

FLORA MICROBIANA Y SU COMPORTAMIENTO FRENTE A LOS PLAGUICIDAS

Lidia Sandoval-Flores¹, Jazmín Alhelí Aguilar-Torrejón¹, Carlos Jorge Aguilar-Ortigoza², Juana Sánchez-Alarcón³, Rafael Valencia-Quintana³ y Julieta Castillo-Cadena¹

Introducción

La necesidad de responder a incógnitas controversiales sobre la generación espontánea observada en los alimentos y la naturaleza de las enfermedades, permitió el desarrollo de la microbiología en el siglo XIX. En nuestra época con los conocimientos científicos y tecnológicos se nos presenta otra problemática derivada de ese desarrollo: la contaminación ambiental.

A pesar del conocimiento acerca de los microorganismos que viven normalmente en ambientes extremos y de aquellos que sobreviven en ambientes inhóspitos, sigue figurando la necesidad de conocer más acerca de los mecanismos que éstos desarrollan, puesto que se intuye son capaces de “acabar” con la contaminación.

Es de considerar que los métodos naturales de control biológico tienen como base las relaciones entre las especies. Destacan en los ecosistemas microbianos el amensalismo, depredación y parasitismo, con lo que se controlan del 50% al 90% de las poblaciones dañinas.

El desarrollo de la gran cantidad y diversidad de productos químicos como los plaguicidas (insecticidas, herbicidas, fungicidas, nematocidas y raticidas, entre otros), ha permitido acelerar y eliminar condiciones indeseables, como en el caso de las plagas en la agricultura y la protección a la salud. La consecuencia de esto que hoy padecemos es la perturbación de los controles y el equilibrio natural de las especies.

¹ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

² Facultad de Ciencias, Instituto Literario, Universidad Autónoma del Estado de México. Col. Centro, Toluca, Estado de México, México. C.P. 5000.

³ Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Av. Universidad 1, col. La Loma, Xicotécatl, Tlaxcala, México. C.P. 90062.

La premisa de la ley de la vida de “preservar la especie” induce mecanismos de resistencia que ya se observan en plagas genéticamente resistentes y que representan un problema mayor. En los insectos se ha visto una reproducción acelerada y al cabo de 5 a 10 años o antes, por selección natural, pueden desarrollar inmunidad a los plaguicidas. Otro problema es el mal uso o abuso de plaguicidas de amplio espectro que exterminan controles naturales, favoreciendo a la población indeseable, o bien, afectando a la flora y la fauna normal al perturbar la cadena alimenticia, el exterminio de especies, o también, alterando el desarrollo económico a través de la modificación de especies relacionadas con la producción alimentaria.

Otra de las complicaciones tiene que ver con la salud ambiental, ya que el uso de plaguicidas afecta directamente o a distancia a otras especies. La aplicación de plaguicidas en forma manual puede alcanzar a veces menos del 1% de eliminación de la plaga, y terminar en aguas superficiales o subterráneas a través de aire, la lluvia, ríos y otros mecanismos, o bien a los sedimentos, afectando así a otros organismos no blanco. En cultivos, puede perjudicar directamente en los trabajadores que los aplican, y a distancia, a la población en general.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Medioambiental de la ONU, se calcula que 25 millones de trabajadores agrícolas de los países en vías de desarrollo resultan envenenados por plaguicidas cada año, sin embargo, el subregistro y mal diagnóstico sugieren que las cifras de daños a la salud humana son superiores.

Si bien es cierto que evaluar los resultados del uso de los plaguicidas nos lleva a reconocer que se han obtenido grandes beneficios bioeconómicos por la producción rápida y de calidad controlada de cultivos agrícolas en favor de la alimentación y desarrollo económico y social, son preocupantes los aspectos negativos, como nuestra ignorancia sobre el destino final y los efectos colaterales de los plaguicidas a la salud del medio ambiente y de los ecosistemas. Sobre salud humana, es poco lo que sabemos para disminuir el riesgo de mutaciones genéticas, cáncer, alteraciones en el sistema nervioso, en el sistema inmunológico y endócrino. En cuanto a los ecosistemas, falta mucho por descifrar acerca de las mutaciones, especies resistentes, extinción de especies, la modificación de relaciones biológicas, alteración del ambiente y su implicación en los organismos, consecuencia de la afectación de una especie o de un sistema.

Con estos antecedentes se ha considerado la depuración de productos tóxicos peligrosos, como los plaguicidas, mediante células procariotas como las bacterias, capaces del proceso de transformación y/o asimilación de estos

tóxicos, es decir, biorremediar y recuperar agua y suelo, que son la esperanza de la salud ambiental del futuro.

¿Por qué las células procariotas son la esperanza de corregir la alteración ecológica? El origen de la vida y la evolución de las especies muestran que la vida microbiana ya existía hace unos 3850 millones de años (Mojzsis *et al.* 1996). Las bacterias más estudiadas como las células primitivas, con mecanismos de sobrevivencia en ambientes inhóspitos, han subsistido gracias a la relación con su hábitat biótico y abiótico a través del tiempo. Este capítulo pretende mostrar elementos que permitan al lector identificar el comportamiento de los microorganismos frente a los plaguicidas.

Composición del suelo y factores abióticos ambientales en un ecosistema

El suelo es la capa superficial no consolidada de la corteza terrestre que se forma por el intemperismo del material geológico subyacente (Millar *et al.* 1980; Buol *et al.* 1981). En este proceso complejo, lo primero que se forma son fragmentos de roca o regolitos, los cuales por la actividad de factores climáticos, topográficos, químicos y biológicos se reducen a nuevos materiales que se depositan en subcapas u horizontes. El conjunto de los horizontes forman el perfil del suelo. En una situación natural como en los suelos de bosques podemos encontrar un perfil con cinco horizontes bien definidos; el más superficial contiene los restos de plantas y animales en proceso de descomposición para la formación de humus, el cual se denomina horizonte O u orgánico por debajo de él se presenta una capa de mineral de coloración oscura por la acumulación de materia orgánica y se le llama horizonte A, del cual se acarrearán, por el agua de percolación, partículas coloidales que se acumulan como arcillas y óxidos de fierro y aluminio, a esta porción se le conoce como horizonte B; por debajo hay otra zona de poca actividad biológica, de menor intemperismo y con acumulación de carbonatos de magnesio y calcio que se llama horizonte C; por último, de manera subyacente, se encuentra el regolito y el lecho rocoso que constituyen al horizonte R (Atlas y Bartha 2002). Como cualquier sistema continuo, el suelo presenta zonas de transiciones en su perfil, observables pero en ocasiones difíciles de reconocer por su grado de desarrollo, así se presentan subhorizontes O1 cuando los restos orgánicos son diferenciables, O2 al no reconocerse las formas originales A1 y A2 diferentes en color y textura (Buol *et al.* 1981).

En su constitución inorgánica o mineral, los suelos contienen diferentes proporciones de partículas diferenciables por su tamaño que constituyen la textura, éstas van de 0.002 mm de diámetro, llamadas arcillas; de 0.05 mm,

también son conocidos como limos; hasta 2 mm, llamadas arenas. Las diferentes combinaciones de estos componentes forman diferentes clases texturales. Cuando los porcentajes de estas partículas son similares los suelos son de tipo migajón o francos. Si alguno comienza a elevarse con respecto a los otros, por ejemplo un suelo con 40% de arcilla y 30% de cada una de las otras partículas, se trata de un suelo de migajón arcilloso (Figura 7.1). Cuando la materia orgánica es superior al 20% en la composición de suelos arenosos o mayor de 30% en arcillosos se les denominan suelos orgánicos (Millar *et al.* 1980). La composición textural interviene en la agregación de componentes o estructura del suelo en la dinámica hídrica, la aireación y retención de iones, lo cual influye en el crecimiento de organismos del suelo y su productividad (Gliessman 2007).

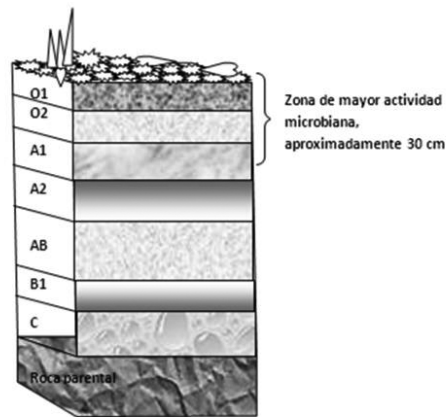


Figura 7.1. Horizontes del perfil del suelo donde se muestra la mayor actividad microbiana.

Fuentes: Atlas y Bartha 2002; Coyne 2000.

El suelo es un ecosistema que contiene una gran diversidad de organismos (Germida y Freitas 2008), principalmente bacterias, hongos, protozoarios, invertebrados, algas y raíces de plantas (Giller *et al.* 1997) que contribuyen a la formación, conservación y productividad del mismo y de los agroecosistemas. En este sentido es considerado como un recurso natural importante para la producción de alimentos (Gliessman 2007), como factor esencial para el mantenimiento de la calidad ambiental que incide directamente sobre la salud humana (Etchevers *et al.* 2000) y, además, como agente activo en la captura y emisión de gases de efecto invernadero (West y Six 2007), por lo cual es importante evaluar la calidad de estos como un ecosistema que permita un manejo sustentable de la productividad biológica (Kennedy y Schillinger 2006).

La calidad del suelo es su capacidad, como ecosistema, para desempeñar funciones de mantenimiento de los factores abióticos como energéticos, hídricos,

de aire y de nutrientes minerales; así como de los bióticos, es decir, la diversidad, las relaciones tróficas e interacciones intraespecíficas e interespecíficas; y además para sustentar la productividad biológica, conservar la calidad ambiental y promover la salud de plantas y animales (Karlen *et al.* 2001). Entre las metodologías utilizadas para evaluar su calidad se encuentran los indicadores biológicos como la determinación de la biomasa microbiana, ya sea mediante conteo taxonómico directo; el análisis de componentes de los microorganismos como el adenosín trifosfato generado o de su diversidad por marcadores moleculares (Reyes *et al.* 2009).

La calidad del suelo y su productividad se ven alterados por los cambios en el uso de este, desde su situación natural, hasta manejo forestal, agrícola, pecuario y urbano. Estas actividades modifican las propiedades químicas, físicas y biológicas de los suelos; alteran los ciclos biogeoquímicos, la incorporación de la materia orgánica, el mantenimiento de la textura y estructura, la composición, mantenimiento y productividad de las comunidades de organismos; y trasciende su efecto adverso a las poblaciones humanas en su ámbito social y ambiental. Actualmente una de las actividades humanas con mayor efecto sobre la degradación de los suelos es la aplicación de agroquímicos, cuyo impacto se puede evaluar en los cambios de las comunidades de microorganismos (Anderson 2003; Lin *et al.* 2004; Zhong y Cai 2007).

Composición de los plaguicidas en el suelo y efectos en el medio ambiente

Las prácticas actuales de la agricultura han incorporado un sinnúmero de productos químicos con el objeto de mejorar la producción, sin embargo, su abuso, el mal uso, la diversidad de agroquímicos y las condiciones ambientales entre otros factores, empezaron a presentar acumulación y diversos daños. Estos efectos están en función de la molécula y su comportamiento en el ecosistema afectado por dichos factores.

Así, la estructura de los plaguicidas es muy diversa, podemos encontrar compuestos clorados, anillos aromáticos, moléculas con fósforo y nitrógeno, entre otros, que sirven como fuente de carbono y donadores de electrones para algunos microorganismos del suelo. En su descomposición influyen factores ambientales como temperatura, pH, aireación y contenido de materia orgánica.

La desaparición de un plaguicida en un ecosistema, además de la biodegradación por microorganismos, puede deberse también a la volatilización, lixiviación, fotodescomposición, adsorción (retención en las micelas coloidales), absorción (por las plantas) o degradación química

espontánea. También puede deberse a los factores que evitan la biodisponibilidad tales como moléculas hidrofóbicas (insolubles en agua), adsorción a materia orgánica y arcilla.

El uso de productos químicos en la agricultura se reduce a un número ilimitado de compuestos, ya que ésta es una de las pocas actividades donde se descargan deliberadamente en el ambiente sustancias químicas para acabar con algunas formas de vida, lo que ocasiona, con el paso de los años, una saturación de remanentes químicos en estos sitios y sus alrededores, a la fácil dispersión que presentan estos compuestos.

La interacción plaguicida-suelo-agua resulta de gran importancia debido al impacto de estas sustancias en el ambiente. De acuerdo con Ongley (1997), el destino ambiental (comportamiento) de un plaguicida depende de la afinidad natural del producto químico con uno de los cuatro compartimentos ambientales: materia sólida (materia mineral y carbono orgánico en partículas), líquido (solubilidad en aguas superficiales y aguas del suelo), forma gaseosa (volatilización) y biota. Este comportamiento recibe con frecuencia el nombre de compartimentación y comprende, respectivamente, la determinación de los siguientes aspectos: coeficiente de absorción del suelo (K_{OC}), solubilidad, constante de Henry, y el coeficiente de partición n-octanol: agua (K_w).

El K_{OC} es altamente variable en los distintos tipos de suelo. Sin embargo, se ha observado que la variación se reduce cuando se considera el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo. Por lo anterior, a mayor valor de K_{OC} menor movilidad del plaguicida en forma soluble al estar fuertemente adherido a las partículas del suelo. Usualmente en los primeros centímetros existe mayor riesgo de contaminación a otros suelos por arrastre de agua superficial. Así, suelos con baja materia orgánica menor a 1% y texturas gruesas, como los arenosos, presentan una escasa capacidad para retener los plaguicidas. Suelos con altos contenidos de materia orgánica, poseen una alta capacidad de retención de plaguicidas y reducen el riesgo de contaminación por movimiento de los mismos (Tapia-Flores *et al.* 2007).

En la contaminación del suelo intervienen, igualmente, otros factores como los geológicos (tales como naturaleza de la roca madre, erosión, sedimentación), climatológicos (temperatura, lluvia, viento, humedad) y biológicos (vegetación, fauna), entre ellos cabe destacar los siguientes:

- a) Lluvia: regula la humedad, el contenido del aire y el grado de lixiviación del suelo. El agua, en forma de una fina capa, rodea las partículas edáficas y

tiene una importancia decisiva para el desarrollo de los procesos químicos en el medio natural, ya que en ella tienen lugar los fenómenos de disolución del suelo.

- b) **Atmósfera:** en función de los factores climatológicos, se interrelaciona con el suelo a través del balance entre la lluvia y la evaporación. La lluvia aporta agua al suelo con una cierta concentración de solutos, mientras que en la evaporación se transfiere sólo agua al medio atmosférico. Dependiendo del balance evaporación-lluvia puede tener lugar la infiltración del agua hacia capas más profundas, alimentando los acuíferos subterráneos en un proceso en el que el agua interacciona con el suelo intercambiando elementos (lixiviación).

De igual forma, el suelo tiene una relación indirecta con los gases atmosféricos, ya que se establece un intercambio de gases entre la atmósfera y el aire del suelo (Sabroso-González y Pastor 2004).

Una vez que los plaguicidas ingresan al ecosistema, pueden experimentar reacciones fisicoquímicas y biológicas, ocasionando que el plaguicida no permanezca intacto por tiempo indefinido en el medio ambiente. Con el tiempo sufre una degradación influenciada por microorganismos, actividad química, pH, clima, y contenido de materia orgánica del suelo, entre otros, por ejemplo en la fotólisis donde existe una oxidación fotoquímica del plaguicida que puede verse limitada por la concentración de oxígeno presente y por la cantidad de luz.

Durante la oxidación hay una reacción lenta del plaguicida con el oxígeno disuelto. Si en el medio existen concentraciones altas de materia orgánica disuelta y compuestos húmicos, se libera peróxido de hidrógeno que también es oxidante. En lo que se refiere a los mecanismos de hidrólisis, son degradaciones de primer orden que pueden estar catalizadas por un ácido o una base e incrementarse con la presencia de sustancias húmicas. La volatilización del contaminante a través de la interfase suelo-aire o agua-aire, da como resultado el reingreso de éste a la atmósfera (Calva y Torres 1998).

Importancia de los ecosistemas en el suelo

Entre los componentes que determinan las propiedades y la calidad de los suelos se encuentra el factor biótico, que incluye a las plantas, animales, microorganismos y sus productos que forman la materia orgánica del suelo o MOS (Gregorich *et al.* 2000). Entre los grupos taxonómicos se encuentran bacterias de los géneros *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Caulobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*,

Mycobacterium, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Xanthomonas*; entre los actinomicetes son abundantes *Streptomyces* y *Nocardia*; en las mixobacterias predominantes están los géneros *Archangium*, *Chondrococcus*, *Myxococcus* y *Polyangium* y entre las cianobacterias *Anabaena*, *Calothrix*, *Chroococcus*, *Lyngbya*, *Microcoleus*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Schizothrix* y *Scytonema*. En cuanto a hongos comunes del suelo se encuentran los omicetos como *Allomyces*; Zigomicetos como *Mucor* y *Rhizopus*; ascomicetos como *Morchella* y *Peziza*, y basidiomicetos *Agaricus*, *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Coprinus* y *Russula* (Madigan et al. 2004; Porta et al. 2003). Entre los principales grupos protistas edáficos están los flagelados (*Bodo*, *Oikomonas*), amibas testáceas (*Nebela*) y ciliados (*Colpoda*, *Vorticella*). La Tabla 7.1 muestra la distribución de los microorganismos en diferentes horizontes del suelo, y en la Tabla 7.2 se observa la cantidad de los microorganismos comúnmente presentes en el suelo.

Tabla 7.1. Distribución de microorganismos en diferentes profundidades de un perfil de suelo.

Profundidad (cm)	Bacterias aerobias	Bacterias anaerobias	Actinomicetos	Hongos	Algas
3-8	7,800	1,950	2,080	119	25
20-25	1,800	379	245	50	5
35-40	472	98	49	14	0.5
65-75	10	1	5	6	0.1
135-145	1	0.4	-	3	-

Fuente: Alexander 1994.

Tabla 7.2. Número aproximado de organismos comúnmente encontrados en suelos.

Organismos	Número estimado
Bacterias	3,000,000 a 500,000,000/g
Actinomicetos	1,000,000 a 20,000,000/g
Hongos filamentosos	5,000 a 900,000/g
Algas	1,000 a 500,000/g
Protozoarios	1,000 a 500,000/g
Levaduras	1,000 a 100,000/g
Nemátodos	5,000 a 20,000/100g

Fuente: Martínez 1997.

Dentro de los animales invertebrados más comunes están los nemátodos (*Meloidogyne*), anélidos (*Lumbricus*, *Eisenia*), moluscos (*Helix*, *Limax*) y artrópodos (ácaros, isópodos, diplópodos, quilópodos, colémbolos, hormigas, escarabajos); menos comunes son los vertebrados como las tuzas (*Geomys*) y musarañas (*Cryptotis*, *Sorex*); entre las algas se tienen principalmente clorófitas,

rodófitas, euglenófitas y crisófitas, además raíces de vegetales y rizomas de todas las plantas vasculares.

El hábitat edáfico es muy favorable para los microorganismos, lo que los hace abundantes con respecto a otros ambientes como los acuáticos, esto se debe a la presencia de sustancias húmicas, péptidos, azúcares y fenoles de la materia orgánica en descomposición que permiten el crecimiento poblacional de organismos autóctonos y que también es atractiva para otros de fuera o alóctonos, adaptados al cambio en los horizontes superficiales del suelo. En términos energéticos hay organismos del suelo que elaboran sus alimentos o autótrofos, como los fotosintéticos que viven en el horizonte O, donde la luz permite el proceso de fijación de bióxido de carbono atmosférico y liberación de oxígeno, los quimiolitótrofos que obtienen su energía de la oxidación de compuestos inorgánicos, quimioorganotrofos que la obtienen de la oxidación de compuestos orgánicos y los heterótrofos que requieren consumir los compuestos orgánicos ya elaborados como fuente de energía y carbono. Otras de las adaptaciones de organismos que permiten aprovechar óptimamente el recurso edáfico son las simbiosis, como las asociaciones planta-hongo o micorrizas, donde es eficiente el consumo de nutrientes minerales del suelo; la asociación de *Rhizobium* con leguminosas que involucra fijación de nitrógeno atmosférico al ecosistema y las relaciones no tan estrechas de muchos microorganismos con las raíces de las plantas o rizosfera que mantiene la salud de los vegetales (Atlas y Bartha 2008; Jjemba 2004) e incluso permiten colonizar los ambientes áridos (González-Chávez *et al.* 2008; Olalde *et al.* 2000).

Efectos de los plaguicidas en la flora microbiana y en la agricultura

Los microorganismos del suelo juegan un rol muy importante en la degradación de los plaguicidas antes de que alcancen las aguas sub-superficiales. Además de la actividad microbiológica, las partículas más finas del suelo, como las arcillas y principalmente la materia orgánica, interactúan con los plaguicidas y reducen su movilidad (Tapia-Flores *et al.* 2007).

Una parte esencial de la materia orgánica presente en el suelo es el humus, que al tener una alta capacidad de intercambio de cationes permite retener grandes cantidades de nutrientes además de favorecer la actividad microbiana. Las sustancias húmicas pueden desempeñar un papel importante en la biodegradación anaerobia y la biotransformación de compuestos orgánicos así como inorgánicos. El humus puede servir como un aceptador de electrones terminal que apoya la oxidación microbiana anaerobia de una amplia variedad de sustratos orgánicos.

Además, las sustancias húmicas reducidas también pueden servir como un donante de electrones para conseguir la reducción microbiana de aceptadores de electrones más oxidados, como el nitrato, fumarato y clorato. Diversas pruebas indican que las quinonas en el humus pueden desempeñar papeles diferentes las cuales contribuyen a la biodegradación anaerobia y la biotransformación de sustratos ecológicamente importantes, así como contaminadores de prioridad (García-Díaz 2008).

Cuando las bacterias son expuestas a una presión selectiva de algún compuesto como única fuente de carbono, se pueden tener poblaciones con capacidad de degradación específica (Alexander 1994). Las transformaciones se refieren a la degradación de estos compuestos. Dichos procesos abarcan reacciones de deshalogenación, alquilación, hidrólisis, oxidación, reducción, conjugación y condensación durante el metabolismo y el cometabolismo (Calva y Torres 1998).

Las plantas y los microorganismos pueden metabolizar algunos componentes de los plaguicidas a través de diferentes procesos como se muestra en la Tabla 7.3.

Tabla 7.3. Comparación del metabolismo entre plantas y microorganismos sobre plaguicidas.

Biotransformación	Plantas	Microorganismos
Metabolismo general sobre plaguicidas	Detoxificación	Mineralización.
Oxidación	Mediada por el citocromo P-450	Generalmente no es mediada por el citocromo P-450, sino por varias oxido-reductasas.
Oxidación P-450	Enlaces en la membrana microsomal	Forma soluble, no enlazada en la membrana.
Transformaciones hidrolíticas	Predominan las vías por esterasas, amidasas, arilacilamididasas y nitrilasas	Gran diversidad de enzimas.
Ruptura enlaces C-P	Desconocido	Diversas rupturas de C-P y enzimas hidrolíticas.
Procesos nitro-reductivos aromáticos	Nitro-reductasas Conjugación *GSH	Nitro-reductasas. No conjugan con *GSH.
Des-halogenaciones reductivas	Desconocido	Halo respiración.
Conjugación	Con azúcares y aminoácidos. Compartimentación o secuestro Conjugación con *GSH	Con xilosa, grupos metilo o acetilo. Formas conjugadas extracelularmente. Se desconoce conjugación con *GSH.

*Glutati6n (GSH). Fuente: Van-Eerd *et al.* 2003.

La metabolización de los plaguicidas puede llevarse a cabo tanto por las plantas como por los microorganismos, en ambas situaciones tiene que ver con un proceso de tres fases que se describe a continuación. En la primera fase del metabolismo, las propiedades originales del compuesto son transformadas a través de procesos de reacciones de oxidación, hidrólisis y reducción. Esto generalmente origina un producto más soluble en agua y menos tóxico que el inicial. La segunda fase involucra conjugación de los plaguicidas o metabolitos de los plaguicidas con azúcares, aminoácidos o glutatión, lo cual incrementa la solubilidad en agua y reduce la toxicidad con respecto al plaguicida inicial. La tercera fase involucra conversiones de los metabolitos generados en la fase II en conjugaciones secundarias ocasionando en la mayoría de los casos que la nueva molécula sea inocua (Van-Eerd *et al.* 2003).

Perspectivas del impacto sobre los microorganismos

Diversas investigaciones repetidamente han demostrado que los hongos y las bacterias tienen estrechas relaciones con las plantas hospederas que las alojan y que esto permite la promoción del crecimiento de la planta así como la supresión de plantas patógenas en los cultivos. Cuando se prueban aislamientos microbianos provenientes de un hábitat de plantas de cultivo entre el 1 y el 35% de estos microorganismos muestran una capacidad inhibitoria del crecimiento de agentes patógenos *in vitro*.

De acuerdo con Berg (2009), existen de forma general dos posibilidades para influenciar el crecimiento antagónico de plantas o la promoción potencial: 1) por inducción del potencial microbiano, por ejemplo introduciendo compuestos orgánicos e inorgánicos y 2) aplicando microorganismos autóctonos como biocontrol o promoviendo agentes del crecimiento de las plantas.

En México, en los últimos diez años se han estado desarrollando investigaciones que aplican métodos físicos, químicos y biológicos, de estos últimos se espera que permitan tratar el problema de los plaguicidas a través del uso de los microorganismos y la capacidad de adaptación y degradación de compuestos xenobióticos que estos representan.

En la Tabla 7.4, se presentan las ventajas y desventajas de diferentes tratamientos en la remoción de contaminantes en la recuperación de suelos.

Tabla 7.4. Comparación de los diferentes tratamientos en la recuperación de suelos.

Tratamiento	Ventajas	Desventajas
Biológico	Son efectivos en cuanto a costos. Son tecnologías más benéficas para el ambiente. Los contaminantes generalmente son destruidos. Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior.	Requieren mayores tiempos de tratamiento. Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y productos. No pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano.
Fisicoquímico	Son efectivos en cuanto a costos. Pueden realizarse en periodos cortos de tiempo. El equipo es accesible y no se requiere de mucha energía ni ingeniería	Los residuos generados por técnicas de separación deben tratarse o disponerse, lo que supone un aumento en los costos y la necesidad de permisos. Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes, necesidad de sistemas de recuperación.
Térmico		Es el grupo de tratamiento más costoso.

Fuente: Volke-Sepúlveda y Velasco 2002.

Los plaguicidas como contaminantes ambientales en el agua o en el suelo, se integran en un ecosistema constituido por una asociación de microorganismos interactiva causando una actividad metabólica interrelacionada, protegiendo la vida como unidad del llamado consorcio.

Microorganismos en consorcio como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio metschnikouii*, *Serratia ficaria*, *Serratia spp.* y *Yersinia enterocolitica* han demostrado remover plaguicidas del tipo organofosforados (Ortiz-Hernández y Sánchez-Salinas 2010).

Géneros como *Rhizobium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* y *Flavobacterium* aislados directamente de leguminosas o de plantas de ornato han presentado degradación de compuestos como el malatión, encontrando la presencia de al menos cinco metabolitos de este compuesto después de su tratamiento con estos microorganismos (Hernández-Rivera *et al.* 2005).

Herbicidas como la atrazina también han mostrado remoción cercana al 100% después de un tratamiento con microorganismos (aislados de suelos saturados con este producto), como *Mycobacterium*, *Xanthomonas*, *Ochrobactrum*, *Massilia*, *Klebsiella* y *Stenotrophomonas*, encontrando en este último género cuatro genes que codifican a las enzimas catabólicas responsables de la degradación de esta sustancia (Tafoya 2008). Estas nuevas herramientas y técnicas para el uso en la biorremediación pueden contribuir a un mejor tratamiento de estos compuestos de manera más eficiente y ambiental.

Referencias

- Anderson T.H. (2003). Microbiological ecophysiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 98:285-293.
- Alexander M. 1994. *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press. San Diego. 302 pp.
- Atlas R.M. y Bartha R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 4ª Edición. Pearson Educación S.A. Madrid España. 677 pp.
- Berg G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 84:11-18.
- Buol S.W., Hole F.D., McCracken R. (1981). *Génesis y Clasificación de Suelos*. Primera edición. Ed. Trillas. México. 417 pp.
- Calva L.G. y Torres M.R. (1998). Plaguicidas Organoclorados. *Contacto*. 30:35-46.
- Coyne M. (2000). *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Ed. Parninfo. Madrid España. 416 pp.
- Etchever J., Bautista M., Vergara M. (2000). Calidad del suelo, indicadores de calidad y captura de carbono. 507-520. *En: La Edafología y sus Perspectivas en el siglo XXI*, tomo II. Quintero R., Reina T., Corlay C., Ibañez H., García C. Editores. COLPOS, UNAM, UACH. México. 810.
- García-Díaz C. (2008). *Biorremediación de un Suelo Contaminado con Hidrocarburos, empleando Ácidos Húmicos y Lombrices (Eisenia andrei)*. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Distrito Federal, México. 186 pp.
- Germida J.J., Freitas J.R. (2008). Cultural Methods for Soil and Root-Associated Microorganisms. pp. 341-353. *En: Soil Sampling and Methods of Analysis*. Carter M. y Gregovich E. Editores. CRC Press. BocaRaton Florida E.U.A.
- Giller K.E., Beare M., Lavelle P., Izac A., Swift M. (1997). Agricultural identification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology*. 6:3-16.
- Gliessman S.R. (2007). *Agroecology. The ecology of sustainable food systems*. CRC Press. Boca Raton Florida. E.U.A. 384 pp.
- González-Chávez M., Alarcón A., Ferrera C.R. (2008). Biodiversidad funcional de los hongos micorrízicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. *En: Micorrizas Arbusculares en Ecosistemas Áridos y Semiáridos*. Montaña, A., Camargo R., García S., Monroy A. Editores. Mundi-Prensa. México. 266 pp. pp. 13-24.
- Gregorich E.G., Carter M., Doran J.W., Pankhurst Dwyer L. (2000). Biological Attributes of Soil Quality. pp. 81-113. *En: Soil Quality from crop*

- production and ecosystem health. Gregorich E. y Carter M. Editores. Ed. Elsevier, Holanda.
- Hernández-Rivera S.A., Martínez-Gándara J., Castillo-Flores A.D. (2005). Biotransformación de malatión por cepas de *Rhizobium* aisladas de *Desmodium Tortuosum* (SW) DC. Revista Foresta Veracruzana. 7(2):53-58
- Jjemba P.K. (2004). Environmental microbiology, principles and applications. Science Publishers Inc. New Hampshire. 372 pp.
- Karlen D.L., Andrews S., Doran J.W. (2001). Soil quality: current concepts and applications. Advances in Agronomy. 74:1-40.
- Kennedy A. y Schillinger W.F. (2006). Soil quality and water intake in traditional-till vs no-till paired farm in Washington's Palouse region. Soil Scientific Society American Journal. 70:940-949.
- Lin X.G., Yin R., Zhang H., Huang J., Chen R., Cao Z. (2004). Changes of soil microbiological properties caused by land use changing from rice-wheat rotation to vegetable cultivation. Environ. Geochem. Health. 26:119-128.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. (2004). Brock. Biología de los Microorganismos. Ed. Pearson. Madrid, España. 1011 pp.
- Martínez J. (1997). Importancia de la identificación de los microorganismos que participan en la biodegradación de compuestos xenobióticos. Symposium Biorremediación de suelos y acuíferos. Noviembre 1997. CINVESTAV-IPN, México.
- Millar C.E., Turk L.M., Foth H. (1980). Fundamentos de la Ciencia del Suelo. 5ª Edición. CECSA, México. 527 pp.
- Mojzsis S.J., Arrhenius G., McKeegan K.D., Harrison T.M., Nutman A.P., Friend C.R.L. (1996). Evidence for life on Earth before 3,800 million years ago. Nature. 384:55-59.
- Olalde P.V., Frías H.J., Aguilar L.A., Pescador N., Aguilera G. (2000). Caracterización microbiológica de suelos de islas de fertilidad de mezquite [*Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. Ex Wild) M. C. Johnst] en ambientes semiáridos. En: El mezquite árbol de usos múltiples: estado actual del conocimiento de México. Frías H., Olalde P., Vernon C. Editores. Universidad de Guanajuato y Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. México. pp 95-107.
- Ongley E.D. (1997). Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. Serie Estudios FAO Riego y Drenaje 55. Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, Italy. Dirección de Fomento de Tierras y Aguas. 115 pp.
- Ortiz-Hernández M.L. y Sánchez-Salinas E. (2010) Biodegradation of the organophosphate pesticide tetrachlorvinphos by bacteria isolated from agricultural soils in México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 26(1):27-38.

- Porta J., López A.M., Roquero C. (2003). *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. 3ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 960 pp.
- Reyes R.G., Cruz R.C, Cruz R.E., Nava B.G., Aguilera G.L., Gutiérrez M. (2009). *Biomasa Microbiana: Indicador Biológico de la Calidad de los Suelos*. 87-106. En: *Acercamientos Conceptuales y Metodológicos para el Estudio de la Realidad Agropecuaria y Rural de México*. Reyes R.G. Compilador. UAEM. Toluca, México. 341 pp.
- Sabroso-González M.C. y Pastor E.A. (2004). *Guía sobre suelos contaminados*. Gobierno de Aragón. Zaragoza, España. 109 pp.
- Tafoya G.A (2008). *Biodegradación del herbicida triazínico, atrazina, por una comunidad bacteriana, seleccionada en quimiostato, inmovilizada en reactores de lecho empacado*. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional. Distrito Federal, México. 162 p.
- Tapia-Flores F., Jerez-Briones J., Moyano-Arancibia M.S. (2007). *Uso de Biofiltros para mejorar la calidad del agua de riego (VI) Eficiencia en la remoción de residuos de plaguicidas*. Chile.
- Van-Eerd L., Hoagland E.R., Zablotowicz M.R., Hall C.J. (2003). *Pesticide metabolism in plants and microorganisms*. *Weed Science*. 51:472-495.
- Volke-Sepúlveda T. y Velasco J.A. (2002) *Tecnologías de remediación para suelos contaminados México: Instituto Nacional de Ecología y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*. 62 pp.
- West T.O. y Six J. (2007). *Considering the Influence of Sequestration Duration and Carbon Saturation on Estimates of Soil Carbon Capacity*. *Climatic Change* 80:25-41.
- Zhong W.H., Cai Z.C. (2007). *Long Term Effects of Inorganic Fertilizers on Microbial Biomass and Community Functional Diversity in a Paddy Soil Derived from Quaternary Red Clay*. *Applied Soil Ecology*. 36:84-91.

CAPÍTULO 8

NIVELES DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR PLAGUICIDAS

María Magdalena García-Fabila¹, Araceli Amaya-Chavez¹, Julieta Castillo-Cadena¹, Stefan M. Waliszewski², Juana Sánchez³, Pedro Rafael-Valencia Quintana³ y Alicia Reyes-Reyes¹

Introducción

La escasez de agua en la actualidad se debe no sólo a las condiciones naturales de determinadas regiones, sino también al aumento de la población, el mal uso y la contaminación producida por los desechos generados por humanos, la industria y la agricultura. El agua apta para uso humano (dulce, potable y de fácil acceso), es una parte muy pequeña del total en el planeta (UNICEF 2009).

En México, la agricultura contribuye con el 62% del total de las aguas residuales, le sigue el sector doméstico con el 28%, y por último la industria con sólo el 10%. El agua residual agrícola no recibe tratamiento alguno, en gran parte por su carácter difuso o no puntual, por lo que el aporte de contaminantes a cuerpos receptores y la filtración de agua con alto contenido de nutrientes, plaguicidas y fertilizantes químicos a los acuíferos durante sus procesos de recarga, es alarmante (Campos-Díaz 2004; INEGI 2009).

México, como otros países de la región, basa una buena parte de su economía en la producción agrícola y pecuaria, por lo que los plaguicidas se usan de manera importante, y son los organofosforados (OF) los más ampliamente utilizados en la actualidad. Esta situación es en parte el resultado del tipo de modelo agrícola que caracteriza de manera general a los países en desarrollo, y que prevalece de manera particular en los países de América Latina. Se basa en la escasa o nula rotación de cultivos, la producción intensiva y la mecanización, que conducen a la alta demanda de agroquímicos (SEMARNAT 2003).

Las propiedades físico-químicas de las sustancias son importantes en su cinética ambiental, por lo que la solubilidad en agua de un plaguicida es una medida que establece la máxima concentración a disolverse en un litro de agua y por lo general tiene un rango de 1 a 100,000 mg/L. El departamento de Regulación de

¹ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Toluca s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

² Laboratorio de Medicina Forense, Universidad Veracruzana.

³ Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Calle del Bosque s/n, col. Centro, Tlaxcala. C.P. 90000.

Plaguicidas en California, Estados Unidos, determinó que los plaguicidas con una solubilidad mayor a 3 mg/L tienen potencial para contaminar el agua subterránea, sin embargo, se han encontrado compuestos con solubilidad menor de 3 mg/L en agua subterránea, lo cual indica que dicho criterio no es una garantía (PAN 2006).

Los plaguicidas muy solubles en agua, se adsorben con baja afinidad a los suelos y por lo tanto, son fácilmente transportados del lugar de la aplicación (lluvia, riego o escurrimiento) hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea (Jenkins y Thomson 1999).

Estudios realizados en México sobre contaminación de cuerpos de agua por plaguicidas

En las últimas décadas se ha incrementado el uso de plaguicidas del tipo de los OF, carbamatos y piretroides, debido a su potencial biocida y su baja persistencia. El uso y la producción de plaguicidas organoclorados (OC) han sido regulados en todo el mundo de acuerdo con la Convención de Estocolmo en 2001. Sin embargo, estos compuestos siguen representando amenazas graves para el ambiente y para los seres humanos, por su elevada persistencia y lipofilidad.

En México existen pocos estudios de detección de plaguicidas como contaminantes de cuerpos de agua, en este capítulo se muestran algunos hallazgos realizados en diferentes zonas. En el norte del país, Agapito (2002) reportó que en la Cuenca de Lechuguilla-Ohuira-Navachiste, Sinaloa, México, existe contaminación del agua por metilparatión (MP) en concentraciones que van de 0.0041 ng/mL a 0.3985 ng/mL. En sedimento se encontró mayor concentración y diversidad de plaguicidas: metilparatión (60.8 ng/g), fosdrin (14.03 ng/g), malatión (de 5.01 ng/g a 10.06 ng/g). En el 2002, se realizaron estudios de la concentración de plaguicidas residuales en camarones, sedimentos y agua superficial en la baya de Ohuira Topolobambo, Sinaloa, se encontraron concentraciones de plaguicidas como de endosulfán I (10.0-118.5 ng/g), heptacloro (11.0-60.0 ng/g), aldrín (0.95ng/g) y dieldrín (2.06 ng/L/g) en sedimentos en diferentes periodos de tiempo. En este estudio se menciona que las concentraciones halladas en camarones y en sedimento son consistentes, no así con los encontrados en agua. Esto se puede explicar debido a que los camarones ingieren cierta cantidad de sedimentos. En otro estudio en sedimentos de la laguna costera de Jitmazuri, Sinaloa, González-Farías *et al.* (2002) encontraron concentraciones de endosulfán I, II y sulfato, (0.55 a 6.81 ng/g peso seco). Carvalho *et al.* (2003) analizaron residuos de plaguicidas en

sedimentos, agua y biota del sistema de lagos de Ensenada del Pabellón en Sinaloa, donde se encontraron OC como dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) y p,p' DDT, y endosulfán en concentraciones lo suficientemente tóxicas como para poner en riesgo a la biota como los camarones de la zona, así mismo, se encontró clorpirifós en el sedimento. Los autores emitieron una recomendación para restringir el uso de endosulfán en la región pues observaron un incremento en las concentraciones de los sedimentos en las zonas de las descargas agrícolas y en los puntos de drenaje. En el 2011, en una superficie de siembra de diferentes cultivos en el territorio de Guasave, Sinaloa, se analizaron sedimentos en los canales de riego y se encontró DDT en concentraciones de 0.001 a 0.010, DDD de 0.001 a 0.004, DDE de 0.001 a 0.051 y lindano en 0.001 µg/kg de sedimento. Todos los valores fueron reportados por debajo de los límites basales establecidos por la Canadian Environmental Quality Guidelines (CCME 2003), para la protección de la vida acuática.

En el Golfo de California, en las estaciones cercanas a fuentes de desazolve agrícola, donde el sedimento es muy fino en relación con las estaciones donde el sedimento es arena, se encontraron altas concentraciones de 16 tipos de plaguicidas OF en diferentes matrices como agua, camarones y sedimentos (Osuna-Flores 2004).

En el sur de México, se han realizado estudios que demuestran la presencia de plaguicidas en cuerpos de agua, como en el caso de los sistemas lagunares de Chiapas, en donde se han reportado concentraciones de endosulfán II que van de 155.02 ng/g a 814.5 ng/g de sedimento (Botello, *et al.* 2000; Hernández *et al.* 2004). Melgar *et al.* (2008) analizaron en el sureste de México plantaciones de banano, su objetivo era observar la posible acumulación de mancozeb y su principal metabolito etilentiourea (ETU), así como Mn y Zn como componentes. En el canal de sedimentación encontraron bajas concentraciones de ETU en el sedimento (5.9-13.8 µg/L⁻¹) que igualmente excedieron el nivel límite permisible para agua potable, el plaguicida no se acumula en el sedimento pero si el Mn. Armenta Arteaga *et al.* (2003) realizaron un estudio en el lago Mecoacan en el estado de Tabasco, buscando hidrocarburos policíclicos (PAH), hidrocarburos aromáticos (AH), bifenilos policlorados (PCB), plaguicidas persistentes clorados (PCP) y metales pesados, en muestras tomadas en febrero de 1993 y 1996 a fin de evaluar la toxicidad de estos compuestos debido a un derrame de petróleo. El estudio demostró la presencia de 2-clorobifenilo y endrín en los sedimentos de la muestra de 1996, sin embargo las concentraciones no revelaron datos de alarma toxicológica. Vidal Martínez *et al.* (2006) analizaron camarones rosados *Farfantepenaeus duorarum* y el sedimento que consumen en la zona de Campeche,

y se encontró una correlación positiva en las concentraciones biota/sedimento de DDT, PCB y PAH (2-3 anillos) en agua.

En la zona centro, Fernández-Bringas *et al.* (2008) reportaron plaguicidas OC en sedimentos, en muestras tomadas en noviembre del 2001 y en abril y junio del 2002, y de organismos colectados en julio del 2002 en la zona lacustre de Metztlán, Hidalgo, México. El análisis fue realizado con las metodologías UNEP/IAEA, 1982 para sedimentos y UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1986 para organismos. Los principales plaguicidas encontrados fueron γ -HCH, δ -HCH, p,p'DDT y sulfato endosulfán, y concluyeron que estos xenobióticos provenían de tierras agrícolas que se mueven hacia ríos y lagos, probablemente por la lluvia intensa. Estos dos últimos compuestos también se encontraron en tilapias. Valladolid (2009) reportó, en un estudio realizado en el curso alto del río Lerma, la presencia de los plaguicidas HCH (α , β , γ y δ) aldrín, dieldrín, endrín aldehído, endrín cetona, heptacloro y su epóxido, endosulfán I, endosulfán II, sulfato endosulfán, p,p'DDD, p,p'DDE, p,p'DDT, clordano y metoxicloro.

Técnicas analíticas para el estudio de plaguicidas en agua

El análisis químico de plaguicidas considera, por principio, sus propiedades físicas y químicas, así como el de la matriz en la que se encuentra, es por eso que se consideran la estructura química, el peso molecular, la tendencia a formar iones, la volatilidad, el coeficiente de reparto (K_{ow}), la solubilidad, la capacidad de ser sorbidos y el tiempo de vida media como los principales factores para la selección de las técnicas de análisis. Debido a que las matrices de análisis pueden ser muy variadas (agua, suelo, sedimentos, alimentos o fluidos biológicos), la complejidad de los métodos de extracción o preparación de las muestras es cada vez más sofisticada. Las técnicas más empleadas para preparar muestras para el análisis son la extracción líquido-líquido (ELL), la extracción en fase sólida (EFS), la cual puede realizarse por medio de cartuchos o membranas con fases estacionarias específicas o genéricas, o bien, por medio de columnas empacadas con diversos materiales, como gel de sílice, albúmina o florisil. Otra posibilidad es la microextracción en fase sólida (MEFS) y la extracción multiresidual. La mayoría de los estudios hacen referencia a los protocolos Environmental Protection Agency (EPA) para los análisis de laboratorio.

Para el análisis de trazas o microcontaminantes, la metodología de EFS tiene ventajas sobre la de ELL. Este procedimiento consiste en hacer pasar una cantidad conocida de la muestra líquida a través de un adsorbente sólido. El analito es el único componente retenido por la columna mientras que los otros componentes son eliminados por lavado y el compuesto separado es extraído

con un disolvente apropiado. Esta técnica tiene la doble ventaja de aislar y concentrar el analito en cuestión, el factor de enriquecimiento puede ser total (Gómez *et al.* 1995).

La EFS se realiza en una pequeña columna que contiene de 100 mg a 1g de adsorbente a base de gel de sílice modificada o de un copolímero (existe una gran gama para elegir). Este procedimiento es poco costoso y puede ser automatizado, es generalmente el más adecuado para compuestos hidrófobos o apolares, que para sustancias iónicas. La extracción es rápida, reproducible y sobre todo selectiva (Rouessac y Rouessac 2003).

La EPA proporciona diferentes protocolos estandarizados para la cuantificación de plaguicidas, como es el caso de la determinación de aldicarb, bromadiolona, carbofurán, oxamil y metomilo en agua. Los compuestos son analizados por inyección directa sin derivación por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) (EPA, STM D7600-09), con un límite de detección y cuantificación que va de 1 a 100 µg/L.

En el método 8270D (SW-846) de la EPA (1998), se presenta el procedimiento para compuestos orgánicos semivolátiles que determina alrededor de 60 plaguicidas OF en extractos preparados de varias matrices como suelos, aire y agua y derivando los ácidos fosfóricos con trimetilsilil, analizado con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Tiene un límite de detección y cuantificación de 10 a 1000 µg/L para soluciones acuosas.

En agua superficial y subterránea de la provincia de Almería, España, Martínez Vidal *et al.* (2004) determinaron más de 40 plaguicidas (OF y OC), mediante micro extracción en fase sólida (SPME) y analizados con GC-MS/MS. Se encontró con mayor frecuencia endosulfán alfa, sulfato endosulfán y etil clorpirifós en las aguas subterráneas y alfa, beta y sulfato endosulfán en aguas superficiales. El plaguicida encontrado con una mayor concentración fue el malatión.

Actualmente se han desarrollado métodos novedosos para determinar residuos de mezclas de plaguicidas OF en agua como el descrito por Zhen-Lin *et al.* (2012), quienes proponen la combinación de la extracción en fase sólida y un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (dcCL-EIA) para el monitoreo ambiental antes de cuantificar por GC-MS/MS. Este método reduce costos y tiempos de análisis.

En México se han reproducido y adaptado diferentes métodos para la determinación de plaguicidas en sistemas acuáticos, como los que se describen a continuación. En estudios realizados por Gómez *et al.* (1995), se compararon los dos métodos de extracción ELL con EFS de plaguicidas OF en agua y cuantificando por cromatografía de gases (GC). Se encontraron valores diferentes para los plaguicidas estudiados según la técnica de extracción empleada. El tiempo de retención para metil paratión (MP) fue de 17.34 min (Ultra 2 ®) y 21.33 min (SGE-1701®); para clorpirifós 18.39 min (Ultra 2 ®) y 21.68 min (SGE-1701®). El límite de detección fue de 0.024 y 0.091 ng/ μ L para MP y para clorpirifós 0.020 y 0.019 ng/ μ L. El porcentaje de recobro fue de 98.5% para MP con un CV de 7.9%, para clorpirifós 73.9% con un CV de 7.7 %.

Carrasco (2004) determinó MP en agua mediante ELL usando diclorometano como disolvente y cuantificación con GC. Se reportó un porcentaje de recobro de 93.0 %, límite de cuantificación de 0.46 μ g/mL y un límite de detección de 0.14 μ g/mL.

Gómez (2008) desarrolló y validó un método analítico para la extracción en fase sólida con cartuchos C₁₈ set pack® y cuantificación por GC-MS, de una mezcla de plaguicidas OF en agua (MP, clorpirifós y malatión), se reportaron tiempos de retención para MP de 26.15 min, para clorpirifós 28.24 min y malatión 27.90 min. La relación carga/masa (m/z) determinando los iones de MP fueron de 109, 263 y 247, para clorpirifós 197, 314 y 97 y malatión de 127, 158 y 173, la linealidad del sistema con $r^2 > 0.98$ para los tres plaguicidas, con un límite de cuantificación de 0.61 μ g/mL para MP, clorpirifós de 0.20 μ g/mL y malatión de 0.51 μ g/mL. Los porcentajes de recobro fueron de 98.42, 97.79 y 95.68 % respectivamente.

Análisis de plaguicidas en aire

Se realizó un estudio al sur de México, en el se tomaron muestras de aire en una granja de café localizada a 1300 msnm en Tapachula, Chiapas, en una localidad rural de Tabasco y en un sitio urbano en Veracruz. En los tres sitios se encontró DDT y sus metabolitos p,p'DDT; p,p'DDE. También se encontró endosulfán I y toxafeno. La presencia de los plaguicidas sugiere que la trayectoria del aire transporta los plaguicidas encontrados, se menciona que se están elaborando nuevos trabajos en los que se busquen otros plaguicidas. Los estudios se realizaron con muestreos cada quincena en aire de agosto del 2000 a junio del 2002 en Tapachula, y de octubre 2002 a agosto del 2003 en Chiapas. Se usó un analizador de aire alto volumen, donde 500m³ se pasaron a través de un cartucho de 10 cm de diámetro de poliuretano, posteriormente se extrajeron los filtros por

medio de una extracción Soxhlet única de 16 horas empleando éter de petróleo como disolvente, después se fortificaron y concentraron los extractos, se limpiaron pasándolos por una columna de óxido de aluminio y luego se derivatizaron para ser analizados por GC-MS/MS, empleando $^{13}\text{C}_{10}$ -PCB₁₀₅ como estándar interno adicionado justo antes del análisis.

Fueron reportadas concentraciones de 202 a 2021 pg/m³ de p,p' DDT + p,p' DDE en el aire del sureste de México, contra 3.6 a 670 pg/m³ en el sureste de Estados Unidos, endosulfán I de 78 a 367 pg/m³ contra 13 a 220 pg/m³ encontrados en los grandes lagos de este último país, de 10 a 130 pg/m³ en el sureste también del mismo. En Chiapas, México, sólo fue encontrado toxafeno de 65 a 505 pg/m³ contra 81 a 1400 pg/m³ en el sureste de Estados Unidos, dieldrín de 0.6 a 15 pg/m³ contra 19 a 38 pg/m³ en el sureste del mismo país. Algunos clordanos se reportaron en concentraciones de 7.3 a 190 pg/m³ contra 59 a 400 pg/m³ en el sureste de Estados Unidos, y HCH de 11 a 76 pg/m³ contra 30 a 135 pg/m³ también en el sureste de dicho país, en todos los casos los valores encontrados en Chiapas, México, fueron los mayores disminuyendo a la mitad en los muestreos del 2000-2001 a 2001-2003 (Alegría *et al.* 2005).

Otro tipo de estudios hablan sobre el uso de plaguicidas intramuros, los cuales han concluido que el uso de insecticidas en casa puede ser dañino para la salud y su exposición puede producir obstrucción de las vías respiratorias y síntomas clínicos como irritación, en especial con los derivados químicos inorgánicos (Rico Méndez *et al.* 2000).

Finalmente, otro tipo de información que preocupa son las noticias de la incineración de plaguicidas caducos en varios países de América Latina y África, dado que todos los tipos de incineradores liberan residuos peligrosos, ya sea gases de chimenea, o bien, cenizas que pueden contener metales pesados y productos de combustión incompleta, formándose de manera involuntaria nuevos compuestos orgánicos persistentes (COP), como dioxinas y furanos. De acuerdo con la EPA, los incineradores de residuos peligrosos liberan miles de productos de combustión incompleta (PCI) durante el proceso de incineración. Estas partículas son emitidas en los gases de chimenea y también depositadas en las cenizas residuales y líquidos de los incineradores de residuos peligrosos (Bejarano, 2012).

Según un informe de marzo de 2004, hay más de 25 proyectos de eliminación de plaguicidas caducos, muchos de ellos son COP. En el año 2001, CropLife declaró haber contribuido a la destrucción de 3,000 toneladas de plaguicidas obsoletos, incluidas 800 toneladas de plaguicidas COP. Para marzo de 2004 la cifra ya había

superado las 3,400 toneladas de plaguicidas obsoletos en los países en desarrollo. La destrucción se realizó básicamente por incineración, especialmente en África. En América Latina por ejemplo, en el año 2000 fueron incineradas en Brasil 1,200 toneladas de plaguicidas obsoletos mediante un proyecto conjunto entre la industria y el gobierno de ese país (Bejarano 2012). La preocupación no reside en la destrucción de los plaguicidas sino en la conexión entre el contenido de cloro de los residuos y la formación de dioxinas en la incineración (Bejarano 2012).

Consideraciones finales

Algunas de las consideraciones importantes para los análisis de plaguicidas son la limpieza exhaustiva de los materiales, la pureza de los disolventes, la toma de muestra y transportación de la misma. Se debe considerar, para las condiciones de almacenamiento, que muchos de los plaguicidas OF y carbámicos, tienen un tiempo de vida media muy corta y que algunos son lábiles a la luz, por lo que es esencial determinar la estabilidad de la muestra, en tiempo, temperatura y tipo de reservorios que se empleen. Las técnicas analíticas más empleadas para las determinaciones son la espectroscopia de radiación infrarroja y ultravioleta, GC o ELL empleando detectores variados, incluyendo la MS y resonancia magnética nuclear (RMN). Empleando eventualmente derivatización química de analitos polares para producir derivados térmicamente estables, no polares adecuados para la separación de GC seguido por detección de GC-MS/MS. El N-metil-N-(tert-butildimetilsilil)-trifluoroacetamida (MTBSTFA) es un excelente agente derivatizante, también suele emplearse trimetilsilil. En México existen pocos laboratorios con la infraestructura apropiada para realizar las derivaciones y la cuantificación de este tipo de compuestos con la alta sensibilidad, pues se requieren para evaluar los riesgos a la salud de los ecosistemas y del ser humano.

Referencias

- Agapito M. (2002). Patrón de uso de agroquímicos y concentración de plaguicidas organofosforados en agua y sedimentos, en la Cuenca Lechuguilla-Ohuira-Navachiste, Sinaloa, México. Licenciatura en Biología. Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Alegria H., Wong F., Bidleman T., Salvador-Figueroa M., Gold-Boucholt G., Waliszewski S., Ceja-Moreno V., Infanzón R. (2005). Ambient air levels of organochlorine pesticides in air in southern Mexico. *En: Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental. Tendencias y diagnóstico.* Botello A.V., Rendón von Osten J. Gold-Boucholt G., Agraz-Hernández C. Editores. 2ª edición. Universidad Autónoma de Campeche (México).

- Bejarano G.F. Guía ciudadana sobre los contaminantes orgánicos persistentes. Capítulo I. Antecedentes del Convenio de Estocolmo. Disponible en: http://ss1.webkreator.com.mx/4_2/000/000/025/a28/GCCE_capitulo1.pdf. Consultado 15 de marzo 2012.
- Amaya-Chávez A., Martínez-Tabche L., López-López E., Galar-Martínez M. (2006). Methyl parathion toxicity to and removal efficiency by *Typha latifolia* in water and artificial sediments. *Chemosphere*. 63:1124-1129.
- Armenta-Arteaga G., Elizalde-González M. (2003) Contamination by PAHs, PCBs, PCPs and heavy metals in the Mecoaefin Lake estuarine water and sediments after oil spilling. *Research Articles PAHs, PCBs, PCPs and heavy Metals*. 40 JSS – Journal of Soils & Sediments. 3(1):2-7.
- Botello A.V., Rueda-Quintana L., Díaz-González G., Toledo A. (2000). Persistent organochlorine pesticides (POPS) in coastal lagoons of the subtropical Mexican Pacific. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 64:390-397.
- Campos-Díaz M. (2004). Problemática actual de la contaminación de las aguas costera. Comisión de Derechos Humanos del Estado de México. CODHEM. México.
- Carter-Donna S. (1996). Determination of atrazine and its major degradation products in soil pore water by solid-phase extraction, chemical derivatization, and gas chromatography/mass spectrometry U.S. geological survey Open-file report 96-459.
- Carvalho F.P., González-Farías F., Villeneuve J.P., Cattini C., Hernández-Garza M., Mee L.D., Fowler S.W. (2002). Distribution, fate and effects of pesticide residues in tropical coastal lagoons of northwestern Mexico, *Environmental Technology*. Taylor & Francis. 23:11. 1257-1270. doi.org/10.1080/09593332308618321.
- Carrasco R.J.W. (2004). Análisis de metil paratión por cromatografía de gases. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Toluca, México.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). (2003). The Canadian Environmental Quality Guidelines, Report PN1299, Update 3.2. Winnipeg, Manitoba. 5.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1998). "Method 8270D (SW-846). Semivolatile organic compounds by gas chromatography/ mass spectrometry (GC/MS). Revision 4". <http://www.epa.gov/sam/pdfs/EPA-8270d.pdf>. Consultado marzo 2012.
- EPA (Environmental Protection Agency). "Method D7600-09: Standard test method for determination of aldicarb, carbofuran, oxamyl and methomyl by liquid chromatography/tandem mass spectrometry". <http://www.astm.org/Standards/D7600.htm>. Fecha de consulta 14 /03/2012.

- Fernández-Bringas L.M., Ponce-Vélez G., Calva B.L.G., Salgado-Ugarte I.H., Botello A.V., González G.D., Leyva-Cardoso D.O., Díaz-González G. (2003). Persisten organochlorine pesticides in coastal sediments from Petacalco Bay, Guerrero, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 71(6):1244-1252.
- Fernández-Bringas L.M., Ponce-Vélez G., Calva L.G., Salgado-Ugarte I.H., Botello A.V., Díaz-González G. (2008). Organochlorine pesticides in lacustrine sediments and tilapias of Metztitlan, Hidalgo, México. *Revista Biología Tropical*. 56:1381-90.
- Gómez C., Arufe M.I., Gomero J., Vizcaya M.A. (1995). Análisis de insecticidas organofosforados en agua por cromatografía de gases con dos columnas capilares de diferente polaridad. Comparación de dos métodos de extracción. *Revista de Toxicología*. España.
- Gómez R. (2008). Desarrollo y validación de un método de extracción y cuantificación por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas de una mezcla de plaguicidas organofosforados en agua. Tesis de Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México.
- González-Farías F., Cisneros-Estrada X., Fuentes-Ruíz C., Díaz-González G., Botello A.V. (2002). Pesticides distribution in sediments of a tropical coastal lagoon adjacent to an irrigation district in northwest Mexico. *Environmental Technology*. 23:1247-56.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2009). "Estadísticas a propósito del día mundial del agua". Datos Nacionales.
- Jenkins J.J. y Thomson P.A. (1999). Extension pesticide properties database, Oregon State University (OSU), Oregon State University Extension Service.
- Martínez-Vidal J.L., González-Rodríguez M.J., Belmonte-Vega A., Garrido Frenich A. (2004). Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería. *Ecosistemas*. 13(3):30-38.
- Melgar C., Geissen V., Cram S., Sokolov M., Bastidas P., Ruiz-Suárez L.E., Ramos F.J.Q., Sánchez A.J. (2008). Pollutants in drainage channels following long-term application of Mancozeb to banana plantations in southeastern México. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 171(4):597-604.
- Osuna-Flores I. y Riva M.C. (2004). Organophosphorous pesticide in shrimps, sediments and surface water from bay of Ohuira, Topolobampo, Sinaloa, Mexico. *Afinidad*. 61(513):387-392.
- PAN (Pesticide Action Network Pesticide Database). (2006). "Physical properties of pesticides". http://docs.pesticideinfo.org/documentation4/ref_waterair1.html. Consultado Febrero 2007.

- Rico-Méndez F.G., Ochoa-Jiménez L. G., Ocaña-Servín H., Escobedo-Arenas G., Cabrera-Ruiz M.A., Ávila A.J. (2000) Efecto de dos plaguicidas intramuros en la función respiratoria de una población mexicana. *Revista Alergia México*. 57(2):70-74. <http://www.salud.gob.mx/unidades/retomex/fulltxt/ntramuros.pdf>
- Rouessac F. y Rouessac A. (2003). *Análisis Químico*. Ed. Mac Graw Hill. España. 464 pp.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales). (2003). *Exposición a Plaguicidas*, Instituto Nacional de Ecología.
- UNICEF (United Nations International Children's Emergency Fund). (2009). "Situación en materia de agua y saneamiento ambiental" <http://www.unicef.org/spanish>. Consultado febrero 2012.
- Valladolid-Alcántara A.E. (2009). *Hidrocarburos aromáticos policíclicos y plaguicidas organoclorados en el curso alto del río Lerma*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química.
- Vidal-Martínez V.M., Aguirre-Macedo M.L. Del Rio Rodríguez R., Gold Bouchot G., Rendón-Von Osten J., Miranda-Rosas G.A. (2006). The pink Shrimp *Frarfatepenaeus duorarum*, its symbionts and helminths as bioindicators of chemical pollution in Campeche Sound, México. *Journal of Helminthology*. 80(2):159-174.
- Vázquez-Botello A., Rendón von Osten, Gold-Bouchot, Agraz-Hernández (Ed.). (2005). *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. UAC, UNAM, INE, SEMARNAT. Univ. J. AT, UIA, Gobierno del estado de Veracruz-COEPSA, H. Ayuntamiento de Coatzacoalcos, Veracruz. 456-532.

CAPÍTULO 9

PRODUCCIÓN FLORÍCOLA Y EL USO DE PLAGUICIDAS EN COMUNIDADES RURALES DEL MUNICIPIO DE ZINACANTAN, CHIAPAS

Héctor Ulises Bernardino-Hernández¹, Ramón Mariaca-Méndez¹, Austreberta Nazar-Beutelspacher¹, José David Álvarez-Solís¹, Arturo Torres-Dosal¹ y Crispín Herrera-Portugal²

Introducción

La agricultura de los países latinoamericanos ha recibido constantemente innovaciones tecnológicas de los países más desarrollados que promueven la artificialización de los ecosistemas (Pengue 2005), dichas innovaciones tienen relación con las tecnologías de manejo y, sobre todo, con el uso de insumos externos conocidos como agroquímicos (fertilizantes y plaguicidas) que tienden a mantener e incrementar la productividad agrícola.

México no ha sido la excepción a este fenómeno de modernización del campo. La adopción del paquete tecnológico conocido como Revolución Verde (Pichardo 2006), ha provocado un proceso hegemónico que ha influido sustancialmente en la presión del cambio tecnológico de la agricultura que practican los diferentes tipos productores, inicialmente los más beneficiados fueron los grandes agricultores altamente capitalizados (Kloppenburger *et al.* 1988), sin embargo, dicho proceso ha permeado hasta los pequeños productores de bajos recursos económicos y de subsistencia, cuyas tierras se encuentran en condiciones topográficas adversas. Para estos últimos, pese que aún mantienen formas y sistemas agrícolas tradicionales, sus actuales prácticas agrícolas son diferentes a las empleadas hace algunas décadas, ya que los conocimientos y tecnologías tradicionales han sido gradualmente sustituidos por las tecnologías de producción convencionales (Barg y Armand 2007).

En la región de los altos de Chiapas, México, desde hace varias décadas se han impulsado actividades agrícolas con una alta dependencia a los agroquímicos (Tinoco 2005). Por esto, el presente trabajo aporta elementos para el análisis de la situación actual del uso de plaguicidas en la floricultura de comunidades indígenas tzotziles del municipio de Zinacantán, Chiapas.

¹ El Colegio de La Frontera Sur, Unidad San Cristóbal. Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. C. P. 29290.

² Universidad Autónoma de Chiapas.

Este trabajo contribuye, en primera instancia, en hacer una revisión histórica del desarrollo de la floricultura en el municipio de Zinacantán; posteriormente se describirá el actual sistema de producción florícola de la región; en ambos apartados, se hace énfasis en las principales flores cultivadas, los problemas de plagas y enfermedades así como el uso de plaguicidas; finalmente se analiza la percepción que tienen los campesinos sobre el futuro de su sistema agrícola. Para conocer la situación actual de la floricultura en Zinacantán se aplicaron 149 encuestas estructuradas entre los meses de mayo y junio del 2011, en las comunidades rurales de Pinar Salinas (1796 msnm), Patosil (2358 msnm), Bochobjo (2465 msnm), Tzajalnam (2333 msnm), y su cabecera municipal (2145 msnm) (INEGI 2010) (Figura 9.1).

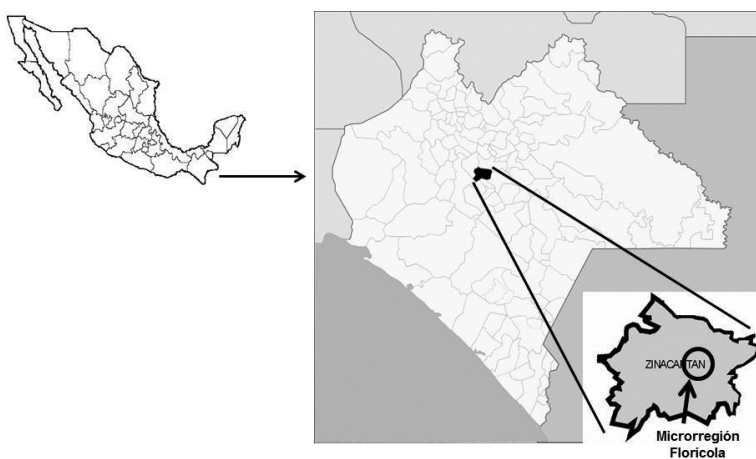


Figura 9.1. Ubicación de la zona de estudio en Zinacantán, Chiapas, México.

Antecedentes del desarrollo de la floricultura en Zinacantán, Chiapas

La cultura de los pobladores de Zinacantán ha mantenido patrones tradicionales de actividad y de creencias que están fuertemente acompañados de un sistema de símbolos que relaciona el uso de flores, de tal manera que el campesino zinacanteco siembre sus propias flores para cubrir estas necesidades (Bunnin 1980). Sin embargo, esta actividad agrícola ha sufrido fuertes cambios a través de las últimas décadas, dichos cambios son resultado de la expresión de un proceso histórico-social, ecológico y técnico (Díaz *et al.* 1998). Al respecto, se pueden apreciar tres etapas bien definidas de la floricultura zinacanteca:

Etapas inicial. La floricultura nace con siete campesinos en la comunidad de Nachig en la década de 1940, para 1949 se incorporan tres productores de la comunidad de Navenchaug y para 1956 prácticamente todo el paraje se dedicaba

a esta actividad. Durante esta etapa, la floricultura constituyó una actividad complementaria a la milpa. La siembra de flores se realizaba entre los surcos limitados por los de maíz (*Zea mays*) y como relevo del mismo cultivo, es decir, se rotaba el cultivo de maíz con el de las flores. La floricultura era a cielo abierto y las herramientas empleadas eran las mismas que se utilizaban para el maíz. Durante esta etapa no hay reportes de plagas, enfermedades ni agroquímicos, lo anterior, debido a que las condiciones naturales aún no se habían alterado. La fertilización se realizaba de manera natural a través de la utilización de estiércol de oveja por algunos campesinos. Los cultivos principales fueron el cartucho (*Zantedeschia aethiopica*), azucena (*Lilium spp.*), dalia (*Dhalia spp.*), geranio (*Pelargonium spp.*) y gladiola (*Gladiolus spp.*). Las primeras especies crecían de manera silvestre, por lo que su cultivo no requería demasiada inversión de trabajo (Bunnin 1980).

Etapa de expansión. Se presenta entre 1970 y 1980 la influencia de los conocimientos asociados al uso de agroquímicos aplicados a la producción de maíz, lo que permitió la extensión de la floricultura y la gradual incorporación a esta actividad de campesinos de los parajes de Patosil, Bochobjó, Salinas y de la cabecera municipal. Las especies que se introdujeron en la región durante esta etapa fueron la margarita (*Chrysanthemum leucanthemum*) y el clavel (*Dianthus caryophyllus*), especies que empezaron a competir con las silvestres. Los principales agroquímicos utilizados para esta etapa se relacionan con los fertilizantes químicos utilizados en el cultivo de maíz: urea, superfosfato simple, triple superfosfato y triple 17. No está documentada la diversidad de plaguicidas, sin embargo, podemos suponer que los campesinos zinacantecos trasladaron su experiencia de aplicación de insumos externos del cultivo de maíz a las parcelas florícolas. El uso de herbicidas probablemente fue una práctica para el control de malezas, además, implicó la utilización de nuevas herramientas de trabajo como la bomba aspersora.

Etapa de proliferación de la floricultura. La modernización de la floricultura se desencadena en la comunidad de San Nicolás con la construcción del primer invernadero en la década de 1980 y la introducción del cultivo de crisantemo (Díaz 1998). Para 1994, existían 782 unidades de producción sobre una superficie de 20.86 hectáreas, concentrándose aproximadamente el 70% de estas unidades de producción en tres localidades: Patosil, Nachig y la cabecera municipal. Para 1998 se estimaba la existencia de 1336 invernaderos en una superficie de 89 hectáreas (Cantoral 2001) y para el 2006 la región contaba con más de 1500 invernaderos (Jerónimo 2007). Esta etapa se caracterizó principalmente por el cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum spp.*) en sus diferentes variedades y nombres locales (pompón, estándar, spider, polar, indianapolis, tejano, palillo,

oro, polaris; cayetano, holandesa, bola de nieve), seguido de la rosa y algunas de sus variedades (*Rosa spp.*), margaritas (*Chrysanthemum leucanthemum*), clavel (*Dianthus caryophyllus*), gladiolo (*Gladiolus spp.*), nube (*Gypsophila paniculata*), y en menor importancia, el agapando (*Agapanthus umbellatus*) y alcatraz (*Zantedeschia aethiopica* L.). A finales de esta etapa, se introdujeron el solidago (*Solidago x hybrida*) y áster (*Áster spp.*) como flores de relleno (Jerónimo-Cipriano 2007).

Los problemas reportados fueron el ataque de insectos (araña roja: *Tetranychus urticae*, el minador de la hoja: *Lyriomiza trifolii* y el trips: *Thrips spp.*) y diversos problemas de origen fúngico (tizón, pudrición del tallo, marchitez, manchas foliares y más recientemente la cenicilla, roya, moho gris, mancha negra y chancros de los tallos). Durante esta etapa, todas las especies fueron cultivadas mediante un paquete tecnológico conformado por una variedad de fertilizantes y plaguicidas. Con respecto a los fertilizantes, a finales de la década de 1990, se incorporaron los fertilizantes foliares (cloruro de potasio) y reguladores del crecimiento, mientras que los plaguicidas utilizados habían sido el paratión metílico, metamidofos, aldicarb, tiram, omeotato, pirimicarb, mancozeb, fosetil-Al, sulfato de cobre, iprodione, benomilo, deltametrina, clorpirifós etil, triadimefón, bupirimate, y la bifentrina. Este último, fue un insecticida de moda para el control de la araña roja (Díaz 1998; Cantoral 2001).

Como se puede apreciar, la fertilización natural se dejó de utilizar muy rápidamente y de la misma manera se difundió el uso de agroquímicos a la región. Hasta la década de 1940 para el territorio mexicano, específicamente del Valle de Mexicali, se usaban abonos naturales y compuestos inorgánicos como el arseniato de plomo, arsénico blanco y verde de París, para el control de plagas en el cultivo de algodón (*Gossypium spp.*) (Moreno y López 2005). Sin embargo, la introducción del paquete tecnológico de la Revolución Verde en el territorio mexicano se presentó muy fuerte en los estados del norte y, gradualmente, fue avanzando hacia los estados del centro y sureste mexicano. El caso del Valle de Mexicali, se detona con el desarrollo agrícola de la región entre 1940 y 1960. Se usaron diversos productos, principalmente, organoclorados (OC) como el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) más toxafeno y azufre; posteriormente, en 1954, se introdujeron en la región los organofosforados (OF) como el Paratión etílico y malatión y el carbamato carbaril. Para 1969, se reportó el uso frecuente de 12 OC (Azodrín, BHC, bildrín, dieldrín, DDT, endrín, perthane, sevin, thiodan, toxafeno, clordano y sevin), 7 OF (carbicron, dipterex, gusatión, malatión, paratión metílico y fosdrín) y un nitrofenol (acaricida). Para la década de 1980 se siguieron utilizando OC, OF, carbamatos y se introduce el uso de piretrinas y piretroides (Moreno y López 2005).

En el caso de Morelos, la introducción se presenta a mediados de la década de 1950 y principios de la década de 1960 (Sánchez y Betanzos 2006), mientras que para Chiapas, este fenómeno se presentó a mediados de la década de 1960, mediante un programa de asistencia técnica y campaña intensiva de promoción de estos insumos por parte de la Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos y apoyos a través de créditos bancarios (principalmente el Banco Nacional de Crédito Rural-BANRURAL) (Tinoc 2005).

El mismo fenómeno de difusión de OC y, posteriormente, de OF, se observó en algunos países latinoamericanos como Venezuela y Perú a mediados de la década de 1950 (Isea *et al.* 2009; Montoro *et al.* 2009). Para el caso de Colombia, la floricultura surgió en la década de 1960 como una actividad de exportación. El crecimiento de esta actividad ha sido muy rápido a partir del enfoque agroquímico, llegando a ser el segundo lugar de exportación de flores de corte, sin embargo, para su producción se emplean una diversidad de plaguicidas de todas las categorías, predominando los pertenecientes a la CT I y II y al grupo de los ditiocarbamatos, OC y en menor proporción los OF (Varona *et al.* 2005). En general, para América Latina la demanda de plaguicidas se ha incrementado, elevándose de una tasa anual del 8.4% en 1970, al 36% en 1980; Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay han sido los países con un creciente consumo de plaguicidas, principalmente del grupo de los herbicidas (Pengue 2005).

El presente de la floricultura zinacanteca

En el 2011 se identificaron, principalmente, cultivos de especies de flores de la familia *Asteraceae*. Aproximadamente el 74.5% de los usuarios siembran diferentes variedades de crisantemo (pompón, holandesa, galletano, palillo, polar, tejana, moreliana, codorniz, leonora, flamingo), margarita, aster y dalia; el 19.4% cultiva diversas variedades de especies de la familia *Rosaceae*, es importante resaltar que el cultivo de esta última familia se encuentra en los invernaderos con las mejores condiciones de infraestructura de la región; mientras que el 3.4% de los floricultores reportaron la siembra de especies de la familia *Caryophyllaceae* (clavel, nube) *Amarilidáceae* (agapando) y *Alstroemeriacae* (astromelia).

Los principales problemas son el ataque de diversos insectos, principalmente el trips (64.4%), la araña roja (49.0%), diversos gusanos que atacan la raíz, el tallo y las hojas (40.3%), el pulgón (12.8%; *Myzus persicae*), la mosquita blanca (25.5%) *Trialeurodes vaporariorum*), mientras que solamente un 7.4% de los floricultores mencionaron el ataque de moluscos, hormigas y ciempiés. En el grupo de las enfermedades de origen fúngico, en orden de importancia, están la roya (45.0%),

la pudrición de la planta (raíz, tallo, hojas; 41.6%), cenicilla (30.9%) y un grupo de signos de daño en la planta como el amarillamiento, deformación, desecación y caída de hojas y/o flores (10.7%); mientras que un 12.8% de los usuarios consideraron un problema el crecimiento de malas hierbas en sus parcelas.

Para enfrentar estos problemas los productores utilizan diversos tipos de plaguicidas. Al respecto, se identificaron 45 ingredientes activos, predominando los fungicidas e insecticidas (44.4% y 42.2%, respectivamente) y en menor medida los herbicidas (11.1%) y bactericidas (2.2%) (Tabla 9.1). El patrón de uso de plaguicidas es parecido al reportado por González-Arías *et al.* (2010) en veinte cabeceras municipales para Nayarit, México.

Tabla 9.1. Plaguicidas por tipo y categoría toxicológica (CT) utilizados en el sistema de producción florícola de Zinacantán, Chiapas, México.

Tipo de plaguicida	CT I	CT II	CT III	CT IV	Total
Insecticida	6	6	4	3	19
Herbicida		1	2	2	5
Fungicida			3	17	20
Bactericida				1	1
Total:	6	7	9	24	45

Fuente: Trabajo de campo (2011); INE (2004).

Se identificó el uso muy frecuente de insecticidas de la CT I y II (13.0% para cada CT respectivamente). Para la CT I predominan los ingredientes activos pertenecientes al grupo de los OF, sin embargo, la abamectina que pertenece al grupo de las pentaciclinas es el insecticida de moda para el control de araña roja y trips (Tabla 9.2). Con respecto a la CT II, destacan los ingredientes activos del grupo de los carbamatos, bipiridilos (paraquat), OF y OC (endosulfán). Para la CT III destaca el insecticida spinosad (sin clasificación por el INE, 2004) y el fungicida myclobutanil (triazol). Los fungicidas predominan en la CT IV, donde el mancozeb (ditiocarbamato) y el triforine (piperazina) son los más frecuentemente empleados (Tabla 9.2).

De acuerdo con los reportes históricos (Díaz *et al.* 1998; Cantoral 2001), desde la década de 1980 diversas instituciones han proporcionado asesoría técnica y financiamiento a los productores florícolas de Zinacantan, como el Instituto Nacional Indigenista (INI), la Secretaría de Agricultura y Ganadería del Estado de Chiapas, el Banco de Crédito Rural del Istmo (BANRURAL), el Fondo Nacional de Empresas de Solidaridad (FONAES) y el Fideicomiso Instituido en Relación a la Agricultura (FIRA), principalmente. Todas estas instituciones han participado en la asesoría y financiamiento sobre el manejo de cultivos (principalmente el crisantemo), la construcción de infraestructura, dotación y

manejo de insumos para el control de plagas y enfermedades, así como de fertilizantes; sin embargo, ninguna institución ha otorgado una asesoría que incluya el manejo integral de la floricultura.

Tabla 9.2. Plaguicidas por clasificación y Categoría Toxicológica (CT) utilizados en el sistema de producción florícola de Zinacantán, Chiapas, México.

Categoría de plaguicida	CT I	CT II	CT III	CT IV
Alcoil fosfosfato				Fosetil-Al
Antibiótico				Oxitetraciclina
Aromático policlorado				Clorotalonil* (+ cimoxanil)
Benzimidazol			Tiabendazol	Carbendazim, Tebuconazole
Benzoilurea				Lufenoxuron
Bipiridilo		Paraquat*		
Carbamato		Metomilo, carbofurán		Propamocarb clorhidrato
Carbamato + imidazol				Propamocarb clorhidrato + Fenamidona
Carboxamida				Captan
Ciclohexanodiona			Clethodim	
Clorobenceno				Quintozeno*
Clorofenoxi			2-4 D	
Ditiocarbamato				Mancozeb
Estrobulurina				Trifloxystrobin
Fosfometilglicina (fosfosfato)				Glifosato
Inorgánico				Azufre elemental
Metoximinoacetato de estrobulurina				Kresoxim metil
Nitroanilina				Dicloran
Organoclorado		Endosulfán		
Organofosforado	Metamidofos* Paratión metílico, terbufos, etoprofos, monocrotófos	Metoato, cadusafos, isazofos	clorpirifos etil	
Pentaciclina	Abamectina			
Piperazina				Triforine
Piretroide			Deltametrin, Lambda cyhalotrina	
Pirimidina (estrobulurina+triazol)				Azoxistrobin
Tiocarbamato				Tiofanato-Metílico
Triazina				Cyromacina
Triazina				Atrazina
Triazol			Myclobutanil	Flutriafol
Triazol + anilino pirimidina			Propiconazol	
Sin clasificación			Spinozad	Mandipropamida

*Uso restringido según COFEPRIS (2011). Fuente: Trabajo de campo (2011); INE (2004).

Lo anterior se hace evidente en la situación actual de los floricultores. Aquellos que se han organizado y cuentan con las posibilidades económicas, han buscado asesoría técnica y financiera para el manejo agroquímico de sus cultivos, pero la gran mayoría de los productores mantiene un patrón de trabajo individual y no recibe ningún tipo de asistencia técnica por personal calificado. La elección del tipo de plaguicida a usar está en función de su capacidad económica, la experiencia previa y las recomendaciones de familiares, amigos y principalmente del personal de los establecimientos comerciales que ofertan los insumos, esto último, es similar con lo reportado por Ruíz *et al.* (2011) en el cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México.

De acuerdo con lo anterior, la solicitud de insumos químicos para garantizar y sostener la rentabilidad de sus sistemas de producción, así como la correspondiente asistencia técnica gubernamental en su manejo es generalizada entre los campesinos. Cabe señalar que no se refiere a un manejo seguro de los plaguicidas, sino a las dosis e ingredientes activos que garanticen una mayor eficiencia en el control de los problemas.

La visión campesina se ha limitado a los resultados que ofrecen los insumos externos, es decir, los que garantizan el retorno de la inversión y la obtención de ganancias para sostener a su familia. A pesar del uso frecuente de estos insumos, los campesinos han calculado pérdidas de entre el 30 y 40% de su producción atribuyéndolas, principalmente, al daño ocasionado por las plagas y enfermedades. Sin embargo, no consideran la relación entre la suficiente fertilidad de los suelos con una adecuada nutrición vegetal, mencionando que el suelo no tiene importancia, simplemente es el lugar donde se fija la planta, lo importante son los fertilizantes que se aplican, ya que son para ellos, el principal factor de crecimiento de la planta. La fertilización se ha basado en la observación empírica de los rendimientos obtenidos de los cultivos por parte de los campesinos y la aplicación de fertilizantes se ha realizado sin un diagnóstico previo (análisis de suelos y requerimientos nutrimentales de los cultivos). El manejo inadecuado de fertilizantes sintéticos causa alteraciones negativas en las actividades fisiológicas de la planta y como consecuencia, alteraciones en el rendimiento (Mehdi *et al.* 2001).

Con respecto a los plaguicidas, los floricultores zinacantecos consideran a estos productos como medicinas, como una solución a los problemas que presentan sus cultivos. Esta percepción se explica desde el significado en la lengua tzotzil el concepto de plaguicida que está relacionado con dos vocablos de su lengua: la palabra *pox* tiene diversos significados, por un lado, es la denominación de una bebida alcohólica tradicional fabricada a partir de maíz o caña de azúcar, y

por el otro, se refiere a la denominación de un remedio o medicina para curar las enfermedades, e incluso, también la misma palabra se puede referir a un veneno. Por lo tanto, el concepto de plaguicida se forma por la interacción de estos vocablos: *pox nichim* o *poxil nichim*, que sería el remedio o la medicina para curar las enfermedades de la flor, o en su caso, el veneno para las flores. Esta misma percepción se da entre los campesinos de la región de los altos de Morelos, México (Betanzos 2007; Sánchez y Betanzos 2006).

De esta manera, un plaguicida sirve para curar las enfermedades de la planta, o bien, para matar a los insectos que están provocando el daño. Con este término los floricultores tzotziles reconocen que son productos tóxicos para las plagas y enfermedades, pero también consideran que son peligrosos para su salud y el ambiente, sin embargo, dependen de su uso para garantizar su producción y desconocen otras alternativas para enfrentar a las plagas y enfermedades. Esta misma percepción de dependencia hacia los plaguicidas es reportada entre los campesinos de Carchi, Ecuador (Sherwood *et al.* 2007).

Es importante señalar que se observó un uso frecuente de varios ingredientes activos prohibidos, restringidos o eliminados en Estados Unidos, de los cuales destacan: el metamidofos (OF, CT I), el paraquat (bipiridilo, CT II), el 2,4-D (clorofenoxi, CT III) y el endosulfán (OC, CT II). Además de lo anterior, el paraquat forma parte de la llamada docena sucia, que en más de 80 países lo han prohibido, cancelado el registro o restringido severamente (Madeley 2003) tal es el caso de Ecuador, Colombia y Costa Rica, en donde ya se prohíbe su importación y uso (ILA 2006). A diferencia de México, donde aún se utilizan, y solamente algunos de ellos son considerados de uso restringido, como el metamidofos, paraquat, el clorotalonil (aromático policlorado, CT III) y el quintozeno (clorobenceno, CT IV) (COFEPRIS 2011), además de que se comercializan libremente y sin control.

El uso de una gran diversidad de fungicidas de la CT IV, probablemente está asociado a la resistencia que han desarrollado las diferentes cepas de hongos a los diversos productos (Sherwood *et al.* 2002; Ponce-González *et al.* 2002), por lo que los campesinos los utilizan para controlar y prevenir las enfermedades de origen fúngico, además, el material vegetativo que se utiliza se adquiere sin ninguna norma fitosanitaria y los suelos están altamente contaminados debido al uso intensivo que se les ha dado durante períodos prolongados de tiempo (Ancurio 2010).

Cuando se altera el equilibrio natural de los suelos con la frecuente aplicación de fertilizantes minerales sintéticos, se provoca un desequilibrio fisiológico de

los vegetales que se evidencia en ataques de enfermedades y plagas, como consecuencia, se requiere de la aplicación de distintos plaguicidas. Estos productos provocan nuevas destrucciones y más desequilibrios, por lo que el productor busca otros productos más eficaces repitiendo el círculo vicioso (Barg y Armand 2007).

De acuerdo con lo anterior, el futuro de la floricultura zinacanteca no es alentador. La existencia de una enorme brecha entre los factores básicos (recursos naturales y mano de obra) y los factores avanzados (conocimientos, información y tecnología) (Orozco y Mendoza 2003), impiden el desarrollo de un modelo florícola que satisfaga la calidad de los productos que demandan los mercados locales y regionales, y se garantice el cuidado del ambiente y la salud de los productores y del público consumidor.

En la región de los altos de Chiapas no hay estudios que relacionen el daño a la salud con el uso de plaguicidas, sin embargo, de la totalidad de casos de intoxicación por plaguicidas en México durante el período de 1990 a 2010 (88 027 casos), Chiapas ocupa el sexto lugar con el 5.6% de los casos, por arriba de los principales estados productores de flores (Morelos, Puebla y Estado de México, con el 4.9%, 3.5% y 3.1%, respectivamente) solamente superado por Michoacán con el 6.0%. Sin embargo, si consideramos los casos durante el período de 2000 a 2010 (40 402 casos), Chiapas ocupa el segundo lugar con el 7.0% de los casos, superando nuevamente a Michoacán, Puebla, Estado de México y Morelos (4.6%, 4.1%, 3.8% y 3.4%) (Secretaría de Salud 2010). Lo anterior es preocupante ya que se ha observado en Chiapas una tendencia hacia el aumento de casos de intoxicación por plaguicidas con respecto al resto del país, además, varios de los ingredientes activos que se identificaron en Zinacantán, han sido asociados con daño genotóxico en campesinos de Morelos y Sinaloa (Martínez-Valenzuela *et al.* 2009), por lo tanto, se puede suponer que la salud de los usuarios se encuentra en alto riesgo.

Finalmente, debemos mencionar que es urgente y necesario que los diferentes actores sociales relacionados con la floricultura, se involucren en un cambio hacia un modelo florícola de bajos insumos (Sherwood *et al.* 2002), basándose no solamente en la capacitación sobre el buen uso y manejo de plaguicidas, sino considerar la difusión de alternativas agroecológicas que disminuyan gradualmente el uso de estos insumos (Yong y Leyva 2010).

Consideraciones finales

Existe una incertidumbre entre los campesinos para garantizar la sostenibilidad de su sistema florícola a mediano y largo plazo, debido a la diversidad de problemas y la dependencia hacia los plaguicidas. En este estudio se identificaron 46 ingredientes activos de distintas categorías toxicológicas, algunos de ellos prohibidos en otros países y restringidos en México, y que se están utilizando desde hace más de cuatro décadas sin control, lo que representan un serio riesgo a la salud pública y el ambiente. Es prioritario iniciar con programas de manejo seguro de plaguicidas y el impulso de alternativas agroecológicas que promuevan la reconversión de este sistema convencional a un sistema de bajos insumos e incluso, sustentable, aprovechando la disposición de algunos campesinos con la iniciativa para experimentar con alternativas orgánicas de fertilización y manejo de plagas y enfermedades.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el CONACYT a través del proyecto No. 132979, denominado "Utilización de plaguicidas y percepción de riesgos en comunidades rurales de Los Altos de Chiapas, México".

Referencias

- Ancurio V.R.D. (2010). Técnicas de prevención y control de *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* en clavel (*Dianthus caryophyllus*) y su incidencia en la productividad. Tesis de Magister. Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 98 p.
- Barg V.R. y Armand U.F.Q. (2007). Agricultura agroecológica - orgánica en el Uruguay. Principales conceptos, situación actual y desafíos. RAP-AL Uruguay. Montevideo, Uruguay. 80 pp.
- Betanzos O. P. (2007). Horticultores de los altos de Morelos y su percepción de los fumigantes. Sólo el veneno hace daño. *En: Regiones. Suplemento de Antropología. Diario El Regional. 26:4-5.*
[http:// www.elregional.com.mx/suplementos/regiones.php](http://www.elregional.com.mx/suplementos/regiones.php).
- Bunnin N. (1980). La industria de las flores en Zinacantán. *En: Los Zinacantecos.* Evon Zartman Vogt (editor). INI, México. pp 208-232.
- Cantoral M.S.G. (2001). La comercialización de la producción florícola de Zinacantán en el mercado Nacional y su perspectiva ante el TLC de 1994-1999. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. 185 p.

- COFEPRIS (2011). Registros de plaguicidas autorizados por categoría toxicológica. Secretaría de Salud. Viernes 6 de mayo de 2011. Consultado en mayo 2011:
http://www.google.com.mx/#hl=es-419&rlz=1W1ADSA_esMX471&slclient=psy-ab&q=registro+de+plaguicidas+autorizados+por+cofepris+2011&rlz=1R2ADSA_esMX471&oq=registro+de+plaguicidas+autorizados+por+cofepris+2011&aq=f&aqi=&aql=&gs_l=serp.3...6370.17350.0.19030.59.28.0.0.0.0.0.0...0.0.W7co6Ma4V6I&pbx=1&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.r_qf.,cf.osb&fp=82ab46d6767cfd3&biw=1600&bih=688. 119 pp.
- Díaz C.J.M., Ordoñez M.C.E., González P.J.R., Parra V.M. (1998). La microrregión florícola de Zinacantán y las perspectivas de desarrollo rural regional. *Revista de Geografía Agrícola*. 26:347-372.
- González-Arías. C.A., Robledo-Marengo M.L., Medina-Díaz I.M., Velázquez-Fernández J.B., Girón-Pérez M.I., Quintanilla-Vega B., Ostrosky-Wegman P., Pérez-Herrera N.E., Rojas-García A.E. (2010). Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 26(3):221-228.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). (2010). Censo de población y vivienda 2010. Principales resultados. México.
- ILA (Instituto Laboral Andino). (2006). Por la prohibición de la “Docena sucia”. No a los plaguicidas más nocivos. Documento de trabajo No. 5. Consejo Consultivo Laboral Andino, Instituto Laboral Andino y Comité Sindical Andino de Salud Laboral y Medio Ambiente del CCLA. Primera Edición. Lima, Perú. 40 pp.
http://www.ila.org.pe/publicaciones/docs/doc_05_plaguicidas.pdf.
- Isea F.G.A., Huerta M.L.J., Rodríguez R.I.E. (2009). Desarrollo histórico de la legislación sobre plaguicidas organoclorados en Venezuela. *Revista Ciencias de la Salud*. Bogotá, Colombia. 7(1):47-64.
- Jerónimo C.B.E. (2007). Constitución y operación del Sistema Producto Ornamentales, el caso de la floricultura de Los Altos de Chiapas. Proyecto de Desarrollo para obtener la Especialidad en Planeación y gestión del desarrollo. ECOSUR, CIESAS, PROIMMSE-UNAM, PRONATURA Chiapas, UACH, UNACH. 117 pp.
- INE (Instituto Nacional de Ecología) (2004). Sistema de consulta de plaguicidas. Fichas técnicas de plaguicidas incluidos en el catálogo CICOPAFEST 2004. Consultado noviembre 2011:
<http://www2.ine.gob.mx/sistemas/plaguicidas/busquedas.html>.
- Kloppenburger J.Jr., Kleinman D.L., Otero G. (1988). La biotecnología en Estados Unidos y el Tercer Mundo. UNAM. *Revista Mexicana de Sociología*, 50(1): 97-120.

- Madeley J. (2003). Paraquat, el controvertido herbicida de Syngenta. Berne Declaration, Swedish Society for Nature Conservation, Pesticide Action Network UK, Pesticide Action, Network Asia Pacific, Foro Emaús, RAP-AL. Costa Rica. 51 pp.
- Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S., Félix-Gastélum R., Álvarez-Torres A. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa state, México. *Environment International*. 35(8):1155-1159.
- Mehdi S.M., Sahkir A., Sadiq M., Sarfaraz M., Hassan G., Akhtar J., Jarnil M. (2001). Effect of phosphorus, zinc and farm yard manure in the presence of nitrogen and potash on NP and Zn concentration in rice. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 4(4):342-343.
- Montoro Y., Moreno R., Gomero L., Reyes M. (2009). Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú. *En Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública*. 26(4):466-472.
- Moreno M.J.A., López L.M.G. (2005). Desarrollo agrícola y uso de agroquímicos en el valle de Mexicali. *Estudios Fronterizos*. 6(12):119-153.
- Orozco H.M.E. y Mendoza M.M. (2003). Competitividad local de la agricultura ornamental en México. *Ergo Sum*. 10(1):29-42.
- Pengue W.A. (2005). Agricultura industrial y transnacionalización en América latina. ¿La transgénesis de un continente? Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. Textos Básicos para la Formación Ambiental. México. 220 pp.
- Pichardo G.B. (2006). La Revolución Verde en México. *Revista Agraria*. 4:40-68.
- Ponce-González F., García-Aguirre M.G., Lozoya-Saldaña H., Herrera-Suarez T. (2002). Resistencia de *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr., a dos fungicidas benzimidazoles utilizados en la floricultura. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*. 8(1):95-105.
- Ruíz N.R.E., Ruíz N.J.A., Guzmán-González S., Pérez-Luna E.J. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. (2):129-137.
- Sánchez S.K. y Bentanzos O.P. (2006). Aspectos socioeconómicos y culturales en el uso de agroquímicos y plaguicidas en Los Altos de Morelos, México. *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*. 3:33-47.
- Secretaría de Salud. (2010). Casos de intoxicación por plaguicidas en México de 1994 a 2007. Anuarios de morbilidad. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE). México. <http://www.dgepi.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>.
- Sherwood S., Cole D., Paredes M. (2002). "Reducción de riesgos asociados con los fungicidas: técnicamente fácil, socialmente complejo". *En: Memorias*

- del Taller Internacional Complementando la Resistencia al Tizón (*Phytophthora infestans*) en los Andes. Fernández-Northcote E.N. (ed.). GILB-Centro Internacional de la Papa, Cochabamba. Quito, Ecuador. pp 93-109.
- Sherwood S., Cole D., Murray D. (2007). Ya es momento de prohibir los plaguicidas peligrosos. LEISA. Revista de Agroecología. 23(3):35-37.
- Tinoco O.R. (2005). La construcción local de padecimiento: intoxicaciones por plaguicidas en localidades tojolabales. En: Actores y realidades en la Frontera Sur de México. Coord.: Ángeles H., Huicochea L., Saldívar A. y Tuñón E. (coord.). COESPO y ECOSUR. Chiapas, México. pp 261-283.
- Varona M.E., Tolosa J.E., Cárdenas O., Torres C.H., Pardo D., Carrasquilla G., Frumkin H. (2005). Descripción del uso y manejo de plaguicidas en las empresas de flores afiliadas a Asocolflores. Revista Biomédica. 25(3): 377-389.
- Yong A. y Leyva A. (2010). La biodiversidad florística en los sistemas agrícolas. Revista Cultivos Tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba. 31(4): 5-11.

PARTE IV

DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA EL TRATAMIENTO Y/O DISPOSICIÓN FINAL DE LOS PLAGUICIDAS

CAPÍTULO 10

TRANSFORMACIÓN ENZIMÁTICA DE PLAGUICIDAS

Lucía Perezgasga, Cristina Torres-Duarte y Rafael Vázquez-Duhalt ¹

Introducción

El aumento constante de la población a nivel mundial, la demanda de una mayor cantidad de alimentos, así como el decremento en el área utilizable para las actividades agropecuarias, ocasionada por la desertificación y el crecimiento urbano, entre otras causas, han traído como consecuencia el desarrollo de tecnologías que logran una mayor eficacia en la obtención de insumos, provocando con ello un impacto negativo en el ambiente. Los plaguicidas causan numerosos problemas, entre los que destacan su acumulación y persistencia en el ambiente, además del riesgo que representan para la salud humana. Aunado a esto, las plagas van generando resistencia, y para combatirlas, cada vez se requiere de sustancias químicas más sofisticadas y difíciles de degradar.

Un plaguicida se define como cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores causantes de enfermedades humanas y animales, así como especies no deseadas que un causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal (SEMARNAP e INE 1996). Desde el punto de vista toxicológico, las formulaciones de plaguicidas, además del principio activo, incluyen sustancias transportadoras, diluyentes como el agua o solventes orgánicos, aditivos e impurezas, que son por sí mismos potencialmente tóxicos.

La industria de los plaguicidas tuvo su auge después de la Segunda Guerra Mundial, debido al descubrimiento de las propiedades insecticidas del dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), molécula sintetizada por el químico alemán Othmar Zeidler en 1874. Es un compuesto organoclorado (OC) recalcitrante y sumamente tóxico. A partir de 1939, el DDT se utilizó en forma masiva para combatir a los insectos transmisores del tifus y de la malaria. Para la década de 1970 se prohibió su uso tras demostrarse los efectos negativos que ejercen sobre diferentes especies, incluyendo la humana.

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001, col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62510.

El uso indiscriminado de los plaguicidas ha ido acompañado de efectos adversos debido a su persistencia en el ambiente, su bioacumulación en la cadena alimenticia y los riesgos que representan para las especies no blanco. Aunque la mayoría de los nuevos plaguicidas son menos persistentes y bioacumulables, algunos son más móviles en el ambiente. Se calcula que sólo el 5% de los plaguicidas atacan a su organismo blanco; el resto es arrastrado al agua o se disipa en el suelo o aire (Dávila-Vázquez *et al.* 2005). Muchos de los plaguicidas utilizados en el suelo pueden terminar contaminando ambientes acuáticos, ya que se han encontrado rastros de plaguicidas en lluvia, niebla y nieve (Atterby *et al.* 2002).

De acuerdo al organismo sobre el que actúan, los plaguicidas se pueden clasificar en: insecticidas, herbicidas, acaricidas, rodenticidas, fungicidas, etc., o bien, por el ingrediente activo que contienen (SEMARNAP e INE 1996). En general, se tiende a hacer una clasificación combinando ambos criterios (Ferrer 2003).

Todos los plaguicidas, tanto los organofosforados (OF), los carbamatos, los piretroides y los OC, tienen diferentes efectos adversos para la salud, como problemas respiratorios, desórdenes en la memoria, daños dermatológicos, cáncer, depresión, déficit neurológico, abortos y defectos de nacimiento (McCauley *et al.* 2006). La exposición constante a cantidades pequeñas de plaguicidas OC u OF puede ocasionar daños graves en el metabolismo de los carbohidratos. El estrés oxidativo es también una consecuencia de la intoxicación por este tipo de plaguicidas (Karami-Mohajeri y Abdollahi 2011). En particular, los plaguicidas OF son neurotóxicos y tienen la misma naturaleza química que las armas de este tipo (Kamel y Hoppin 2004). Estos plaguicidas son de vida corta en el ambiente y de acción rápida sobre el organismo blanco. Primero afectan el sistema nervioso al inhibir la enzima acetilcolinesterasa, cuya función principal es el rompimiento del neurotransmisor acetilcolina. Al acumularse este metabolito, se incrementa la transmisión de los impulsos nerviosos lo que lleva a la falla general del sistema nervioso (Jauregui *et al.* 2003).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se intoxican con plaguicidas tres millones de personas (la mayoría con plaguicidas OF) (Theriot y Grunden 2011). Al menos el 50% de los intoxicados y el 75% de los que fallecen son trabajadores agrícolas, el resto se debe a envenenamientos por consumo de alimentos contaminados. En total se calculan 220 mil defunciones por año a causa de los plaguicidas (Eddleston *et al.* 2002; OMS 1990).

En México, el Sistema Nacional de Salud reportó 5,642 casos de intoxicación por plaguicidas en 1999, y en 2001 el Centro Mexicano para la Clasificación de Enfermedades (CEMECE) registró 325 defunciones por la misma causa, de ellas 191 (60%) fueron autoinfligidas (Rodríguez-Pimentel *et al.* 2005). Es importante hacer notar que estas cifras están por debajo de la realidad, ya que se pueden esperar muchos más casos de intoxicación en el medio rural, donde los casos de intoxicación no son tratados en centros de salud y por lo tanto quedan fuera de las estadísticas.

En la República Mexicana se utiliza el 60% de los 22 plaguicidas clasificados como perjudiciales para la salud y el ambiente, 42% de los cuales se fabrican en el país. Asimismo, se emplean 30 plaguicidas de los 90 que han sido prohibidos o restringidos en Estados Unidos (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo 2008).

Los estados con mayor uso de plaguicidas son Sinaloa, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca. Los cultivos a los que se aplica el mayor volumen de estos productos son el maíz, algodón, papa, chile, jitomate, frijol, trigo, aguacate, café y tabaco, en cantidades que van desde 395 hasta 13,163 toneladas de plaguicidas al año. Además de la gran cantidad de productos que se utilizan, existe el problema de la recolección, tratamiento y disposición final de más de 12 mil envases vacíos de plaguicidas (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo 2008).

Existen diversas tecnologías para la eliminación de plaguicidas, que van desde tratamientos físicos, como la adsorción y filtros percoladores, hasta tratamientos biológicos y procesos avanzados de oxidación. Los plaguicidas piretroides como la permetrina se degradan hasta en un 65% mediante el proceso de ozonólisis. Este método se ha aplicado en plaguicidas triazínicos como atrazina, simazina y promazina. El proceso consiste en la abstracción de un electrón o de un radical hidrógeno de la estructura química por un radical OH, obtenido por la fotólisis del ozono y del peróxido de hidrógeno. El problema que se presenta en este caso es que los productos de reacción pueden ser tanto o más peligrosos que los propios plaguicidas (Burrows *et al.* 2002). Otra opción es la fotocatalisis solar, útil para la destrucción de plaguicidas residuales, ya que se pueden tratar disoluciones de baja concentración de compuestos puros o suspensiones de formulaciones comerciales multicomponentes (Cáceres-Vázquez 2002). Estos tratamientos físicos y químicos, aunque son eficientes, suelen ser costosos e incluso nocivos para el ambiente.

Otra alternativa para la degradación de una amplia variedad de plaguicidas es el uso de microorganismos, ya sean cepas puras o consorcios microbianos. Las bacterias de los géneros *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Burkholderia* y *Pseudomonas* se han utilizado en procesos de biorremediación. Sin embargo, las condiciones anaeróbicas a las que están expuestas en el suelo generan bajas tasas de supervivencia (Atterby *et al.* 2002). Sin embargo, la principal limitante es la escasa habilidad que tienen algunos microorganismos para crecer en ambientes altamente contaminados con químicos orgánicos e inorgánicos. Además, la naturaleza hidrofóbica de la mayoría de los plaguicidas es un obstáculo importante para la metabolización por microbios. Es por ello que se ha explorado la utilización de las enzimas aisladas de estos organismos (principalmente bacterias y hongos) responsables de la transformación de los plaguicidas.

Tipos de Plaguicidas

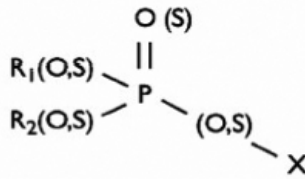
Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas OC son compuestos aril, carbocíclicos o heterocíclicos que actúan como insecticidas de ingestión o de contacto. Fueron los primeros insecticidas químicos orgánicos utilizados de forma masiva y a escala internacional por ser muy eficaces y económicos (Torres-Duarte 2009). Afectan el metabolismo de los lípidos en los tejidos adiposos y cambian el metabolismo de la glucosa en otras células. Son neurotóxicos, ya que afectan principalmente los canales iónicos (Karami-Mohajeri y Abdollahi 2011). Actualmente su uso se ha restringido en países desarrollados tras comprobarse su capacidad bioacumuladora y sobre todo por su persistencia ambiental (Torres-Duarte 2009).

El Convenio de Estocolmo sobre los contaminantes orgánicos persistentes (COP) es un acuerdo internacional que regula el tratamiento de las sustancias tóxicas. Fue firmado en 2001 en Estocolmo, Suecia y que entró en vigor el 17 de mayo del 2004. Inicialmente el convenio regulaba doce productos químicos, incluyendo los sintetizados industrialmente, tales como plaguicidas (la mayoría de ellos OC), bifenilos policlorados (PCB), dioxinas y furanos. Muchos de los COP son compuestos halogenados y en su mayoría clorados. Por su baja solubilidad en agua y alta en lípidos, pueden pasar a través de las membranas biológicas y acumularse en los depósitos de grasa de los organismos (Ritter *et al.* 1995).

Plaguicidas organofosforados

Debido a su menor persistencia en el ambiente, a su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su baja acumulación en los tejidos, los plaguicidas OF sustituyeron a los OC después de la Segunda Guerra Mundial. Los plaguicidas OF son los más utilizados actualmente, junto con los carbamatos y los piretroides. Son ésteres o tioles derivados del ácido fosfórico, fosfónico y fosforamídico (Vilanova y Sogorb 1999). La estructura general de un OF es la siguiente:



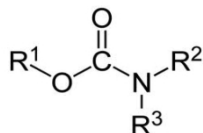
Donde R1 y R2 son generalmente grupos alquilo o arilo que están unidos al átomo de fósforo, ya sea directamente o a través de un oxígeno o un átomo de azufre, mientras que el grupo X puede ser un grupo halógeno, alifático, aromático o heterocíclico. Este último se libera al hidrolizar al compuesto OF.

La ruta de ingreso de los OF al organismo puede ser a través de la inhalación, ingestión o absorción de la piel. Posteriormente, estos compuestos entran al torrente sanguíneo y se distribuyen en todo el organismo, almacenándose una buena porción de ellos en los tejidos grasos, de donde después pueden ser liberados paulatinamente. Existe también una parte que puede ser degradada y eliminada vía orina. Sin embargo, otra fracción llega al sistema nervioso, en particular a las sinapsis colinérgicas, en donde los OF ejercen su mayor toxicidad (Masson *et al.* 1998).

Los OF inhiben la actividad de la acetilcolinesterasa al reaccionar con el grupo hidroxilo de la serina 203, fosforilando el sitio activo de la enzima. La acetilcolinesterasa es la encargada de degradar la acetilcolina, un neurotransmisor requerido para transmitir los impulsos nerviosos en el cerebro y el sistema muscular. Mientras el rompimiento del enlace carbono-enzima se lleva a cabo en unos pocos microsegundos, la hidrólisis del enlace fósforo-enzima puede tomar varias horas o incluso días, dependiendo de la estructura química del OF, ya que éste es un enlace mucho más estable que el del acetato de la acetilcolina con el sitio activo de la enzima. Entonces, la acetilcolinesterasa fosforilada es hidrolizada a una tasa muy lenta, por lo que la enzima es inhibida por un largo tiempo.

Carbamatos

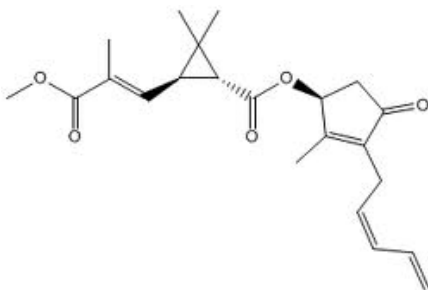
Se derivan del ácido carbámico, su estructura química es la siguiente:



Donde R_1 y R_2 son radicales orgánicos, pero también pueden ser átomos de hidrógeno. Cuando R_2 es un hidrógeno y R_1 es un grupo metilo, el carbamato es un insecticida; si R_1 es un grupo aromático, el plaguicida se usa como herbicida o como fungicida si es un grupo benzimidazol. R_3 es normalmente un radical orgánico, pero también puede contener un metal. Su mecanismo de acción es similar al de los OF, sin embargo, la inhibición de la acetilcolinesterasa es reversible de manera espontánea, después de una hora aproximadamente (Sogorb y Vilanova, 2002). La vía principal de detoxificación de los carbamatos es mediante la hidrólisis mediada por las carboxilesterasas.

Piretroides

Son moléculas con actividad insecticida, relativamente persistentes y biodegradables, que se diseñaron para emular los efectos insecticidas de las piretrinas naturales obtenidas del crisantemo, que se utilizaron desde 1850. Son ésteres de un grupo que contiene un anillo de ciclopropano con un radical variable, que puede ser ácido crisantémico en las piretrinas de tipo I y ácido pirétrico en las de tipo II (Sogorb y Vilanova 2002). La estructura química de una piretrina es la siguiente:



Afectan principalmente el sistema nervioso, ya que son muy afines a los canales de sodio. Cuando hay grandes concentraciones de piretroides, ocasionan una hiperexcitabilidad neuronal provocando mareo, dolor de cabeza, náusea, espasmos musculares, falta de energía, alteraciones en la conciencia, convulsiones y pérdida del conocimiento. Al igual que con los carbamatos, la principal vía de degradación, está mediada por las carboxilesterasas (Sogorb y Vilanova 2002).

Degradación enzimática de plaguicidas

Existe una gran variedad de enzimas aisladas de diferentes bacterias y hongos, capaces de degradar diversos tipos de plaguicidas. Los plaguicidas OF, al igual que los carbamatos y piretroides, pueden ser degradados mediante la hidrólisis del enlace éster mediado por las carboxilesterasas. El mecanismo se basa en la acilación reversible del residuo de serina del sitio activo de la enzima. La acilación provoca la liberación del grupo alcohol del éster carboxílico y de la enzima acilada. El intermediario acilado es hidrolizado por una molécula de agua que libera el grupo del ácido carboxílico y la enzima activa (Sogorb y Vilanova 2002).

Las fosfotriesterasas son esterasas cuya presencia se ha descrito en toda la escala filogenética, mucho más eficientes que las carboxilesterasas para la hidrólisis de los plaguicidas OF. En particular, las hidrolasas de los OF, que fueron descritas por primera vez en bacterias del suelo como *Pseudomonas diminuta* y *Flavobacterium sp.*, pueden degradar una gran variedad de compuestos OF (Dumas *et al.* 1989; Mulbry *et al.* 1986) (Figura 10.1.A).

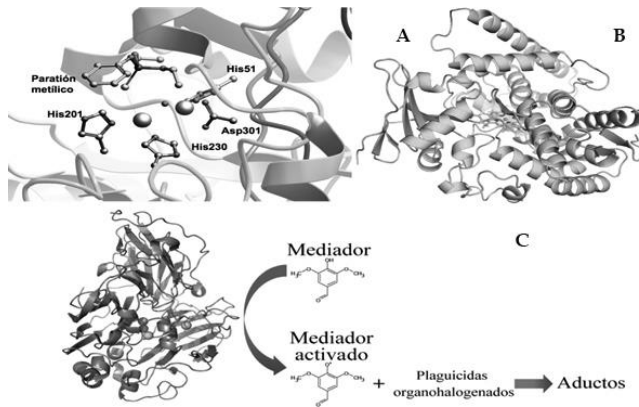


Figura 10.1. Estructura tridimensional de algunas enzimas con capacidad de degradación de plaguicidas. A) Sitio catalítico de la fosfotriesterasa de *Flavobacterium sp.* ATCC 27551 en donde se muestran algunos de los aminoácidos que conforman el sitio catalítico, los dos átomos de zinc y el sustrato paratión metílico. B) Citocromo P450 21B3 de *Bacillus megaterium*. Este citocromo ha sido mutagenizado y manipulado mediante evolución dirigida para poder utilizar al peróxido de hidrógeno como aceptor final de electrones. Este citocromo mutante tiene la capacidad de transformar algunos plaguicidas OC y OF. C) Sitio catalítico de la lacasa de *Corioloopsis gallica*. La lacasa extrae un electrón del mediador (siringaldehído), éste se aleja del sitio activo y oxida a los plaguicidas, generando aductos mediador-plaguicida.

Desde el año 1973 se ha reportado una gran variedad de especies bacterianas (*Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, entre otras), además de algunos hongos, capaces de degradar diferentes tipos de plaguicidas OF como son el clorpirifós, paratión metílico, coumafós, glifosato, entre otros (Singh y Walker 2006), y se ha demostrado que estos microorganismos contienen sistemas enzimáticos capaces de transformar a los plaguicidas. Por otro lado, como muchos de estos plaguicidas se han diseñado para inhibir varias enzimas presentes en insectos, como la acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, tirosinasa, fosfatasa alcalina, etc., recientemente se ha propuesto el uso de dichas enzimas como biosensores para detectar la presencia de estos contaminantes en el ambiente (Andreescu y Marty 2006; Van Dyk y Pletschke 2011).

En 1998, el grupo de Vázquez-Duhalt demostró que la cloroperoxidasa del hongo *Caldariomyces fumago* oxida plaguicidas OF que contienen el grupo fosforotioato, en presencia de peróxido de hidrógeno e iones cloro. Sin embargo, la cloroperoxidasa no es capaz de seguir degradando los oxones, a diferencia del citocromo P450 (Hernandez *et al.* 1998). Jáuregui y colaboradores demostraron que en 17 cepas de hongos ligninolíticos, la transformación de plaguicidas OF está mediada por la actividad de citocromo P450 presente en los microsomas (Jauregui *et al.* 2003).

Los citocromos P450 son una familia de hemoproteínas presentes en toda la escala filogenética. Su principal función es oxidar compuestos orgánicos, que pueden ser intermediarios metabólicos o compuestos xenobióticos. En un estudio realizado por Duangkaew *et al.*, se observó un aumento en la expresión del mRNA de dos citocromos P450, CYP6P7 y CYP6AA3, en una cepa deltametrina resistente de *Anopheles minimus*, un vector de malaria del sureste asiático. Cuando sobreexpresaron estos dos citocromos en células de insecto, observaron un efecto de protección contra los piretroides permetrina, cipermetrina y deltametrina, comparado con células que no expresaban los citocromos (Duangkaew *et al.* 2011).

La capacidad de transformación de plaguicidas OF y OC del CYPBM3 21B3 de *Bacillus megaterium* fue demostrada recientemente (Sánchez-Sánchez *et al.* 2012). Esta mutante de citocromo P450, que es capaz de usar peróxido de hidrógeno como aceptor final de electrones, transformó una variedad de plaguicidas con estructuras químicas diversas (Figura 10.1.B).

Por otro lado, los hongos ligninolíticos, también llamados de la “pudrición blanca”, mineralizan la lignina, un compuesto extremadamente recalcitrante, por medio de un proceso oxidativo obligadamente aeróbico. Este proceso está

basado en la producción de radicales libres generados por la acción de enzimas extracelulares, que incluyen a la lignina peroxidasa, la manganeso peroxidasa, la peroxidasa versátil y la lacasa (Dávila y Vázquez-Duhalt 2006; Pointing 2001). Estas enzimas pueden transformar un gran número de xenobióticos, incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), fenoles clorados, PCB, dioxinas, compuestos OF, nitrotoluenos, cloroanilinas, colorantes, y otros compuestos que representan un riesgo para el ambiente (Pointing 2001), por lo que son de interés en la transformación de plaguicidas. La peroxidasa versátil del hongo ligninolítico *Bjerkandera adusta* logró transformar plaguicidas organohalogenados a través de una deshalogenación oxidativa (Dávila-Vázquez *et al.* 2005).

Las lacasas son enzimas con cobre en su centro catalítico, que catalizan la oxidación de una variedad de fenoles y aminos aromáticas, reduciendo el oxígeno a agua. Pueden oxidar otros compuestos no fenólicos usando mediadores (sustratos naturales o sintéticos de la lacasa) que los transforman en radicales libres; éstos difunden y oxidan compuestos que no son sustratos directos de la lacasa (Shraddha *et al.* 2011). La lacasa, a diferencia de las peroxidases, no requiere de peróxido para llevar a cabo la catálisis, por lo que resulta más atractiva para su aplicación a gran escala. Al utilizar la lacasa, junto con el mediador sintético ABTS, se logró la transformación del agente nervioso VX del insecticida análogo diisopropil-amitón y del plaguicida Dymron (Amitai *et al.* 1998; Maruyama *et al.* 2006). Torres Duarte *et al.* (2009) lograron la deshalogenación oxidativa de los plaguicidas OC bromoxinil, niclosamida, bromofenoxim y diclorofen, utilizando la lacasa de *Coriopsis gallica* y dos mediadores naturales, acetosiringona y siringaldehído. Los principales productos de reacción que utiliza el siringaldehído como mediador, fueron aductos entre el plaguicida y el mediador (Torres-Duarte *et al.* 2009) (Figura 10.1.C).

Potencial de la ingeniería de proteínas para mejorar la actividad de las enzimas

La biotecnología ambiental comenzó a operar a principios del siglo pasado a partir de la utilización de lodos activados y digestores anaeróbicos para la descontaminación de suelos. Actualmente, con el uso de diversas técnicas de biología molecular, enzimología, ingeniería de proteínas y la microbiología moderna, los esfuerzos se han enfocado en el diseño de enzimas y/o microorganismos que puedan funcionar como biocatalizadores ambientales, optimizando las velocidades y especificidad de las rutas de biodegradación (Vázquez-Duhalt 2008).

Un reto de la biotecnología moderna es la combinación de las técnicas de la biología molecular para tener catalizadores más eficientes, que posean una alta actividad y estabilidad, y una baja especificidad. Esto puede lograrse mediante técnicas de mutagénesis y de evolución dirigida (Gupta *et al.* 2011; Johannes y Zhao 2006; Paul 2003), estudios de metagenómica para la búsqueda de nuevas actividades enzimáticas (Chistoserdova 2010; Guazzaroni *et al.* 2009), así como el mejoramiento de sistemas de expresión heteróloga (Horne *et al.* 2005) y las tecnologías enzimáticas para la obtención de biocatalizadores a gran escala y de bajo costo (Piscitelli *et al.* 2010).

Los primeros experimentos de expresión heteróloga se hicieron a principios de la década de los ochenta utilizando bacterias como *E. coli* y *Streptomyces* o levaduras (Bibb y Cohen 1982; Derynck *et al.* 1983) como organismos aceptores del material genético foráneo. En la actualidad, los sistemas de expresión que más se utilizan siguen siendo bacterias como *E. coli*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, entre otras. Para la expresión de genes eucariontes se utilizan también levaduras del género *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Yarrowia*. Otros sistemas utilizados son hongos filamentosos como *Trichoderma* y *Aspergillus*, células de insecto Sf9, plantas como *Arabidopsis*, tabaco, arroz y musgo, por mencionar algunos. La elección de cualquiera de estos sistemas de expresión depende del origen del gen que se quiere expresar (procarionte o eucarionte) para que la proteína se exprese, se pliegue correctamente y en su caso se secrete (Horne *et al.* 2005). Adicionalmente, se busca que la proteína se sobreexpresen en grandes cantidades y que su producción no sea costosa.

En muchas ocasiones, cuando se necesita descontaminar un sitio, se requiere de enzimas estables a condiciones de operación extremas, como altas temperaturas o sistemas no acuosos. Una manera de resolver este problema, es modificando químicamente la superficie de las enzimas. El polietilenglicol es una molécula anfifílica, cuya parte hidrofóbica puede unirse a las regiones hidrofóbicas de la proteína y sus regiones hidrofílicas se unen al agua, de esta manera se mantiene una especie de escudo alrededor de la proteína, conservando así su estructura. Existen numerosos trabajos en los que se ha demostrado que la modificación química de la superficie de las proteínas con proteínas pegiladas (PEG) contribuye a su estabilización térmica (García-Arellano *et al.* 2002) y también a una estabilización frente a diversos agentes quelantes (Perezgasga *et al.* 2012), además de que disminuye la inmunogenicidad de las proteínas, permitiendo su uso en la industria farmacéutica (Pasut y Veronese 2011; Veronese y Pasut 2005). Otro polímero que también se ha utilizado de manera eficiente en la industria farmacéutica es el quitosano, ya que no es inmunogénico y puede liberar los fármacos de manera prolongada (Li *et al.* 2011, Masotti y Ortaggi 2009, Tahara *et al.* 2010).

Cuando se quiere utilizar las enzimas industrialmente es importante inmovilizarlas para poder reusarlas varias veces. Este procedimiento también puede mejorar la actividad, puede evitar la inhibición por producto (Mateo *et al.* 2007), cambiar la enantioselectividad, y puede mejorar su estabilidad a altas concentraciones de solventes y condiciones extremas de pH y temperatura, así como concentraciones muy altas de sustrato (Hanefeld *et al.* 2009). Muchas de las reacciones enzimáticas se llevan a cabo en medios acuosos, sin embargo, mediante la ingeniería de solventes, se puede favorecer el equilibrio termodinámico hacia la formación del producto, aumentar la termoestabilidad, la selectividad y la estabilidad operacional de muchas enzimas. Desde el punto de vista industrial, es mucho más fácil recuperar las enzimas y los productos de la reacción mediante la evaporación del solvente (Castillo *et al.* 2012; Choi y Yoo 2012; Sandoval *et al.* 2001).

Otra manera de poder tener enzimas más eficientes es mediante evolución dirigida. Este es un planteamiento técnico de la ingeniería genética que pretende obtener un gran número de variantes genéticas que son evaluadas posteriormente por selección *in vivo* o por tamizaje *in vitro*. Dicha técnica imita a la evolución natural generando una gran cantidad de proteínas modificadas con una enorme variabilidad genética, que son sometidas a selección a través de ciclos de mutaciones sucesivas hasta encontrar la proteína “mejorada” en un periodo de tiempo relativamente corto (Segovia y Peimbert 2010). De esta manera, Briseño Roa *et al.* (2011) lograron cambiar la especificidad de la FTE de *Pseudomonas diminuta* para aumentar la actividad de metil fosfonatasa para la degradación de neurotóxicos como el sarín o el agente VX, disminuyendo al mismo tiempo su actividad de fosfotriesterasa. En otro trabajo, para lograr la degradación de estos gases neurotóxicos, se utilizaron técnicas de mutagénesis dirigida al azar y evolución dirigida para mejorar la eficiencia catalítica de la paraoxonasa de suero humano (Gupta *et al.* 2011) (Figura 10.2.A y Figura 10.2.B).

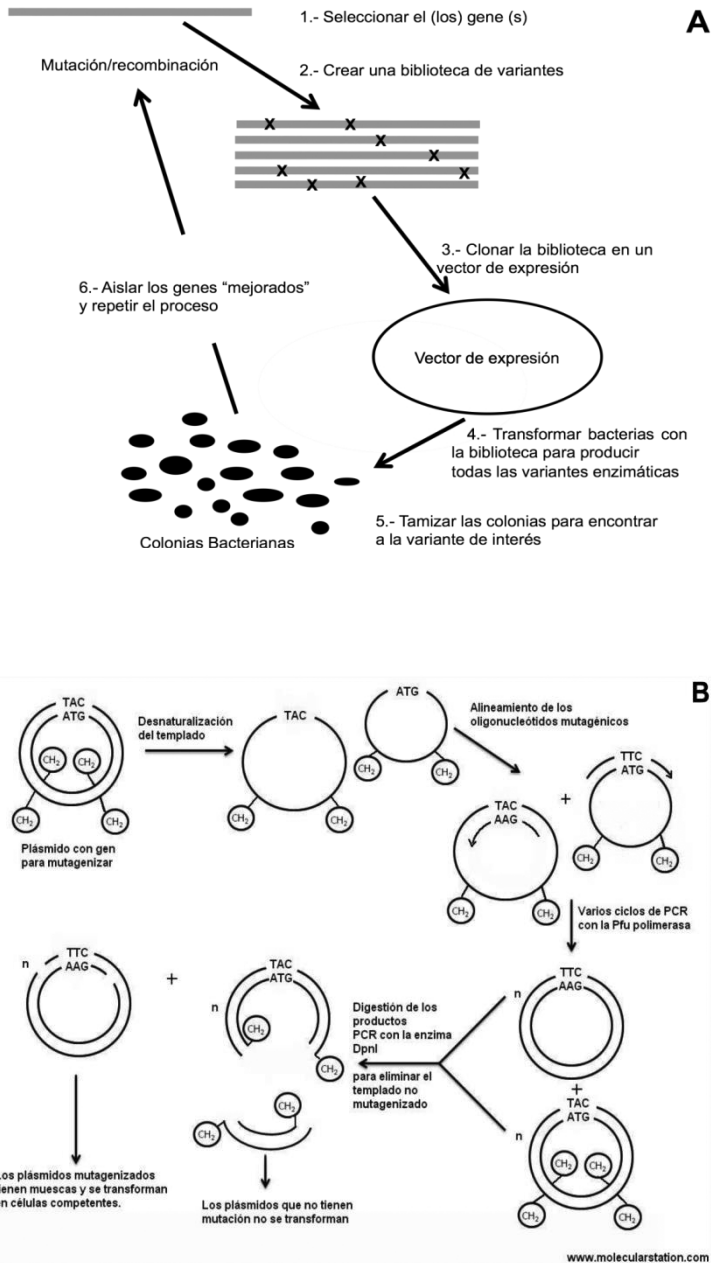


Figura 10.2. Esquemas que muestran el proceso de la evolución dirigida (A), y de la mutagénesis sitio-dirigida (B), como dos estrategias para la búsqueda de mejores biocatalizadores ambientales.

En la actualidad son cada vez más los trabajos en los que se utilizan métodos computacionales, como la dinámica molecular y mecánica cuántica, que permiten simular interacciones enzima-sustrato y con ello proponer mutaciones que mejoren la degradación de un sustrato específico (Tsai *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2009). Estas técnicas también han resultado útiles para la comprensión de los mecanismos de las reacciones enzimáticas.

Con los avances en metagenómica y los proyectos de secuenciación masiva de genomas, es posible encontrar nuevas enzimas con la capacidad para degradar diferentes contaminantes a partir de microorganismos cultivables y no cultivables. Estas técnicas, combinadas con la clonación de ADN de muestras ambientales en los diferentes vectores de expresión y estudio de la actividad, nos permitirán descubrir nuevas actividades enzimáticas con potencial biotecnológico (Chistoserdova 2010).

Agradecimientos

Los autores agradecen a Graciela Bayúgar y al Maestro Francisco Rebolledo, por la revisión del documento y a Pedro Saucedo y Sergio Trujillo por la elaboración de la Figura 10.2.

Referencias

- Amitai G., Adani R., Sod-Moriah G., Rabinovitz I., Vincze A., Leader H. Chefetz, B., Leibovitz-Persky L., Friesem D., Hadar Y. (1998). Oxidative biodegradation of phosphorothiolates by fungal laccase. *FEBS Letters*. 438:195-200.
- Andreescu S. y Marty J.L. (2006). Twenty years research in cholinesterase biosensors: From basic research to practical applications. *Biomolecular Engineering* 23:1-15.
- Atterby H., Smith N., Chaudhry Q., Stead D. (2002). Exploiting microbes and plants to clean up pesticide contaminated environments. *Pesticide Outlook*. 13:9-13.
- Bibb M.J. y Cohen S.N. (1982). Gene expression in *Streptomyces*: Construction and application of promoter-probe plasmid vectors in *Streptomyces lividans*. *Molecular and General Genetics MGG*. 187:265-277.
- Briseño-Roa L., Timperley C.M., Griffiths A.D., Fersht A.R. (2011). Phosphotriesterase variants with high methylphosphonate activity and strong negative trade-off against phosphotriesters. *Protein Engineering Design and Selection* 24:151-159.

- Burrows H.D., Canle L.M., Santaballa J.A., Steenken S. (2002). Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 67:71-108.
- Cáceres-Vázquez J. (2002). Evaluación analítica y optimización de procesos de oxidación avanzada en planta piloto solar. *En: Departamento de Hidrogeología y Química Analítica España, Universidad de Almería.* pp 368.
- Castillo E., Torres-Gavilán A., Sandoval G., Marty A. (2012). Thermodynamical Methods for the Optimization of Lipase-Catalyzed Reactions. *En: Lipases and Phospholipases.* Sandoval E., Editor. pp 547.
- Chistoserdova L. (2010). Recent progress and new challenges in metagenomics for biotechnology. *Biotechnology Letters.* 32:1351-1359.
- Choi Y., Yoo Y. (2012). A hydrophilic and hydrophobic organic solvent mixture enhances enzyme stability in organic media. *Biotechnology Letters.* 1-5.
- Dávila G. y Vázquez-Duhalt R. (2006). Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico* 30:1-27.
- Davila-Vazquez G., Tinoco R., Pickard M.A., Vazquez-Duhalt R. (2005). Transformation of halogenated pesticides by versatile peroxidase from *Bjerkandera adusta*. *Enzyme and Microbial Technol.* 36:223-231.
- Derynck R., Singh A., Goeddel D.V. (1983). Expression of the human interferon- γ cDNA in yeast. *Nucleic Acids Research.* 11:1819-1837.
- Duangkaew P., Kaewpa D., P. R. (2011). Protective efficacy of *Anopheles minimus* CYP6P7 and CYP6AA3 against cytotoxicity of pyrethroid insecticides in *Spodoptera frugiperda* (Sf9) insect cells. *Tropical Biomedicine.* 2:293-301.
- Dumas D.P., Caldwell S.R., Wild J.R., Raushel F.M. (1989). Purification and properties of the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *Journal of Biological Chemistry* 264:19659-19665.
- Eddleston M., Karalliedde L., Buckley N., Fernando R., Hutchinson G., Isbister G., Konradsen F., Murray D., Piola J., Senanayake N. (2002). Pesticide poisoning in the developing world-a minimum pesticide list. *The Lancet.* 360:1163-1167.
- Ferrer A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Anales del sistema sanitario de Navarra.* 26:155-172.
- García-Arellano H., Valderrama B., Saab-Rincón G., Vázquez-Duhalt R. (2002). High Temperature Biocatalysis by Chemically Modified Cytochrome c. *Bioconjugate Chemistry.* 13:1336-1344.

- Guazzaroni M.E., Beloqui A., Golyshin P., Ferrer M. (2009). Metagenomics as a new technological tool to gain scientific knowledge. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25:945-954.
- Gupta R.D., Goldsmith M., Ashani Y., Simo Y., Mullokandov G., Bar H., Ben-David M., Leader H., Margalit R., Silman I. (2011). Directed evolution of hydrolases for prevention of G-type nerve agent intoxication. *Nature Chemical Biology*. 7:120-125.
- Hanefeld U., Gardossi L., Magner E. (2009). Understanding enzyme immobilisation. *Chemical Society Reviews*. 38.
- Hernandez J., Robledo N.R., Velasco L., Quintero R., Pickard M.A., Vázquez-Duhalt R. (1998). Chloroperoxidase-Mediated Oxidation of Organophosphorus Pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 61:87-94.
- Horne I., Williams M., Sutherland T.D., Russell R.J., Oakeshott J.G. (2005). A *Brevibacillus choshinensis* System That Secretes Cytoplasmic Proteins. *Journal of Molecular Microbiology & Biotechnology*. 8:81-90.
- Jauregui J., Valderrama B., Albores A., Vázquez-Duhalt, R. (2003). Microsomal Transformation of Organophosphorus Pesticides by White Rot Fungi. *Biodegradation*. 14:397-406.
- Johannes T.W. y Zhao H. (2006). Directed evolution of enzymes and biosynthetic pathways. *Current Opinion in Microbiology*. 9:261-267.
- Kamel F. y Hoppin J.A. (2004). Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environmental Health Perspectives*. 112:950-958.
- Karami-Mohajeri S., Abdollahi M. (2011). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human & Experimental Toxicology*. 30:1119-1140.
- Li X., Nan K., Chen H., Xu Y. (2011). Preparation and characterization of chitosan nanopores membranes for the transport of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 420:371-377.
- Martínez-Valenzuela C. y Gómez-Arroyo S. (2008). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 23:185-200.
- Maruyama T., Komatsu C., Michizoe J., Ichinose H., Goto M. (2006). Laccase-mediated oxidative degradation of the herbicide dymron. *Biotechnology Progress*. 22:426-430.

- Masotti A. y Ortaggi, G. (2009). Chitosan micro- and nanospheres: fabrication and applications for drug and DNA delivery. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 9:463-469.
- Masson P., Josse D., Lockridge O., Viguié N., Taupin C., Buhler, C. (1998). Enzymes hydrolyzing organophosphates as potential catalytic scavengers against organophosphate poisoning. *Journal of Physiology*. 92:357-362.
- Mateo C., Palomo J.M., Fernandez-Lorente G., Guisan J.M., Fernandez-Lafuente, R. (2007). Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. *Enzyme and Microbial Technology*. 40:1451-1463.
- McCauley L.A., Anger W.K., Keifer M., Langley R., Robson M.G., Rohlman D. (2006). Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides. *Environmental Health Perspectives*. 114:953-960.
- Mulbry W.W., Karns J.S., Kearney P.C., Nelson J.O., McDaniel C.S., Wild J.R. (1986). Identification of a Plasmid-Borne Parathion Hydrolase Gene from *Flavobacterium* sp. by Southern Hybridization with opd from *Pseudomonas diminuta*. *Applied Environmental Microbiology*. 51:926-930.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1990). Plaguicidas. Informe técnico No. 12 (Ginebra: Organización Mundial de la Salud).
- Pasut G. y Veronese F.M. (2011). State of the art in PEGylation: The great versatility achieved after forty years of research. *Journal of Controlled Release*.
- Paul A.D. (2003). Optimising enzyme function by directed evolution. *Current Opinion in Structural Biology*. 13:500-505.
- Perezgasga L., Sánchez-Sánchez L., Aguila S., Vázquez-Duhalt, R. (2012). Substitution of the Catalytic Metal and Protein PEGylation Enhances Activity and Stability of Bacterial Phosphotriesterase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 166:1236-1247.
- Piscitelli A., Pezzella C., Giardina P., Faraco V., Giovanni, S. (2010). Heterologous laccase production and its role in industrial applications. *Bioengineered Bugs*. 1:254-264.
- Pointing S.P. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57:20-33.
- Ritter L., Solomon K.R., Forget J. (1995). Contaminantes orgánicos persistentes. Informe sobre: aldrin, dieldrin, endrin, clordano, heptacloro, hexaclorobenceno, mirex, toxafeno, BPCs, dioxinas y furanos. In Programa Interinstitucional para la Gestión Racional de las Sustancias

- Químicas de las Naciones Unidas (Organización de las Naciones Unidas).
- Rodríguez-Pimentel L., Wilkins-Gámiz A., Olvera-Santamaría R., Silva-Romo R. (2005). Panorama epidemiológico de las intoxicaciones en México. *Medicina Interna de México*. 21:123-132.
- Sánchez-Sánchez L., Román R., Vázquez-Duhalt R. (2012). Pesticide transformation by a variant of CYPBM3 with improved peroxygenase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 102:169-174.
- Sandoval G.C., Marty A., Condoret J.S. (2001). Thermodynamic activity-based enzyme kinetics: Efficient tool for nonaqueous enzymology. *AIChE Journal*. 47:718-726.
- Segovia L., Peimbert M. (2010). Ingeniería de proteínas y evolución dirigida. *Mensaje bioquímico*. 34:135-141.
- SEMARNAP e INE (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca, Instituto Nacional de Ecología). (1996). Lo que usted debe saber sobre los plaguicidas. (México). pp. 18.
- Shraddha, Shekher R., Sehgal S., Kamthania M., Kumar A. (2011). Laccase: Microbial Sources, Production, Purification, and Potential Biotechnological Applications. *Enzyme Research*. 2011.
- Singh B. y Walker A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiology Reviews*. 30:428-471.
- Sogorb M.A. y Vilanova E. (2002). Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicology Letters*. 128:215-228.
- Tahara K., Yamamoto H., Hirashima N., Kawashima Y. (2010). Chitosan-modified poly(D,L-lactide-co-glycolide) nanospheres for improving siRNA delivery and gene-silencing effects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 74:421-426.
- Theriot C. y Grunden A. (2011). Hydrolysis of organophosphorus compounds by microbial enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89:35-43.
- Torres-Duarte C. (2009). Transformación de plaguicidas por el sistema lacasa-mediador de *Coriopsis gallica*. (Cuernavaca, Mor.: Universidad Nacional Autónoma de México), pp 80.
- Torres-Duarte C., Román R., Tinoco R., Vázquez-Duhalt R. (2009). Halogenated pesticide transformation by a laccase-mediator system. *Chemosphere*. 77:687-692.

- Tsai P.C., Fan Y., Kim J., Yang L., Almo, S.C., Gao Y.Q., Raushel F.M. (2010). Structural Determinants for the Stereoselective Hydrolysis of Chiral Substrates by Phosphotriesterase. *Biochemistry*. 49:7988-7997.
- Van-Dyk J.S. y Pletschke B. (2011). Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. *Chemosphere*. 82:291-307.
- Vázquez-Duhalt R. (2008). Introduction. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 15:71-73.
- Veronese F.M., y Pasut G. (2005). PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today*. 10:1451-1458.
- Vilanova E. y Sogorb M.A. (1999). The role of phosphotriesterases in the detoxication of organophosphorus compounds. *Critical Reviews in Toxicology*. 29:21-57.
- Zhang X., Wu R., Song L., Lin Y., Lin M., Cao Z., Wu W., Mo Y. (2009). Molecular dynamics simulations of the detoxification of paraoxon catalyzed by phosphotriesterase. *Journal of Computational Chemistry*. 30:2388-2401.

CAPÍTULO 11

INMOVILIZACIÓN CELULAR: ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE PLAGUICIDAS

Gustavo Yáñez-Ocampo y Cristina Blanco González

Introducción

A partir de la problemática descrita en los capítulos anteriores, acerca del riesgo que representan los plaguicidas y sus residuos, surgió la necesidad de desarrollar métodos biológicos para el tratamiento de dichos residuos, así como de sitios contaminados. El tratamiento biológico de plaguicidas involucra la utilización de sistemas biológicos o de sus partes (células completas o enzimas aisladas), los cuales catalizan reacciones bioquímicas sobre estos compuestos hasta llevarlos a compuestos más sencillos y menos tóxicos. En estos métodos se utilizan consorcios microbianos adaptados para crecer en presencia de plaguicidas, entre otros xenobióticos, ya que son capaces de asimilarlos como fuente alterna de carbono y energía (Chen y Mulchandani 1998; Ortiz-Hernández *et al.* 2001).

En la Tabla 11.1 se aprecian los géneros y especies de microorganismos capaces de crecer y degradar pentaclorofenol, atrazinas, carbamatos, organoclorados (OC) y organofosforados (OF). Estos microorganismos han sido aislados de suelos agrícolas, lodos y cuerpos de agua contaminados, de los cuales resaltan las *Pseudomonas stutzeri*, *P. aeruginosa*, *P. diminuta* y *Flavobacterium* ATCC 27551 (Mulchandani *et al.* 1999; Hong y Raushel 1999; Benning *et al.* 2001).

Las capacidades degradadoras de plaguicidas que los microorganismos expresan, han sido aprovechadas en sistemas de tratamiento conocidos como biorreactores, mismos que bajo condiciones de operación controladas pueden, eficientemente, realizar la detoxificación. Para ello, es recomendable que en los biorreactores, la biomasa esté inmovilizada para prolongar su actividad catalítica y viabilidad celular. A continuación se describirán los fundamentos y características principales de la inmovilización celular, empleada como una alternativa biotecnológica para el tratamiento de plaguicidas (Richins *et al.* 2000).

Tabla 11.1. Microorganismos degradadores de plaguicidas (modificado de Castrejón-Godínez 2006).

Grupo	Especie	Compuesto
Bacterias	<i>Bacillus sp.</i>	Paratión metílico
	<i>Pseudomonas sp.</i>	Herbicida Aroclor 1242
	<i>Alcaligenes sp.</i>	Plaguicidas
	<i>Rhodococcus sp.</i>	Plaguicidas
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Paratión metílico
	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	Forato
	<i>Pseudomonas putida</i>	Ethoprofos
	<i>Proteus vulgaris</i>	Paratión metílico
	<i>Cromobacterium violaceum</i>	
	<i>Burkholderia cepacia</i>	
	<i>Citrobacter freundii</i>	
	<i>Enterobacter zakazakii</i>	
	<i>Serratia ficaria</i>	Tetraclorovinfos
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Cadusafos
	<i>Acinetobacter iwoffi</i>	Cadusafos
	<i>Arthrobacter sp.</i>	PCP, herbicidas, OC, triazinas, carbamatos y OF
<i>Corynebacterium sp.</i>	Tiocarbamatos y OF	
Actinomicetos	<i>Mycobacterium sp.</i>	PCP y OC
	<i>Nocardia sp.</i>	OC
	<i>Rhodococcus sp.</i>	Triazinas, benzimidazol, N-metilcarbamatos, tiocarbamatos y OF
	<i>Micromonospora sp.</i>	OC
	<i>Nocardioides sp.</i>	Herbicidas fenosiatos
	<i>Streptomyces sp.</i>	PCP, OC y sulfoniluros
Hongos	<i>Trametes hirsutus</i>	Lindano y otros plaguicidas
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	
	<i>Cladophialophora sp.</i>	Benceno, tolueno, etilbenzeno y xileno
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Herbicida metribuzín
	<i>Rhizopus microsporu</i>	
<i>Aspergillus niger</i>		

Inmovilización celular

La tecnología de inmovilización de células (microorganismos) comenzó a partir de 1970 en estudios de tratamiento de aguas residuales, principalmente. Desde ese año se han tenido evidencias de aplicaciones en biorremediación de sitios contaminados con hidrocarburos, plaguicidas, entre otros.

La inmovilización consiste en la restricción de la movilidad de las células, enzimas u organelos, físicamente confinados o localizados en una cierta región de espacio con la retención de sus actividades catalíticas, lo que permite su reúso. En la Figura 11.1 se muestra una comparación de los tamaños de partículas que se inmovilizan. El mecanismo de inmovilización está gobernado por tres componentes: las células, el soporte (material de origen y composición diversa) y la solución que reemplaza el espacio vacío, de esta manera se establecen microambientes (Manohar *et al.* 2001; Chen y Georgiou 2002). Mediante la aplicación de esta tecnología, se pretende que la remoción biológica de los contaminantes (plaguicidas) sea más eficiente y que la actividad biocatalítica se mantenga por periodos prolongados, para ello la biomasa inmovilizada debe ser viable por un período mayor una semana e incluso meses (Karamanev *et al.* 1998).

Ventajas y desventajas de la inmovilización celular

La inmovilización celular es considerada biotecnológica, en función de que se aplican los sistemas biológicos o sus componentes con el objetivo de lograr un servicio, en este caso es retener la actividad catalítica y favorecer la degradación de plaguicidas. Esta tecnología presenta ventajas y desventajas respecto a los cultivos en suspensión, presentadas en la Tabla 11.2, ya que permite una alta

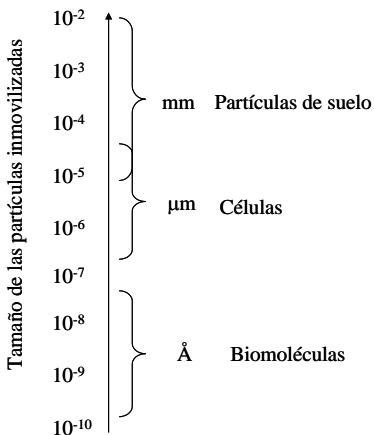


Figura 11.1. Dimensiones características de los sistemas inmovilizados (modificado de Karamanev *et al.* 1998).

productividad debido a la combinación de altas concentraciones celulares y altas velocidades de flujo, proporciona condiciones microambientales favorables para las células y en consecuencia un mejor desempeño de los biocatalizadores, incrementa la eficiencia de un bioproceso debido a que se catalizan reacciones bajo condiciones estables (Arroyo 1998; Martín *et al.* 2000; Pedersen y Christensen 2000; Manohar *et al.* 2001).

Tabla 11.2. Ventajas y desventajas de la inmovilización respecto a los cultivos en suspensión.

Ventajas	Desventajas
Permite reutilizar células.	Limite por difusión de oxígeno, nutrimentos entre otros.
Permite altas concentraciones celulares.	La inmovilización de enzimas altera su conformación.
Elimina problemas de “lavado celular” a altas velocidades de dilución.	Largo proceso de optimización de las condiciones de inmovilización.
Proporciona condiciones microambientales favorables para las células y por consecuencia un mejor desempeño de los biocatalizadores.	Interferencia de los materiales utilizados en la inmovilización.
Incrementa la eficiencia de un bioproceso ya que se catalizan reacciones bajo condiciones estables.	

Métodos de inmovilización celular

Los métodos de inmovilización son diversos, para efectos prácticos, en este capítulo se han considerado aquellos métodos y técnicas de inmovilización más empleadas para la degradación de plaguicidas y otros contaminantes orgánicos persistentes. A continuación se describen los fundamentos generales en los que están basados.

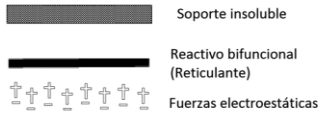
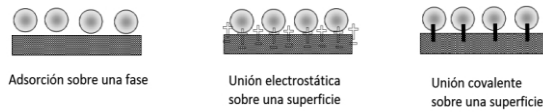
Inmovilización por adhesión superficial

En este método las células se adhieren a una superficie a través de varios tipos de interacciones, como fuerzas de Van der Waals, interacciones iónicas y covalentes, la fuerza de adhesión dependerá del microorganismo y el material empleado (Figura 11.2). El crecimiento celular sobre la superficie del material es conocido como biopelícula (Ha 2005).

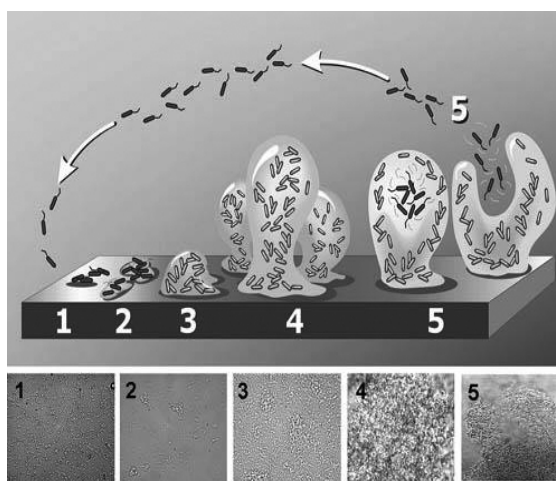
La formación de biopelícula es un proceso que se lleva a cabo en varias etapas (Figura 11.2.B). En la primera etapa la biomasa reconoce la superficie a colonizar con formación de polímeros con propiedades adhesivas (generalmente

polisacáridos de alto peso molecular), la segunda etapa consiste en el crecimiento y estratificación, la cual está en función de la concentración y biodisponibilidad de las fuentes de carbono y nitrógeno, de los gradientes de oxígeno, entre otras condiciones abióticas. Posteriormente hay un periodo de maduración de la biopelícula, la duración de este periodo depende de las condiciones abióticas, la presencia de nutrientes y si existe una corriente (flujo o caudal) que haga fricción entre la biopelícula y el agua circundante (fenómeno conocido como esfuerzo de corte).

INMOVILIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE UN SOPORTE SÓLIDO.



A



B

Figura 11.2. Esquema representativo del proceso de formación de biopelícula. A). Crecimiento de biomasa sobre una superficie mediante fuerzas de Van der Waals, interacciones iónicas y covalentes. B) Crecimiento de biomasa, etapas de formación de biopelícula (Andreopoulos *et al.* 1999; Shuler y Kargi 1999; Ha 2005). Finalmente se presenta un periodo de envejecimiento de la biopelícula donde puede haber desprendimiento de biomasa. Esto ocurre por la muerte celular ya que la fuente de carbono se ha agotado, o bien las condiciones abióticas (pH, oxígeno disuelto) del cultivo son hostiles e inhiben el crecimiento, el desprendimiento de la biomasa también puede deberse a que la velocidad del flujo se incremente de tal modo que arrastre la biomasa que no alcanzó a adherirse (Bryers y Banks 1990; Davey y O’Toole 2000).

Generalmente, para realizar la colonización bacteriana, se han empleado materiales porosos como el tezontle, arena, tierra de diatomeas, carbón activado, anillos de cerámica, e incluso otros materiales orgánicos como fibras naturales del árbol de papaya (Torres 2002; Santacruz *et al.* 2005).

La biomasa inmovilizada por el método de adhesión por biopelícula, es de especial interés para el tratamiento de plaguicidas entre otros residuos peligrosos. Desde el punto de vista práctico, el procedimiento consiste en dos fases, en la primera se cultivan los microorganismos hasta tener una población densa que en unidades formadoras de colonias (UFC) van desde 1×10^8 hasta 1×10^{12} UFC/mL. Lo anterior se logra con un medio de cultivo enriquecido con fuentes de carbono y nitrógeno fácilmente biodegradables. En la segunda fase el medio de cultivo es intercambiado por el medio con los plaguicidas que se desean degradar por los microorganismos ya inmovilizados por la biopelícula y con ello aumentar la velocidad de degradación (Jin-Woo *et al.* 2002; Yáñez-Ocampo *et al.* 2011).

Inmovilización por aprisionamiento en gel

La biomasa (célula o enzima) inmovilizada por este método, está contenida en el interior de un gel hecho a base de materiales orgánicos naturales o sintéticos. En la Tabla 11.3 se describe el proceso de inmovilización llevado a cabo mediante la suspensión de la biomasa en una solución en gel. La polimerización está en función del cambio de temperatura o mediante la adición de un reactivo químico (intercambio catiónico), dicho proceso involucra la formación de interacciones débiles (iónicas principalmente) entre el gel y la biomasa, se ha comprobado que este proceso no tiene efecto adverso sobre la actividad catalítica de la biomasa inmovilizada (Wang *et al.* 1999; Jin-Woo *et al.* 2002).

En la Figura 11.3 se muestra una representación del modo en que la biomasa encapsulada queda atrapada en la matriz hecha con el gel. Los geles formados con polímeros sintéticos como el polivinil alcohol tienen mayor resistencia mecánica y longevidad, además de que no es tóxico como lo es la poliacrilamida. La principal limitante de este tipo de inmovilización es la transferencia de masa de sustratos como el oxígeno, fuentes de carbono y productos. Sin embargo esta limitante puede ser abatida si se controla el diámetro de la perla (menor a 5 mm) (Ha 2005; Yáñez-Ocampo *et al.* 2009, 2011).

Tabla 11.3. Descripción de los procesos de formación de perlas con hidrogeles (Cañizares *et al.* 1993; Walsh y Malone 1995).

Proceso de formación de perlas	Descripción
Gelificación de polímeros	Se utilizan gelatinas y ágares. El éxito de una buena formación de esferas depende de la temperatura de solidificación. Las esferas no muestran suficiente resistencia mecánica.
Precipitación de polímeros	Se realiza la mezcla de biomasa con el polímero (poliestireno, celulosa). La formación de las perlas se debe a un cambio en el pH de la solución.
Gelificación por intercambio de iones	Se realiza cuando un polielectrolito (alginato de sodio o calcio) disuelto en agua se mezcla con una solución salina (CaCl ₂). La solidificación ocurre cuando el polielectrolito reacciona con la sal en solución hasta formar un gel sólido. Otros materiales son el pectinato, carragenina, quitosan, entre otros.
Policondensación	Produce una red covalente con una alta estabilidad química y mecánica. Se emplean epoxi resinas, gel de sílice albúmina-glutaraldehído, colágeno-glutaraldehído.
Polimerización	Son redes poliméricas preparadas por entrecruzamiento con copolímeros que contienen grupos vinilos, como acrilamida y metacrilamida.

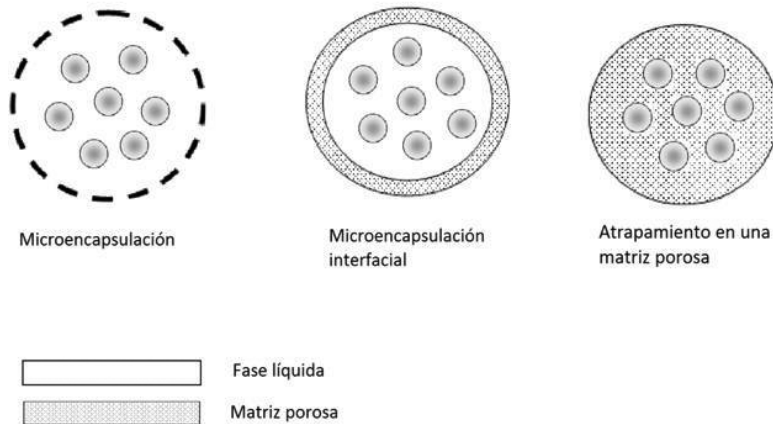


Figura 11.3. Representación de la inmovilización de biomasa por aprisionamiento en perlas de hidrogel.

De entre los materiales que más ampliamente son utilizados en este método de inmovilización destaca el gel de alginato, cuya composición y peso molecular

varía dependiendo de donde ha sido extraído. Normalmente se extrae de macroalgas marinas asiáticas de la familia de las *Rhodophyta*. El alginato es un copolímero formado de ácido D-manurónico y ácido L-gulurónico, la resistencia mecánica de este gel incrementa con la proporción del ácido gulurónico, es por ello que el producto es comercializado con diferentes viscosidades (100-2000 cP), lo cual es importante de considerar al adquirir alginatos para inmovilizar células. Normalmente el alginato es comercializado como alginato de sodio (Na-alginato) (Cheng *et al.* 2003; Wu *et al.* 2003; Ha 2005).

Las perlas de alginato son producidas por un proceso de extrusión entre el alginato de sodio y un ión metálico polivalente como el calcio (Ca^{2+}), bario (Ba^{2+}), aluminio (Al^{3+}) y estroncio (Sr^{2+}). Estos dos últimos muestran una mayor resistencia mecánica. La Figura 11.4 representa el procedimiento general para la inmovilización de biomasa por encapsulamiento en perlas de alginato. Se prepara una solución de cloruro de calcio 0.2 M y otra solución homogénea de alginato de sodio al 2 o 4%, con la ayuda de un aspersor, la solución de alginato de sodio se adiciona a la solución de cloruro de calcio lentamente y por goteo, a fin de que se homogenice y por el efecto de la agitación del vórtice, se forme un intercambio entre el sodio y el calcio lo que lo hace insoluble y en forma de esfera. El atrapamiento de la biomasa requiere un control riguroso de las condiciones de polimerización, así como la comprobación de que la naturaleza química del gel no altera la actividad catalítica de la biomasa. La mezcla alginato-biomasa homogenizada vigorosamente, forma generalmente esféricas de 5 mm de diámetro, el contenido de biomasa viable en cada perla va desde 1×10^8 hasta 1×10^{10} UFC (Heitkamp *et al.* 1990; Wang *et al.* 1997; Arroyo 1998; Karamanev *et al.* 1998; Pedersen y Christensen 2000).

Los trabajos de biodegradación de plaguicidas con biomasa inmovilizada en perlas de alginato de calcio deben considerar el no uso de agentes quelantes como polifosfatos, ácido cítrico y etilendiaminotetraacético (EDTA), o bien, usarlos en concentraciones bajas que eviten que las perlas se disuelvan y por lo tanto liberen biomasa. En otros estudios se ha mezclado el alginato de sodio con otros polímeros como el polivinil alcohol, glutaraldehído o polietilenglicol (Andreopoulos *et al.* 1999; Yáñez-Ocampo *et al.* 2009).

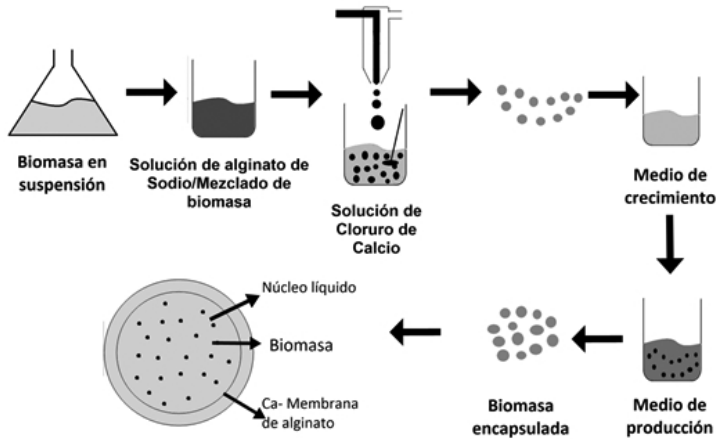


Figura 11.4. Proceso de inmovilización de biomasa por encapsulamiento en perlas de alginato.

Inmovilización por formación de agregados celulares

En ocasiones los consorcios microbianos forman de manera natural agregados celulares, también llamados flóculos. Éstos se forman mediante la producción natural de compuestos con propiedades adhesivas o bien por la adición artificial de agentes cuya función es realizar un entrecruzamiento que favorezca la agregación de la biomasa, que de manera natural no podría flocular (Figura 11.5). Este tipo de inmovilización ha sido exitosamente desarrollado en el tratamiento anaerobio de aguas residuales ya que incrementa la velocidad de digestión durante la metanogénesis (Elsgaard 1998; Jiang *et al.* 2002).

Consideraciones generales en los sistemas de células inmovilizadas en un biorreactor

Principios básicos del diseño de biorreactores

El punto de partida para el diseño de un reactor es la definición de las ecuaciones que representen los balances de materia. Dichos balances de materia están gobernados por la velocidad de desaparición de un reactante en particular. Para el caso específico de los reactores utilizados en la biodegradación de plaguicidas, el reactante es el contaminante a degradar.

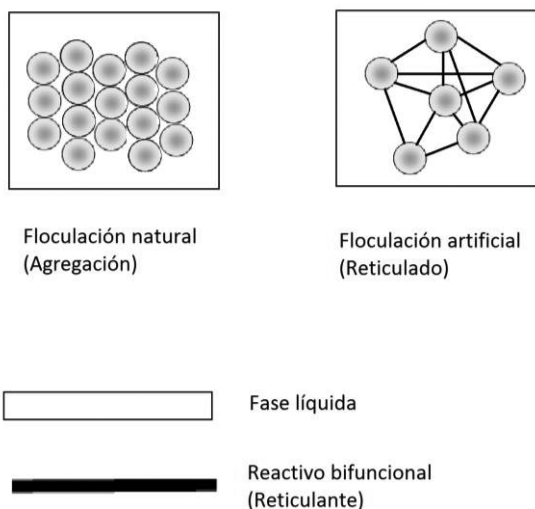


Figura 11.5. Representación de la inmovilización de biomasa por formación de agregados celulares.

Los reactores utilizados para la remoción de estos compuestos son reactores tubulares, en los cuales el influente que contiene el componente a degradar ingresa por un extremo del reactor y el efluente tratado sale por el otro. Se han utilizado distintas configuraciones de biorreactores incluyendo los reactores de lecho empacado, reactores de lecho fluidificado y biorreactores de tipo Air-lift. Los biorreactores de lecho empacado son los más ampliamente utilizados (Mondragón *et al.* 2008; Morgan y Noyola 2008; Chen *et al.* 2007).

El reactor de lecho empacado retiene la capa o capas de sólidos mediante redes que evitan el movimiento ascendente del mismo. Para el caso de los reactores de lecho fluidificado, se hace circular el fluido de manera ascendente a tal velocidad, que mantenga en suspensión las partículas sólidas sin llegar a arrastrarlas con el efluente. El lecho fluidificado toma el aspecto de un líquido en ebullición observándose un movimiento vigoroso de los sólidos en suspensión (Walas 2001). Los reactores Air-lift cuentan con dos zonas interconectadas, el riser y el downcomer, en la primera zona se suministra aire desde el fondo del reactor provocando que la dispersión gas-líquido ascienda hasta el nivel superior del reactor, posteriormente en la segunda zona el líquido desciende al fondo del reactor por medio de una diferencia de densidades (Chisti y Moo-Young 1987; Nicoletta *et al.* 2005).

En los tres tipos de reactores existe una fase sólida que corresponde al material de soporte para la inmovilización de los microorganismos, así como la propia biopelícula formada por éstos; y una fase líquida representada por el influente a tratar y que contiene el plaguicida. Dadas éstas características de los reactores se hace necesario considerar la transferencia de masa del sustrato desde el seno del fluido hasta la superficie exterior de la biopelícula (difusión externa), así como la transferencia de masa del sustrato a través de los poros de la biopelícula (difusión interna). Esta consideración es necesaria ya que la velocidad global de la reacción de degradación está sujeta a la influencia de factores que afectan la velocidad de transferencia de masa entre las fases.

Transferencia de masa

Para analizar la transferencia de masa externa del sustrato se considera que el influente fluye a través del reactor siguiendo el modelo de dispersión, es decir, se extiende axialmente siguiendo el modelo del flujo en pistón con un grado de retromezcla causado por las fluctuaciones debidas a diferentes velocidades de flujo, así como a la difusión molecular y turbulenta. Este proceso se representa matemáticamente a través de un coeficiente de dispersión (D), que sigue los mismos principios del coeficiente de difusión de Fick. El parámetro que relaciona D con la velocidad lineal (u) y la longitud del reactor (L) se denomina número de Peclet (Pe). Los números de Pe sirven para cuantificar la desviación del flujo ideal en pistón: $Pe = uL/D$ (Walas 2001). Con base en lo anterior, la transferencia de masa externa del sustrato se puede representar utilizando una correlación de dispersión axial caracterizada por PE, el número de Reynolds (Re) y el número de Schmidt (Sc), (Walas 2001):

$$\frac{1}{Pe} = \frac{0.3}{(Re)(Sc)} + \frac{0.5}{1 + \frac{3.8}{(Re)(Sc)}}$$
$$0.008 \leq Re \leq 400 \text{ y } 0.28 \leq Sc \leq 2.2$$

Donde $Pe = d_p u_0 / \varepsilon D$, $Re = d_p u_0 / \nu$ y $Sc = \nu / D$. d_p = diámetro de partícula, ε = fracción de huecos en un lecho relleno; u_0 = velocidad superficial en el reactor. ν = viscosidad cinemática, D = coeficiente de dispersión axial.

La velocidad superficial en el reactor se calcula a partir de la ecuación: $u_0 = Q / \varepsilon A$, donde Q = caudal del fluido y A = área transversal del reactor.

Otros números adimensionales ampliamente utilizados para representar la transferencia de masa externa en este tipo de reactores son el número de

Sherwood (Sh), y el factor de Colburn (J_D), que de igual manera están relacionados con el Re y Sc (Bošković *et al.* 2007):

$$Sh = 2.0 + 0.6Re^{1/2}Sc^{1/3}$$

$$J_D = \frac{k_m \rho}{G} \left(\frac{\mu}{\rho D_f} \right)^{2/3}$$

Donde, k_m = coeficiente de transferencia de masa externa, ρ = densidad, G = flujo másico, μ = viscosidad y D_f = difusividad. Para este factor Re se define como: $Re = d_p \cdot G / \mu$ y Sc es el término en paréntesis de la ecuación anterior.

Cinética de reacción

Como se ha mencionado anteriormente, la inmovilización de microorganismos actúa como un biocatalizador que acelera el proceso de degradación del plaguicida. Sin embargo, éstos se encuentran controlados principalmente por la difusión del sustrato a través de la biopelícula, mientras que los otros procesos de transporte ocurren a mayor velocidad. Por lo tanto, para una partícula esférica y porosa de soporte, con enzimas inmovilizadas, la velocidad de reacción estará definida por la difusión interna del sustrato cuyo balance de materia da lugar a la siguiente ecuación para describir la cinética de la reacción:

$$2 \frac{D_e}{r} \frac{dS}{dr} + D_e \frac{d^2S}{dr^2} = \frac{V_{max}S}{K_M + S}$$

Donde D_e = coeficiente de difusión efectiva, S = la concentración del sustrato, r = la posición en la partícula porosa, V_{max} = velocidad máxima de reacción, K_M = Constante de saturación de Michaelis.

La ecuación anterior involucra, además, la aplicación del modelo cinético de Monod, ya que describe de manera más acertada la degradación biológica de hidrocarburos (componente principal de los plaguicidas), considerando que únicamente un sustrato limita el crecimiento bacteriano (Huerta 2004).

Para resolver la ecuación anterior se establecen dos condiciones límites:

- 1) $r = R$ y $S = S$
- 2) $r = 0$ y $dS/dr = 0$

y se definen las variables adimensionales:

$$S' = S/S \quad \text{y} \quad r' = r/R$$

Sustituyendo las variables en la ecuación de la cinética de la reacción y dividiendo cada uno de los términos por el coeficiente de difusión efectiva obtenemos:

$$\frac{2}{r'} \frac{dS'}{dr'} + \frac{d^2S'}{dr'^2} = \Phi^2 \beta \left(\frac{S'}{\beta} + S' \right)$$

Donde S' , r' , Φ y β son constantes adimensionales. A Φ se le denomina módulo de Thiele y se encuentra definido de la siguiente manera: $\Phi = \sqrt{k_r A / D_e}$. Este parámetro relaciona la velocidad de reacción con la velocidad de difusión en la biopelícula. Por tanto, si la resolución analítica de la ecuación anterior proporciona valores elevados del módulo de Thiele se asume que la degradación del sustrato se encuentra limitada por la transferencia de masa por difusión. En el caso contrario, si los valores de Φ son bajos, se asume que la velocidad de degradación se encuentra limitada por la velocidad de la reacción.

El diseño de un reactor determinado requiere de un análisis profundo de las características propias del sistema de reacción para obtener resultados óptimos en el rendimiento de la misma. Para el caso de reactores enzimáticos como los mencionados en este capítulo se recomienda al lector modificar las ecuaciones presentadas, ya que únicamente se ha considerado la geometría esférica de las partículas del soporte sólido, y en la literatura es posible encontrar modificaciones para las partículas planas o cilíndricas (Jördening y Buchholz 2005). Además, la cinética propuesta por Monod permite incluir, en la ecuación de la velocidad de reacción, tantas funciones de saturación como el sistema requiera y que influyen de manera significativa en el mismo, así como funciones de inhibición, que harían más compleja la resolución de la misma pero con la ventaja de proporcionar una mayor representación a la realidad del sistema.

Biorreactores y adsorción

Se han mencionado los reactores más comúnmente utilizados para la biodegradación de plaguicidas mediante la inmovilización de microorganismos en soportes sólidos, sin embargo existen otros métodos que involucran procesos fisicoquímicos además de métodos biológicos para la remoción de estos contaminantes, tal es el caso del proceso de adsorción con carbón activado, del cual sólo haremos una breve descripción.

El carbón activado es un material con una elevada porosidad lo que le proporciona una gran superficie específica que favorece el proceso de adsorción. Este proceso consiste en la transferencia del plaguicida de la fase acuosa (agua

contaminada) hacia una fase sólida, es decir hacia la superficie porosa del carbón activado.

Además de la superficie específica del carbón activado, existen otros factores que afectan al proceso de adsorción siendo una de ellos la naturaleza propia del adsorbato, en este caso el plaguicida a remover. Mientras mayor solubilidad tenga el plaguicida en el agua menor será el grado de adsorción sobre el carbón activado, de igual manera el tamaño molecular del plaguicida es de gran influencia ya que la velocidad de transporte intrapartícula es menor cuanto mayor es la molécula del plaguicida (Ferrer y Seco 2006).

La remoción de plaguicidas del agua utilizando este proceso de adsorción se encuentra ampliamente reportada en la literatura (Groisman *et al.* 2004; Tchobanoglous *et al.* 2002), sin embargo es necesaria la aplicación de sistemas igual de eficientes pero a menores costos, por lo cual la degradación biológica de dichos componentes ha tomado gran interés. Bajo ésta perspectiva, Bandala *et al.* (2006) realizaron un estudio sobre la degradación de 4 de los plaguicidas frecuentemente utilizados en México (aldrín, dieldrín, heptacloro y heptacloro epóxido), aplicando tanto una técnica de remoción biológica, mediante cultivos de células en suspensión de *Pseudomonas fluorescens*, como un proceso de adsorción con carbón vegetal activado, en éstos se encontraron amplias similitudes en el porcentaje de remoción de dichos plaguicidas de hasta un 97%. De dicho estudio se puede concluir que la factibilidad en el uso de procesos de biodegradación para la remoción de plaguicidas previo a un refinado posterior utilizando procesos de adsorción, disminuiría significativamente los costos de operación asociados a este último.

Existen algunos aspectos a considerar para el diseño de biorreactores con células inmovilizadas. Además de la selección del material de empaque para la fijación o inmovilización de los microorganismos, se debe considerar la altura y el diámetro del reactor. En la Figura 11.6 se muestra un esquema general representativo de un reactor con células inmovilizadas. Algunos autores han trabajado columnas con un rango de altura de 45 a 61 cm, diámetro de 5 a 9 cm y un volumen de trabajo de 0.55 l a 2 l, para planta piloto la altura es de 120-150 cm trabajando con aproximadamente 100 l (O'Reilly y Crawford 1989; Heitkamp *et al.* 1990; Shim y Yang 1999; Cheng *et al.* 2003; Martín *et al.* 2000; Jiang *et al.* 2002).

Se debe considerar la densidad de empaque debido a que contribuirá a la distribución homogénea del medio de cultivo y proporcionará el área de superficie de contacto adecuada. El material de empaque deberá mostrar

resistencia mecánica y que no se dañe por efecto de abrasión, debe proporcionar una alta capacidad de retención celular por cada gramo de material. Por otro lado, a partir del volumen del líquido y el flujo de entrada, se conocerá el tiempo de retención del plaguicida en la columna para que pueda ser transformado por el consorcio bacteriano.

La inmovilización celular se desarrolló para optimizar procesos y hacerlos más prácticos. Para ello se han diseñado biorreactores de tipo columna, con los cuales poder recircular la mezcla de contaminantes, durante varios ciclos. Son dos modelos de biorreactores tipo columna a partir de los cuales se han hecho modificaciones y se muestran en la Tabla 11.4.

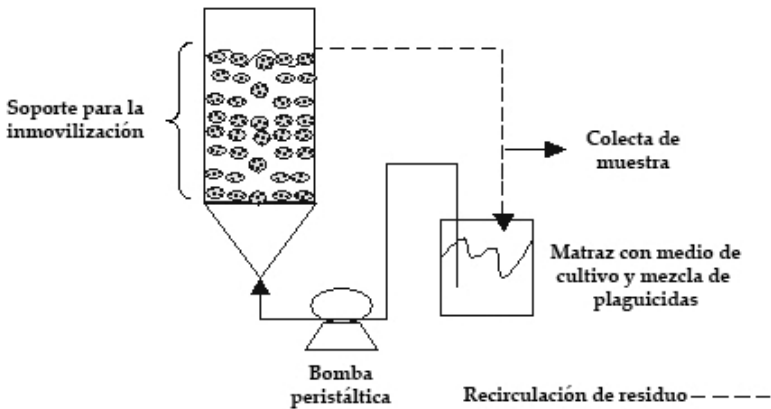
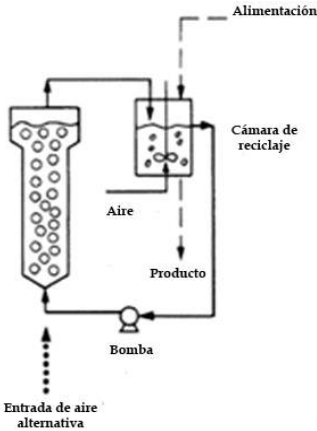
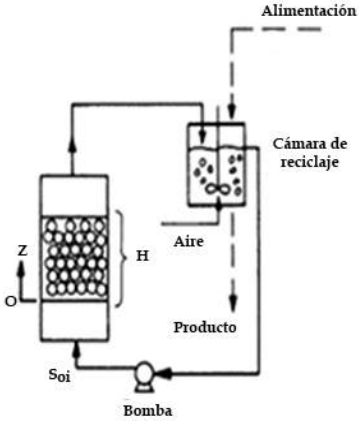


Figura 11.6. Esquema general del reactor de lecho empacado con células inmovilizadas y recirculación de medio.

Tabla 11.4. Descripción de las columnas con biomasa inmovilizada para el tratamiento de xenobióticos.

Tipo de columna	Descripción
<p>Lecho fluidizado</p> 	<p>Sistema agitado con aire, en donde partículas o flóculos contienen la biomasa y están suspendidos. Proporciona una considerable superficie de contacto con los nutrientes. Permite retener altas concentraciones de biomasa (Perpich y Laubacher 1996; Wu <i>et al.</i> 2003).</p>
<p>Cama empacada, película fija</p> 	<p>Esta columna se empaca con materiales porosos los cuales ofrecen una mayor superficie de contacto. El influente contaminado pasa a través del soporte durante varios ciclos de tratamiento (Rittmann y McCarty 2001).</p>

Tipos de biorreactores utilizados en la inmovilización celular

El sistema de lecho fluidizado ha sido ampliamente aplicado en el tratamiento de aguas residuales municipales cuyo contenido es alto en materia orgánica; en el tratamiento de efluentes provenientes de tenerías y rastros para la remoción de metales pesados, de nitratos, nitritos, sulfatos y fosfatos, utilizando microorganismos tales como *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis*, *Rhizopus arrhizus* entre otros hongos, algas y cianobacterias. Los materiales empleados para la inmovilización de biomasa en este sistema son formadores de geles

(alginatos, carragenina, poliacrilamida) y flóculos (biosorbentes granulados, carbón activado, lodos residuales). Entre las principales limitantes de este sistema se encuentran los altos requerimientos de energía para la aireación, algunos materiales empleados muestran poca resistencia mecánica por lo que se generan cantidades considerables de lodos como producto de la desintegración de los flóculos. Los compuestos halogenados son difíciles de eliminar de un sistema aerobio (Cañizares *et al.* 1993)

Por su parte el sistema de lecho empacado, ha sido aplicado con éxito en el tratamiento de efluentes industriales y de mezclas de residuos peligrosos, tales como plaguicidas, hidrocarburos alifáticos, policíclicos aromáticos y PCB. Este sistema se basa en la formación de biopelícula sobre soportes porosos, permite trabajar condiciones aerobias y anaerobias, no se forman lodos como subproducto, la biomasa así como el material poroso se recuperan y se reutilizan. Bacterias del género *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter sp.* y otras de la familia *Enterobacteriaceae* son frecuentemente aisladas ya que tienen la capacidad de producir compuestos con propiedades adhesivas y biosurfactentes lo que permite fijarse a superficies y además hacer más biodisponibles algunos compuestos de baja solubilidad. Comúnmente el modo en que se opera este sistema es de flujo ascendente con recirculación de residuo por varios ciclos, de esta forma se incrementa la eficiencia en la remoción, y los materiales empleados tienen mayor resistencia mecánica (Jajue *et al.* 2006; Singh y Walker 2006).

En el diseño de columnas con células inmovilizadas se considera como criterio principal su altura y diámetro, ya que de ello dependerá el volumen nominal y de trabajo. Otros parámetros considerados son el flujo, tiempo de residencia hidráulica de la mezcla de contaminantes en la columna, el cual se estima con el flujo y el volumen de trabajo del reactor. Por otra parte el material de soporte, tamaño de partículas, la densidad de empaque contribuirán a la distribución homogénea del medio de cultivo y proporcionará el área de superficie de contacto adecuada para los microorganismos inmovilizados. El material de soporte debe mostrar resistencia mecánica y no dañarse por efecto de abrasión o fricción, debe proporcionar una alta capacidad de retención celular por cada gramo de material (Richins *et al.* 2000; Jiang *et al.* 2002). La diversidad en el diseño, dimensiones y modo de trabajo de las columnas varía dependiendo de la aplicación, tipo de contaminante, cantidad y volumen. En la Tabla 11.5 se muestran los valores de dimensiones de columnas reportadas por diferentes autores.

Tabla 11.5. Dimensiones de columnas reportadas por O'Reilly y Crawford 1989; Heitkamp *et al.* 1990; Shim y Yang 1999; Cheng *et al.* 2003; Martín *et al.* 2000; y Jiang *et al.* 2002.

	Laboratorio	Planta piloto
Diámetro (cm)	5-9	32-29
Altura (cm)	45-61	120-150
Volumen (L)	0.8-3.8	100

De acuerdo con Cañizares (1993 y 1994), los sistemas de tratamiento biológico que emplea la biomasa inmovilizada en biopelícula, pueden tener varias configuraciones, desde los discos giratorios, membranas microporosas, pero independientemente de la configuración que tenga el reactor, los sistemas con biopelícula han mostrado un mejor desempeño comparado con los sistemas de biomasa en suspensión, ya que no generan flóculos o lodos, es más fácil de operar y es energéticamente económico.

Se debe considerar la densidad de empaque debido a que contribuirá sobre la distribución homogénea del medio de cultivo y proporcionará el área de superficie de contacto adecuada. El material de empaque deberá mostrar resistencia mecánica y que no se dañe por efecto de abrasión, debe proporcionar una alta capacidad de retención celular por cada gramo de material. Por otro lado, a partir del volumen del líquido y el flujo de entrada, se conocerá el tiempo de retención del plaguicida en la columna para que pueda ser transformado por el consorcio bacteriano.

Aplicaciones de la inmovilización celular en la degradación de plaguicidas

En las últimas dos décadas se han publicado trabajos que emplean biomasa inmovilizada para la producción de biosurfactantes, degradación de plaguicidas, entre otros xenobióticos (Tabla 11.6). Los materiales más utilizados para la inmovilización celular y de enzimas son: hidrogeles como polivinilalcohol, alginato de sodio, agar, poliacrilamida, polietilenglicol; en segundo lugar los soportes porosos como la cerámica, la sepiolita, silica, espuma de poliuretano, celulosa, entre otros.

Un material de soporte destinado a la inmovilización debe ser: inerte, no tóxico, térmicamente estable para resistir la esterilización, barato, si es posible regenerable, y debe tener una gran capacidad de retención. Y por otro lado no debe influenciar el metabolismo celular o alterar el medio de fermentación (Rase 1992).

Tabla 11.6. Estudios de aplicación de la inmovilización para la biodegradación de plaguicidas y otros xenobióticos.

Aplicación	Matriz/material	Referencia
Biodegradación de 2.4 D y DDT	Formación de biopelícula en tezontle	Santacruz <i>et al.</i> 2005
Biodegradación de colorantes	Perlas de polivinil alcohol (PVA)	Wu <i>et al.</i> 2003 ; Cheng <i>et al.</i> 2003
Biodegradación de coumafós	Perlas de cryogel PVA	Jin-Woo <i>et al.</i> 2002
Biodegradación de dimetilftalato	Perlas de alginato y espuma de poliuretano	Niazi y Karegoudar 2001
Degradación de naftaleno	Perlas de agar, alginato, poliacrilamida y esponja de poliuretano	Manohar <i>et al.</i> 2001
Biodegradación de paraoxón y diclorvos	Silica-silicón y poliuretano	Iqbal y Ballesteros 2000
Remoción de propacloro	Sepiolita granular (material de cerámica)	Martín <i>et al.</i> 2000
Biodegradación de paraoxón	Celulosa	Richins <i>et al.</i> 2000
Hidrólisis de paraoxón	Polietilenglicol hidrogel	Andreopoulos <i>et al.</i> 1999
Biodegradación de pentaclorofenol	Polietilenglicol	Wang <i>et al.</i> 1999
Detoxificación de paraoxón, diazinón, coumafós, paratión metílico y etílico	909 PP	Mulchandani <i>et al.</i> 1999
Biodegradación de BTEX	Superficie porosa de algodón y acero	Shim y Yang 1999
Remoción de etileno	Biofiltro	Elsgaard 1998
Biotransformación de benzaldehído	Alginato y silicón-alginato	Nikolova y Ward 1993, 1992

Referencias

- Andreopoulos F., Roberts M., Bentley D., Milton J., Beckman J., Russell J.A. (1999). Photoimmobilization of organophosphorus hydrolase within a PEG-based hydrogel. *Biotechnology Bioengineering*. 65(5):579-588.
- Arroyo M. (1998). Inmovilización de enzimas. *Fundamentos, métodos y aplicaciones*. *Archives Pharmaceutica*. 39(2):23-39.
- Bandala E.R., Andres-Octaviano J., Pastrana P., Torres L.G. (2006). Removal of aldrin, dieldrin, heptachlor, and heptachlor epoxide using activated carbon and/or *Pseudomonas fluorescens* free cell cultures. *Journal of*

- Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. 41(5):553-569.
- Benning M., Shim H., Raushel M., Holden H. (2001). High-resolution X-ray structures of different metal substituted forms of phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *Biochemistry*. 40:2712-2722.
- Bošković N., Garić R., Grbavčić Z. (2007). Wall-to-liquid mass transfer in fluidized beds and vertical transport of inert particles. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 72(11):1103-1113.
- Bryers J.D., Banks M.K. (1990). Assessment of biofilm ecodynamics. En: *Physiology of immobilized cells, proceedings of an international symposium held, at Wageningen the Netherlands*. De Bont J., Visser J., Matiasson B. y Tramper J. (1990). Netherlands. pp. 523-525.
- Cañizares R.O., Domínguez A.R., Rivas L., Montes M.C., Travieso L., Benítez F. (1993). Free and immobilized cultures of spirulina maxima for Seine waste treatment. *Biotechnology Letters*. 15(3):321-326.
- Chen W., G. Georgiou. (2002). Cell-surface display of heterologous proteins: from high-throughput screening to environmental applications. *Biotechnology Bioengineering*. 5(79):496-503.
- Chen S., Sun D., Chung J.S. (2007). Anaerobic treatment of highly concentrated aniline wastewater using packed-bed biofilm reactor. *Process Biochemistry*. 42:1666-1670
- Chen W. y A. Mulchandani. (1998). The use of live biocatalysts for pesticide detoxification. *Trends Biotechnology*. 16(2):71-76.
- Cheng K., Wu J., Yang W., Sz-Chwun J. (2003). Evaluation of effective diffusion coefficient and intrinsic kinetic parameters on azo dye biodegradation using PVA-immobilized cell beads. *Biotechnology Bioengineering*. 83(7):821-832.
- Chisti M.Y., Moo-Young M. (1987). *Airlift Reactors: Characteristics, Applications and Design Considerations*. *Chemical Engineering Communications*. 60:195-242.
- Davey M.E. y O'toole G. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology Molecular Biology Reviews*. 64(4):847-867.
- Elsgaard L. (1998). Ethylene removal by a biofilter with immobilized bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 64(11):4168-4173.
- Ferrer J. y Seco A. (2006). *Tratamientos Físicos y Químicos de Aguas Residuales*. Editorial UPV.
- Groisman L., Rav-Acha C., Gerstl Z., Mingelgrin U. (2004) Sorption and Detoxification of Toxic Compounds by a Bifunctional Organoclay. *Journal of Environmental Quality*. 33:1930-1936.

- Ha J. (2005). Bioremediation of the organophosphate pesticide, coumaphos, using microorganisms immobilized in calcium-alginate gel beads. Doctor Of Philosophy Graduate Studies of Texas A&M University. 181 p.
- Heitkamp M., V. Camel, T. Reuter, W. Adams. (1990). Biodegradation of p-nitrophenol in an aqueous waste stream by immobilized bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 56(10):2967-73.
- Hong S. y Raushel F. (1999). Stereochemical preferences for chiral substrates by the bacterial phosphotriesterase. *Chemical Biology Interacting*. 14:119-120.
- Huerta-Ochoa S. Editor (2004). Tópicos en biotecnología. Reactores enzimáticos. UAM. Unidad Iztapalapa.
- Iqbal G. y Ballesteros A. (2000). Degradation of organophosphorous nerve agents by enzyme-polymer nanocomposites: efficient biocatalytic materials for personal protection and large scale detoxification. *Biotechnology Bioengineering*. 70(4):400-410.
- Jajuee B., Margaritis, A., Karamanev D., Bergougrou M.A. (2006). Kinetics of biodegradation of p-Xylene and naphthalene and oxygen transfer in a novel airlift immobilized bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 96:232-243.
- Jiang H., Tay J., Tay S. (2002). Aggregation of immobilized activated sludge cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of phenol. *Letters Applied Microbiology*. 35:439-445.
- Jin-Woo K., Rainina I., Mulbry W., Engler R., Wild R. (2002). Enhanced-Rate Biodegradation of Organophosphate Neurotoxins by Immobilized Nongrowing bacteria. *Biotechnology*. 18:429-436.
- Jördening H.J. y Buchholz K. (2005) High-rate Anaerobic Wastewater Treatment. pp. 135-162. En: *Environmental Biotechnology. Concepts and Applications* Jördening, H.J. y Winter, J. Editores. WILEY-VCH. 488 pp.
- Karamanev G., Chavarie C., Samson R. (1998). Soil immobilization: new concept for biotreatment of soil contaminants. *Biotechnology Bioengineering*. 4(57):471-476.
- Manohar S., Kim C., Karegoudar T. (2001). Enhanced degradation of naphthalene by immobilization of *Pseudomonas* sp. Strain NGK1 in polyurethane foam. *Applied Microbiology Biotechnology*. 55:311-316.
- Martín M., Mengs G., Plaza E., Garbi C., Sánchez M., Gibello A., Gutierrez F., Ferrer E. (2000). Propachlor removal by *Pseudomonas* strain GCH1 in a immobilized-cell system. *Applied Environmental Microbiology*. 66(3):1190-1194.

- Mondragón M.E., Ruiz N., Tafoya A., Juárez C., Curiel E., Galíndez J. (2008). Chemostat selection of a bacterial community able to degrade s-triazinic compounds: continuous simazine biodegradation in a multi-stage packed bed biofilm reactor. *Journal Industrial Microbiology Biotechnology*. 35:767-776.
- Morgan J.M. y Noyola A. (2008). Evaluation of an aerobic submerged filter packed with volcanic scoria. *Bioresource Technology*. 99:2528-2536.
- Mulchandani A., Kaneva I., Chen W. (1999). Detoxification of organophosphate nerve agents by immobilized *Escherichia coli* with surface-expressed organophosphorus hydrolase. *Biotechnology Bioengineering*. 63(2):216-223.
- Niazi J.H. y Karegoudar T.B. (2001). Degradation of dimethylphthalate by cells of *Bacillus* sp. immobilized in calcium alginate and polyurethane foam. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 36(6):1135-1144.
- Nicolella C., Zolezzi M., Rabino M., Furfaro M., Rovatti, M. (2005). Development of particle-based biofilms for degradation of xenobiotic organic compounds. *Water Research*. 39:2495-2504.
- Nikolova P. y Ward O. (1993). Whole Cell biocatalysis in nonconventional media. *Journal of Industrial Microbiology*. 12:76-86.
- Nikolova P. y Ward O. (1992). Biotransformation of benzaldehyde to benzyl alcohol by whole cells and cells extracts of baker's yeast in two phase systems. *En: Biocatalysis in nonconventional media*. Tramper J. et al. Elsevier science publishers B.V. Amsterdam. pp 667-673.
- O'Reilly K. y Crawford R. (1989). Kinetics of p-Cresol degradation by an immobilized *Pseudomonas* sp. *Applied Environmental Microbiology*. 55(4):866-870.
- Ortiz-Hernández L., Monterrosas-Brisson M., Yáñez-Ocampo G., Sánchez-Salinas E. (2001). Biodegradation de methyl-parathion by bacteria isolated of agricultural soil. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 17(3):147-155.
- Pedersen S. y Christensen M. (2000). Immobilized biocatalysts pp 438-443. *En: Applied Biocatalysis*. Straathof, A., Adlercreutz, P. Harwood academic publishers. Netherlands.
- Perpich W. y Laubacher R. (1996). Implementation of GAC Fluidized-Bed for Treatment of Petroleum Hydrocarbon in Groundwater at Two BP Oil Distribution Terminals, Pilot and Full-Scale. *En: Implementation of biotechnology in industrial waste treatment and bioremediation International symposium, Implementation of biotechnology in industrial waste treatment and bioremediation*. pp 317-332.

- Rase I. (1992). Immobilisation d'Acetobacter acéti sur différents supports céramiques, dans un bioréacteur à film tombant, en vue de la production d'acide acétique. Travail de fin d'études. Faculte Polytechnique de Mons. 44 pp.
- Richins R., Mulchandani A., Chen W. (2000). Expression, immobilization, and enzymatic characterization of cellulose-binding domain-organophosphorus hydrolase fusion enzymes. *Biotechnology Bioengineering*. 69(6):591-596.
- Rittmann B.E., y McCarty P.L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. Mc Graw Hill. 745 pp.
- Santacruz G., Bandala E., Torres L. (2005). Chlorinated pesticides (2,4 -D and DDT) biodegradation at high concentrations using immobilized *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Environmental Science and Health. B*. 40:571-583.
- Singh B. y Walker A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *Federation of European Microbiological Societies. FEMS Microbiology Reviews*. 30:428-471
- Shim H. y Yang T. (1999). Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized in a fibrous-bed bioreactor. *Journal Biotechnology*. 67(2-3):99-112.
- Shuler M. y Kargi F. (1999). *Bioprocess engineering basic concepts*. Prentice Hall PTR. USA. 284 pp.
- Tchobanoglous G., Burton F.L., Stensel H.D. (2002). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4ª edición. McGraw-Hill. 1848 pp.
- Torres L.G. (2002). Estudio de la remoción de fenoles en sistemas biológicos con biomasa fija. Tesis de doctorado en Ingeniería Ambiental. Posgrado de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 148 p.
- Yáñez-Ocampo G., Sánchez-Salinas E., Jimenez-Tobon G., Penninckx M., Ortiz-Hernández L. (2009). Removal of two organophosphate pesticides by a bacterial consortium immobilized in alginate or tezontle. *Journal of Hazardous Materials*. 168:1554-1561.
- Yáñez-Ocampo G., Sánchez-Salinas E., Ortiz-Hernández L. (2011). Removal of methyl parathion and tetrachlorvinphos by a bacterial consortium immobilized on tezontle-packed up-flow reactor. *Biodegradation*. 22:1203-1213.
- Walas S.M. (2001) Reactores químicos pp. 23-1-23-81. pp 30-46. En: *Manual del ingeniero químico*. Perry, R. y Green, D.-H., Editores. McGraw-Hill.

- Walsh P. y Malone D. (1995). Cell growth patterns in immobilization matrices. *Biotechnology Advances*. 13:13-43.
- Wang P., Sergeeva M., Lim L., Dordick J. (1997). Biocatalytic Plastics as active and stable materials for biotransformations. *Nature Biotechnology*. 15:789-793.
- Wang P., Charlene A., Kaufman N. (1999). Poly(ethylene glycol)-modified ligninase enhances pentachlorophenol biodegradation in water-solvent mixtures. *Biotechnology Bioengineering*. 64(3):290-297.
- Wu J., Chen K., Chen Ch., Hwang J. (2003). Hydrodynamics characteristics of immobilized cell beads in a liquid-solid fluidized-bed bioreactor. *Biotechnology Bioengineering*. 83(5):583-594.

CAPÍTULO 12

SORCIÓN DE PLAGUICIDAS EN SUELO: RETENCIÓN O LIBERACIÓN DE CONTAMINANTES

Angeluz Olvera-Velona¹ y Arturo Colín-Cruz²

Introducción

La sorción es el proceso mediante el cual, las moléculas denominadas sorbatos, presentes en solución, se adhieren a la superficie de un sólido denominado sorbente, esto es a través de fuerzas físicas, químicas o una combinación de ambas. La desorción de una molécula sorbida, involucra remover el sorbato y, simultáneamente, restablecer la capacidad de sorción original del sorbente (Slejko 1985; Calvet 1989). La sorción incluye todos los fenómenos de superficie activa tales como la adsorción, precipitación, intercambio iónico tamizado molecular y absorción (Rouquerol, 1999).

El mecanismo de sorción comprende cuatro etapas (Figura 12.1) (Metcalf y Eddy 2003). A continuación se hace una descripción más detallada de éstas:

1. Transferencia del soluto desde el seno de la fase líquida hacia la película líquida que rodea el sorbente, esta transferencia se lleva a cabo por difusión y/o convección.
2. Transferencia del soluto a través de la película líquida hacia la superficie del sorbente, caracterizada por el coeficiente de transferencia de masa global externa (K_f), parámetro inversamente proporcional a la resistencia ejercida por la película externa a la transferencia de masa.
3. Difusión del soluto en el sorbente bajo los efectos del gradiente de concentración. Esta difusión puede hacerse en estado libre, en el líquido intraparticular, el coeficiente de difusión porosa (D_p) caracteriza esta migración; o en estado combinado, de un sitio de sorción a otro adyacente, el coeficiente superficial (D_s) es específico de esta etapa y corresponde a la difusión a lo largo de la superficie del poro del sorbente. Algunos autores no establecen diferencia entre estos coeficientes y los agrupan como uno solo.
4. Sorción. Este fenómeno corresponde al sistema de más baja energía y se caracteriza por las interacciones soluto-soporte que pueden ser de dos

¹ Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209.

² Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Colón esq. Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México, México. C.P. 50100.

tipos: la sorción física (fisisorción) que se basa en las fuerzas intermoleculares débiles (Van der Waals o electrostática), cuyos efectos son reversibles, y la sorción química (quimisorción) que se basa en las fuerzas de naturaleza covalente con efectos casi siempre irreversibles. La existencia de tales enlaces supone la presencia de sitios reactivos. Siempre intervienen simultáneamente los dos fenómenos, pero la fisisorción parece ser el mecanismo preponderante.

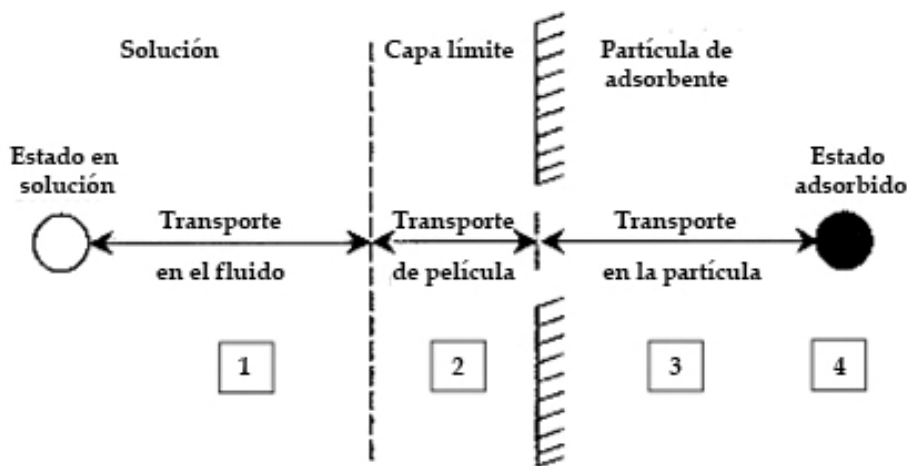


Figura 12.1. Diagrama del mecanismo de sorción en una partícula porosa. (Metcalf y Eddy 2003).

En general estas etapas se efectúan en serie. Para la mayoría de los autores, las etapas 1 y 4 son rápidas, por lo tanto, son la transferencia de masa a través de la película y de difusión en el interior del sorbente (superficial y porosa) las que controlan la cinética de sorción. El proceso de sorción depende de la naturaleza y la estructura del sorbente, de las propiedades fisicoquímicas del sorbato y del medio en el cual la sorción debe efectuarse. El medio puede intervenir modificando las propiedades fisicoquímicas del sorbente (solubilidad, carga superficial, carácter hidrofóbico/hidrofílico entre otros), y la accesibilidad a los sitios de sorción por recubrimiento de la superficie externa del sorbente, o bien, introduciendo compuestos susceptibles de entrar en competencia con el contaminante del cual se busca su eliminación. La sorción es un término general que engloba la adsorción y desorción. La adsorción es la acumulación de una sustancia en una interfase, como la superficie del sólido. La desorción se refiere al proceso contrario, es decir, la liberación de los compuestos retenidos (Xing y Pignatello 1996; Colín 2007).

La adsorción en el suelo resulta de una afinidad entre partículas del mismo y el compuesto en solución, lo que provoca su acumulación en la superficie de las

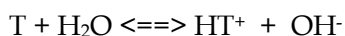
partículas del suelo. La adsorción puede deberse a la atracción física, química y al intercambio iónico. La atracción física se debe principalmente a las fuerzas de enlace de Van der Waals, su química se origina en una reacción entre la superficie sólida y el compuesto soluble (Xing y Pignatello 1996). Este proceso juega un papel importante en la actividad de los plaguicidas, la persistencia y la degradación de los mismos. La sorción puede dar lugar a una *inactivación de los plaguicidas*, ya que estas moléculas al quedar bloqueadas no pueden ejercer su efecto tóxico. Por ejemplo si la textura del suelo es arcillosa y la adsorción es mayor, se deben aplicar dosis mayores para conseguir los efectos deseados. Así, también la adsorción puede dar origen a un aumento de la persistencia de los plaguicidas en el suelo, con el riesgo de contaminación. Por ejemplo si la adsorción produce una separación irreversible de la molécula de la forma activa, entonces la pérdida de actividad será permanente, pero si se producen cambios en las condiciones ambientales (temperatura, humedad, o la estructura del suelo) se pueden originar desprendimientos lentos del compuesto, de modo que vuelve a entrar en el sistema biológico y, de alguna forma, entrar en la cadena alimenticia y ser tóxico para los diferentes organismos no blanco. También pueden influir retrasando o impidiendo la degradación, ya que mientras que estos compuestos están adsorbidos los mecanismos de descomposición no pueden actuar o actúan más lentamente.

Es por ello que la adsorción probablemente es la forma más importante de interacción entre suelo y plaguicida. Ella puede cambiar de una forma completamente reversible a una totalmente irreversible.

Mecanismos de adsorción/desorción

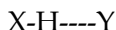
La interacción adsorción/desorción da como resultado que la molécula del plaguicida quede retenida en el suelo, principalmente sobre las arcillas y la materia orgánica, según los siguientes mecanismos:

Cambio iónico. Cuando las moléculas de los plaguicidas tienen un comportamiento catiónico pueden intercambiarse con los cationes inorgánicos que saturaban inicialmente la arcilla o la materia orgánica, así quedan retenidas por fuerzas electrostáticas. Este mecanismo depende del pH del suelo, ya que éste influye en la carga de los minerales de la arcilla y de la materia orgánica, además, el pH también afecta la carga en las moléculas de varios plaguicidas. Por ejemplo la triazina (T) se protona a bajo pH.



El catión HT^+ es adsorbido en superficies cargadas negativamente de las arcillas y materia orgánica.

Enlace por puentes de hidrógeno o puentes de agua. Es el mecanismo principal por el que las moléculas no iónicas polares se adsorben a los minerales arcillosos y a la materia orgánica. En este enlace los átomos de hidrógeno, forman puentes entre dos átomos electronegativos.



X e Y pueden ser: O, N, F, Cl entre otros. También se pueden establecer puentes de H_2O entre la molécula del compuesto orgánico y la partícula mineral, tal como sucede en los suelos húmedos.

Cambio de ligando. Reemplazamiento de uno o más ligandos en los complejos entre iones metálicos y el suelo. El plaguicida actúa como agente quelante fuerte, desplazando los ligandos que estaban previamente, por ejemplo el agua. Así pues, el metal en esta ocasión actúa como puente en la adsorción del plaguicida.

Enlace por transferencia de carga. Es la interacción que se produce cuando existe una transferencia de electrones entre un dador rico en electrones, como son muchos plaguicidas, y un aceptor deficiente en electrones, como las quinonas que existen en la materia orgánica.

Fuerzas de Van der Waals. Los compuestos orgánicos neutros (moléculas apolares) pueden interactuar con partículas minerales a través de débiles interacciones físicas. Para ello la molécula debe tener tamaño grande. Las fuerzas físicas, relativamente débiles, en general, se superponen a las demás interacciones. Su importancia aumenta con el tamaño de la molécula adsorbida.

Interacciones hidrofóbicas. Son propiedades de los compuestos de baja solubilidad en agua, plaguicidas no polares, como los PCB y disolventes orgánicos. Consiste en la adsorción de compuestos de elevado coeficiente de reparto octanol: agua (lipófilos) a la superficie de un adsorbente hidrófobo (ceras, lípidos, porciones apolares de sustancias húmicas).

Adsorción física. También llamada no específica, está basada en fuerzas de atracción relativamente débiles, como la atracción electrostática y las fuerzas Van der Waals. Las especies adsorbidas mantienen su esfera de agua coordinada y, por lo tanto, no pueden acercarse a la superficie más de lo que le permite el radio del ión hidratado. La adsorción se ve favorecida por iones que tienen una densidad alta de carga, es decir, los iones trivalentes tienen preferencia sobre los

univalentes. Además, un efecto de entropía promueve la adsorción física de las especies poliméricas como los óxidos de Fe y Al.

Adsorción química. O específica, está basada en las fuerzas de atracción más fuertes que las físicas. Como en ella participan enlaces de hidrógeno e interacciones de electrones orbitales π , las especies adsorbidas pierden sus esferas hidratadas y pueden acercarse hasta la superficie a una distancia tan pequeña como el radio iónico. La adsorción química está limitada a una sola capa.

Reacciones de intercambio iónico. Tanto las partículas minerales como las de material orgánico pueden tomar cationes de la solución y liberar una cantidad equivalente de otro catión a la solución. Este proceso se denomina intercambio catiónico. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) para una fase determinada, es la medida del número de puntos de intercambio presentes en 100g de material. Metodológicamente se determina midiendo los iones amonio, absorbidos de una solución de acetato de amonio 1 mol^{-1} a pH 7.

Cinéticas de sorción

La cinética es la velocidad de sorción de un contaminante sobre una superficie activa (sorbente), tiene la misma forma que cualquier proceso químico o cinética de reacción. Permite determinar el tiempo de equilibrio entre las fases (sólida y líquida) y saber si el proceso de sorción del sorbato es rápido o lento.

En el proceso de sorción, el sorbato penetra en las cavidades y espacios libres entre cada partícula de material sorbente, por lo tanto la cantidad que es retenida puede variar de un material a otro hasta alcanzar el equilibrio cinético, esto va a depender principalmente de variables tales como temperatura, concentración, pH, tipo de interacciones existentes entre el material sorbente y las moléculas del contaminante adsorbidas (Weber *et al.* 2004).

En la mayoría de los sólidos, la superficie no es totalmente plana; en el caso de los sólidos porosos y en particular en el caso de las zeolitas, la sorción ocurre fundamentalmente en los poros. Se reconocen tres tipos de poros: microporos, son menores a los 2 nm de diámetro como es el caso de los poros de las zeolitas; mesoporos, su diámetro es de entre 2 y 50 nm; y macroporos, su diámetro es mayor a los 50 nm (Sing *et al.* 1985).

La sorción, a diferencia del intercambio iónico, es un fenómeno superficial en el cual una especie se une a la superficie del mineral a través de fuerzas de

atracción débiles. Actualmente existen ciertos modelos matemáticos empíricos que se utilizan en la obtención de parámetros cinéticos de sorción, los cuales se describirán a continuación.

Modelo de pseudo primer orden. Este modelo fue propuesto por Lagergren, es comúnmente usado en sorbentes con superficie homogénea y sorción física; la velocidad de sorción es proporcional a la concentración de soluto (Torres-Pérez *et al.* 2008) (Ecuación 1).

$$q_t = q_e(1 - e^{-K_L t}) \quad \text{Ecuación 1}$$

Con la forma linealizada (Ecuación 2):

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{K_L t}{2.303} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde q_e y q_t son las cantidades de contaminante adsorbido (mg/g) al equilibrio y al tiempo t (h), respectivamente, y K_L (h^{-1}) es la constante de sorción de Lagergren. La gráfica lineal de $\log(q_e - q_t)$ vs. t permite encontrar la constante de Lagergren como la pendiente.

Modelo de segundo orden. Este modelo es empleado para representar procesos de quimisorción sobre materiales heterogéneos (Gutiérrez-Segura *et al.* 2009) y se representa en la Ecuación 3:

$$q_t = \frac{1}{b}(1 - abt) \quad \text{Ecuación 3}$$

Con la forma linealizada (Ecuación 4):

$$q_t = \frac{1}{b} \ln(ab) + \frac{1}{b}(t) \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde q_t (mg/g) es la cantidad de contaminante adsorbido al tiempo t (h), a es la constante de sorción del contaminante (mg/g) y b es la constante de desorción (mg/g). Representando en una gráfica los valores experimentales de q_t vs. $\ln(t)$, a partir de la pendiente se obtiene el valor de la constante de desorción b y del intercepto en el eje y se obtiene la constante de sorción a .

Modelo de pseudo segundo orden. El modelo de pseudo segundo orden fue propuesto por Ho y McKay (2003) (Ho 2006); el ajuste de los datos experimentales a este modelo indican que el proceso de sorción se lleva a cabo por mecanismos de quimisorción. La expresión que representa este modelo es la siguiente (Ecuación 5):

$$\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)^2 \quad \text{Ecuación 5}$$

Con la forma linealizada (Ecuación 6):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde q_t y q_e son las cantidades de contaminante adsorbido al tiempo t y al equilibrio (mg/g), respectivamente, y k es la constante de velocidad de pseudo segundo orden para los procesos de sorción (g/mg h). Así, una gráfica de t/q_t vs. t deberá dar una relación lineal con una pendiente de $1/q_e$ y un intercepto $1/kq_e^2$.

Isotermas de sorción

El comportamiento a través de las isotermas de sorción describe la cantidad de sorbato adherido sobre la superficie del sólido, en función de la concentración de sorbato o en función de la masa de sorbente en equilibrio del mismo, siempre a temperatura constante, representando uno o más de los siguientes fenómenos: captación de una monocapa de sorbato, captación en multicapas y condensación en poros (o capilares). Los modelos de isotermas más conocidos son: isoterma lineal, isoterma Freundlich, isoterma Langmuir, e isoterma Langmuir-Freundlich, que a continuación se describen:

Isoterma lineal. Representa la forma más simple de una isoterma de sorción, cuando la sección inicial de una isoterma se comporta en forma lineal, la pendiente representa el coeficiente de distribución, K_d (Fall *et al.* 2001).

El coeficiente de distribución es la relación entre el contenido de la sustancia en la fase sólida y la concentración de la sustancia en la fase acuosa. Un valor bajo de K_d implica que la mayor parte del sorbato se encuentra en la solución, mientras que un valor elevado de K_d indica que el sorbato tiene gran afinidad por el sorbente (Ecuación 7):

$$q_e = K_d C_e \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

- q_e Capacidad de sorción (mg/g).
- K_d Coeficiente de distribución (L/g).
- C_e Cantidad de soluto adsorbido y concentración de soluto en el equilibrio (mg/L).

Isoterma de Freundlich

Este modelo se aplica en estudios en lotes. La ecuación empírica de Freundlich, se basa en el proceso de sorción sobre una superficie heterogénea (Gutiérrez-Segura *et al.* 2009) y está dada por la Ecuación 8:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

- q_e Cantidad de soluto adsorbido por peso unitario de sorbente (mg/g).
- K_F Constante de Freundlich ($\text{mg}^{1-1/n}\text{g}^{-1}\text{L}^{1/n}$).
- C_e Concentración de soluto en la solución acuosa en el equilibrio (mg/L).
- $1/n$ Intensidad de sorción del sorbato por el sorbente.

Isoterma de Langmuir

La ecuación de isoterma más ampliamente usada para modelar el equilibrio de sorción es la ecuación de Langmuir, la cual asume que la energía de sorción de cada molécula es la misma e independiente de la superficie que se cubre. La sorción se produce en determinados lugares y no se tiene una interacción entre las moléculas retenidas (Slejko 1985). La expresión matemática que describe este modelo es la siguiente (Ecuación 9):

$$q_e = \frac{q_{\max} b C_e}{1 + b C_e} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

- q_e Cantidad de soluto adsorbido por unidad de peso de sorbente (mg/g).
- q_{\max} Capacidad máxima de sorción (mg/g).
- C_e Cantidad de soluto en el líquido al equilibrio (mg/L).
- b Constante de Langmuir, se refiere a la energía de sorción (L/mg).

La isoterma de Langmuir se diferencia de la isoterma de Freundlich en que el valor de la concentración del sorbato en el sorbente tiende hacia un límite de

saturación en la ecuación de Freundlich, lo cual no sucede en la otra. A veces se llega a resultados satisfactorios con ambas ecuaciones (Aksu y Gönen 2004).

Isoterma de Langmuir-Freundlich

Este modelo es una combinación de los modelos Langmuir y Freundlich (Gutiérrez-Segura *et al.* 2009) y este es expresado en la Ecuación 10:

$$q_e = \frac{KC_e^{1/n}}{1 + bC_e^{1/n}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:

- q_e Cantidad de soluto adsorbido por unidad de peso de sorbente (mg/g).
- C_e Cantidad de soluto en el líquido al equilibrio (mg/L).
- K, b Constantes empíricas del modelo de Langmuir.
- $1/n$ Coeficiente de Freundlich.

Las isotermas de Langmuir y de Freundlich son las que mejor explican los procesos de sorción de los plaguicidas en el suelo. La sorción de iones metálicos sobre óxidos se describe bien con la isoterma de Langmuir, mientras que la sorción de plaguicidas en partículas de arcilla y sobre el complejo arcilla-humus se describe mejor con la isoterma de Freundlich. Con las isotermas de adsorción/desorción podemos calcular el coeficiente de K_d y el coeficiente de adsorción tomando en cuenta el carbono orgánico (K_{oc}), estos coeficientes son parámetros importantes para evaluar la sorción y la disponibilidad de los plaguicidas.

Características del sorbente (suelo) y del sorbato (plaguicida) y su importancia en la sorción

La contaminación del suelo y su consecuente reducción en la capacidad para proveer alimento a una población creciente, es un tema crítico sobre todo cuando se considera la seguridad alimenticia de un país. Solamente el 19% del territorio mexicano es apto para la agricultura, y menos del 24% de esa superficie tiene posibilidades de irrigación. Es de importancia estratégica conocer las condiciones del suelo, su distribución, extensión y tendencias en el proceso de degradación, así como los resultados de las políticas de restauración y mantenimiento de su calidad. La agricultura es una de las prácticas relacionadas a la degradación del suelo, debido principalmente a la sobreexplotación de cultivos intensivos, además del uso y abuso de agroquímicos, tanto de

fertilizantes como plaguicidas (COFEPRIS 2010). Cuando los plaguicidas son aplicados al follaje o directamente al suelo. Los residuos no se depositan en forma homogénea, si no que aproximadamente un 50% permanece en los primeros 2.5 cm. En general la zona de acción se ejerce hasta una profundidad de 30 a 40 cm. Es por ello que la movilidad y distribución de los plaguicidas en el suelo depende de las características físicas y químicas del suelo y del plaguicida, así como del ambiente y de las prácticas culturales, es por ello que el estudio del comportamiento de los plaguicidas en el suelo es muy complejo. Sin embargo, los procesos de adsorción/desorción permiten predecir la movilidad y la disponibilidad de estos contaminantes en el suelo (Ortiz-Hernández *et al.* 2011).

En numerosos trabajos se ha estudiado el efecto de las características del suelo (sorbente) sobre el sorbato (plaguicida) en el proceso de sorción. Estos estudios han demostrado una correlación significativa entre las cantidades sorbidas del plaguicida y el contenido de materia orgánica del suelo por lo que se infiere, que la sorción tiene lugar principalmente en las superficies orgánicas. Pero cuando la materia orgánica es menor al 2%, se manifiesta el efecto de los constituyentes inorgánicos tales como la fracción mineral de las arcillas (Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano 1991; Zheng y Cooper 1996; Pignatello 2000). Es por ello que es importante tomar en cuenta las siguientes características:

Materia orgánica

La materia orgánica del suelo constituye un sistema complejo y heterogéneo con una dinámica propia e integrada por diversos grupos de sustancias. El concepto de materia orgánica del suelo se usa generalmente para referirse a los componentes de origen orgánico del suelo, incluyendo los tejidos animales y vegetales, los productos de su descomposición parcial y la biomasa del suelo. La celulosa y la lignina proceden de los restos orgánicos de vegetales, mientras que los restos animales son utilizados como fuente de proteínas por los microorganismos del suelo. La síntesis del humus está controlada por una serie de procesos químicos (oxidación polimerización), procesos físicos (deseccación) y procesos biológicos (síntesis microbiana). Las ligninas, los compuestos fenólicos, los compuestos nitrogenados y las sales minerales funcionan como materias primas que se incorporan a un proceso de síntesis de moléculas cada vez más complejas y con nuevas propiedades físico-químicas, mientras que los procesos de mineralización suponen una simplificación, los procesos de humificación incrementan la complejidad de las sustancias que se obtienen. El conjunto de moléculas húmicas, resultado de esta cadena de síntesis, se conoce como humus. Los estudios sobre sorción de plaguicidas por los componentes de

la fracción húmica y de los minerales de las arcillas son de interés, ya que permiten dilucidar el posible mecanismo de interacción por lo cual son retenidos en el suelo.

Minerales de la arcilla

Los componentes cristalinos de esta fracción son los silicatos laminares (caolinita, haloisita, montmorillonita, vermiculita), silicatos fibrosos (sepiolita y paligorskita) y los minerales no laminares (feldespatos, óxidos de hierro y carbonatos). Los compuestos amorfos son aloanas y óxidos amorfos. Estos minerales están constituidos por láminas formadas a su vez por capas o estratos de dos tipos:

- a) Tetraédricas, formadas por tetraedros de sílice unidos por las bases. Estos tetraedros poseen un átomo de silicio (Si) en el centro y átomos de oxígeno o hidroxilo en los vértices. Se disponen en un enrejado hexagonal con las bases en un mismo plano y todos los vértices señalan en un mismo sentido.
- b) Octaédricas, constituidas por octaedros con átomos de Al, Fe o Mg en el centro y oxígenos o hidroxilo en los vértices. Ambas capas, cuando van unidas, para formar la lámina, lo hacen compartiendo oxígenos y/o hidroxilos en los vértices.

Según el número de capas que forman su lámina característica, los silicatos laminares se clasifican en silicatos 1/1 (capa tetraédrica y capa octaédrica) y silicatos 2/1 (dos capas tetraédricas y una octaédrica). En algunos silicatos del tipo 2/1, las sustituciones isomórficas de Si por Al en la capa tetraédrica, y de Al por Mg en la octaédrica, originan la aparición de un exceso de carga negativa en las láminas que se compensa con la entrada de cationes externos o de cambio (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+}) que actúan de puente entre las láminas.

Los cationes de cambio así como el agua de hidratación de los mismos pueden ser sustituidos en determinadas condiciones por moléculas orgánicas, dando lugar a la formación de complejos de adsorción. La formación de estos complejos de adsorción (silicato + molécula orgánica) modifica el espacio interlaminares del silicato, produciendo una expansión del mismo fácilmente observable mediante difracción de rayos X.

Textura

Las estructuras granulares presentan una elevada porosidad y favorecen la volatilización, oxidación y transporte del plaguicida; los suelos de textura gruesa dan resultados similares. Los suelos se clasifican en función a su tamaño de

partícula, sus tres principales componentes son las arcillas (< 0.002 mm), los sedimentos (0.002 - 0.05 mm) y las arenas (0.05 - 2.0 mm). Es importante considerar esta propiedad, ya que la relación área/volumen de los diferentes tipos de partícula, tiene un impacto directo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. A continuación se mencionan algunas de las características de suelos con diferentes tipos de texturas:

Textura arenosa. Suelo bien aireado, fácil de trabajar, pobre en reservas de agua y elementos nutritivos, y con baja capacidad de cambio aniónica y catiónica.

Textura limosa. El exceso de limo y la insuficiencia de arcilla pueden provocar la formación de una estructura masiva, que va acompañada de malas propiedades físicas. Esta tendencia se corrige con un contenido suficiente en humus y en calcio.

Textura arcillosa. Suelo químicamente rico pero con malas propiedades físicas, medio impermeable y mal aireado, constituye un obstáculo para la penetración de las raíces; trabajo del suelo difícil debido a la fuerte plasticidad (estado húmedo) o a la compactación (estado seco); una buena estructura, favorecida por la humificación corrige en gran parte estas propiedades desfavorables.

Textura equilibrada o franca. Corresponde al estado óptimo, ya que presenta la mayor parte de las cualidades de los tres tipos anteriores. Por ejemplo la granulometría, favorable para el cultivo, es de 20 a 25 % de arcillas, 30 a 35% de limo, y 40 a 50% de arena.

pH

El pH es el criterio más utilizado para determinar si un suelo es ácido o alcalino. También permite definir la movilidad de un catión, debido a que a un pH moderadamente alto se produce la precipitación como hidróxidos (Porta *et al.* 1994). El pH determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y formas iónicas de un contaminante y otros constituyentes del suelo (Weber *et al.* 2004). La solubilidad de muchos contaminantes inorgánicos cambia en función del pH y normalmente su movilidad disminuye con altos valores de este último. Las formas catiónicas (NH₄⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) son más solubles a pH ácido mientras que las formas aniónicas (NO₃⁻, NO₂⁻, PO₄³⁻, Cl⁻) son más solubles al pH alcalino. La influencia del pH del suelo en la adsorción de los plaguicidas va a depender de la naturaleza de los compuestos y del tipo de enlaces involucrados

en el proceso de adsorción. Así, por ejemplo los enlaces hidrófobos dependerán del pH, y el enlace por puente de hidrógeno estará limitado al medio ácido.

Por otro lado, las propiedades del plaguicida también juegan un papel importante en el proceso de sorción es por ello que se recomienda tomar en cuenta las propiedades siguientes:

Volatilidad. La volatilidad representa la tendencia del plaguicida a pasar a la fase gaseosa. Se mide a partir de la constante de Henry, que depende de la presión de vapor en estado líquido y de la solubilidad en agua. Por lo tanto representa el reparto del plaguicida entre la fase líquida del suelo y la atmósfera. Así, por ejemplo, un compuesto con presión de vapor alta pero muy soluble en agua, tiene una volatilidad baja, ya que una solubilidad en agua elevada puede hacer que compuestos con presiones de vapor altas permanezcan en el suelo cuando en éste haya agua suficiente como para que se mantenga en disolución.

Coefficiente de reparto. Se define como la relación de concentraciones de cualquier especie molecular entre dos fases (por ejemplo, en dos líquidos inmiscibles, o un líquido y un gas) en equilibrio. Esta relación se expresa mediante la Ecuación 11:

$$K=C(\text{fase 1})/C(\text{fase 2}) \qquad \text{Ecuación 11}$$

En el caso de plaguicidas se emplea el coeficiente de reparto octanol:agua (K_{oa}), que mide la hidrofobicidad (o la lipoafinidad) de un compuesto. El K_{oa} proporciona una estimación de la posible distribución del contaminante entre el suelo (materia orgánica) y el agua.

Solubilidad. Es el factor transcendental por dos razones fundamentales:

- a) La fase líquida del suelo es una fase acuosa, lo que condiciona la dinámica del plaguicida asociado a dicha fase.
- b) Los plaguicidas con mayor carácter contaminante son poco solubles en agua.

Si el coeficiente de adsorción del plaguicida es pequeño, indica una alta movilidad de un plaguicida soluble.

Adsorción. Regula la tendencia del plaguicida a quedar retenido en el suelo. Si el coeficiente de adsorción del plaguicida es pequeño, indica una alta movilidad.

Presentación. La penetrabilidad y persistencia pueden verse influidas según sea la presentación del producto en emulsión, polvo, granulad, entre otros.

pKa, pKb. Parámetros significativos para los plaguicidas que se comportan como ácidos y como bases débiles, ya que determinan el rango de pH en que se comportan como especies neutras o ionizadas.

Carácter químico. Está determinado fundamentalmente por el número, tipo y posición relativa de los grupos funcionales. La adsorción es mayor en los compuestos que tengan grupos funcionales con átomos con pares de electrones no compartidos (P=O, C=O, NH,) que exalten su capacidad de formación de puentes de hidrógeno y su poder de coordinación a los cationes de cambio.

Tamaño y estructura molecular. Esta influye en la adsorción y en la disposición de las moléculas orgánicas adsorbidas. La facilidad de penetración en la interlámina será mayor cuanto más elevado sea el momento dipolar y más pequeño el tamaño molecular.

Momento dipolar y constante dieléctrica. Dan una medida de la influencia de la polaridad en el fenómeno de adsorción.

Acidez o basicidad del compuesto. Está determinada por el valor del pKa o pKb y del pH del sistema. Los compuestos ácidos a valores altos de pH se convierten en aniones, debido a su disociación, mientras que los compuestos básicos, cuando se protonan, se convierten en cationes.

Experiencias: sorción de paratión y cadusafos en suelos agrícolas del estado de Morelos

Con la finalidad de predecir la movilidad y disponibilidad de los plaguicidas organofosforados (OF) (paratión y cadusafos) se realizaron estudios de sorción en los dos tipos de suelos agrícolas más representativos del estado de Morelos, México. Suelo de tipo andosol, generalmente tienen un origen volcánico, húmedos y de color oscuro por su alto contenido de materia orgánica, así como de un alto contenido de aluminio y hierro. El origen volcánico trae como consecuencia la presencia de minerales de tipo aluminosilicatos no cristalinos en los que predominan alófano, imogolita y ferrihidrita y complejos de humus-aluminio. La acumulación de carbono orgánico es otra propiedad de estos suelos. La estabilidad de la materia orgánica parece que ocurre por la formación de complejos de aluminio-humus-alófano-imogolita. Otras de las propiedades de estos suelos incluyen la baja densidad, estructura granular, presencia de

arcillas amorfas, elevado poder de retención de fósforo, así como su capacidad de intercambio catiónico y retención de agua. En el estado de Morelos estos suelos ocupan el 12% de la superficie terrestre y están distribuidos en la región templada en la zona norte del estado. Estos suelos son forestales y por sus características físicas son importantes en la regulación del almacenamiento y escurrimiento del agua de lluvia. Desafortunadamente en la actualidad, estos suelos están pasando de forestales a uso agrícola.

El otro tipo de suelo estudiado son los vertisoles estos presentan un contenido de arcillas expandibles de entre 40 y 70%. Su estructura es gruesa y el horizonte A₁ generalmente es de color negro, grumoso en la superficie (20 cm) con estructura gruesa formada por grandes prismas, separados en los periodos secos por grietas verticales de 2 a 5 cm. El contenido de materia orgánica va de 1 a 2%, arcilla entre 40 y 70%, y CaCO₃ en todo el perfil del suelo. Presentan una capacidad de cambio elevada entre 50 y 100 mEq/100g, saturado en calcio (Ca²⁺) y magnesio (Mg²⁺). Los plaguicidas estudiados fueron el paratión [O,O-dietil O (4-nitrofenil) fosforotioato] es un insecticida OF prohibido en países como Estados Unidos y algunos países de Europa. En México se prohibió su uso en 1991, sin embargo, se sigue utilizando en campañas sanitarias gubernamentales. Cadusafos [S,S-Di-sec-butil O- etil fosforoditioato] es un nematicida OF usado principalmente para el control de quistes de nematodos e insectos del suelo, se aplica generalmente a cultivos de cítricos, plátano, papa, tabaco y caña de azúcar. En México se usa desde 1998 año en que fue autorizado su uso (CICOPLAFEST 2004). Los estudios de sorción llevados a cabo con estos plaguicidas y dos tipos de suelo anteriormente mencionados se realizaron mediante isotermas de adsorción/desorción en experimentos en lote tipo batch, comparando los datos experimentales con el modelo de Freundlich. Los resultados mostraron que la adsorción tiene un comportamiento lineal, por lo que la retención de los plaguicidas fue caracterizada por K_d de la sorción a 24 hrs de equilibrio del plaguicida con el suelo. El orden de adsorción de los plaguicidas fue paratión > cadusafos. Respecto a los tipos de suelo el orden de sorción del paratión fue andosol > vertisol. El orden de sorción del paratión en los suelos estudiados fue andosol > vertisol. Los valores de K_d del paratión en el suelo andosol fue de (75 Lkg⁻¹) y en el vertisol (38 Lkg⁻¹). Esto hace inferir que el paratión se adsorbe con mayor fuerza en el suelo andosol respecto al vertisol. Se argumenta que el mecanismo de adsorción puede llevarse a cabo por la formación de enlaces covalentes entre los ácidos fúlvicos y las arcillas minerales.

Respecto al cadusafos, la adsorción fue menor que en la del paratión, lo que indica que sólo una pequeña fracción del cadusafos es retenida por el suelo, esto puede ser relacionado con la solubilidad (248 mg/L) y la polaridad de este

plaguicida, lo que refleja una mayor afinidad por la fase líquida del suelo. En general, se admite que cuando la solubilidad es mayor de 30 mg/L existe un riesgo potencial de que el plaguicida alcance el agua subterránea. Para determinadas sustancias, la solubilidad en agua está íntimamente relacionada con su movilidad, de forma que cuanto mayor es la solubilidad, mayor es la movilidad. El paratión tiene un nivel de movilidad de 1 donde el mayor es 5. La movilidad del cadusafos no está reportada pero los valores bajos de Kd (9 Lkg-1) en suelo andosol y (7 Lkg-1) en suelo vertisol obtenidos hacen inferir que es un plaguicida con alta movilidad, por lo que representa un riesgo de contaminación en mantos acuíferos.

Referencias

- Aksu Z. y Gönen F. (2004). Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves. *Process Biochemistry*. 39:599-613.
- Calvet R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives*. 83:145-177.
- CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas). (2004). Catálogo oficial de plaguicidas. México. D.F. pp 7-13, 17-25.
- COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios). (2010). Plaguicidas. México. http://www.cofepris.gob.mx/wb/cfp/plaguicidas_y_fertilizantes
- Colín A. (2007). Obtención de un carbón activado proveniente de la pirólisis de lodos residuales y su evaluación como material de sorción. Tesis doctoral. Facultad de Ingeniería. UAEM, Toluca, México.
- Fall C., Chavarie C., Chaouki J. (2001). Generalized model of pentachlorophenol distribution in amended soil-water system. *Water Environment Research*. 73:110-117.
- Gutiérrez-Segura E., Solache-Ríos M., Colín-Cruz A. (2009). Sorption of indigo carmine by a Fe-zeolitic tuff and carbonaceous material from pyrolyzed sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 170:1227-1235.
- Ho Y.S., y McKay G. (2003). Sorption of dyes and copper ions onto biosorbents. *Process Biochemistry*. 38:1047-1061.
- Ho Y.S. (2006) Second-order kinetic model for the sorption of cadmium onto tree fern: A comparison of linear and non-linear methods. *Water Research*. 40:119-125.
- Metcalf y Eddy. (2003). *Wastewater Engineering treatment and reuse International edition. Fourth edition* Ed. Mc. Graw Hill, Inc. U.S.A. 1139-1162 pp.

- Ortiz-Hernández M.L., Sánchez-Salinas E., Olvera-Velona A. Folch-Mallol J.L. (2011). Pesticides in the Environment: Impacts and its Biodegradation as a Strategy for Residues Treatment, Pesticides - Formulations, Effects, Fate, Margarita Stoytcheva Ed. InTech. <http://www.intechopen.com/articles/show/title/pesticides-in-the-environment-impacts-and-its-biodegradation-as-a-strategy-for-residues-treatment>.
- Pignatello J.J. (2000). The measurement and interpretation of sorption and desorption rates for organic compounds in soil media. *Advances Agronomy*. 69:1-73.
- Rouquerol F., Rouquerol J., Sing, K. (1999). Adsorption by powders and porous solids: Principles, methodology and applications. Ed. Academic Press.
- Sánchez-Martín M.J., Sánchez-Camazano M. (1991). Relationship between the structure of organophosphorus pesticides and adsorption by soil components. *Soil Science*. 152:283-288.
- Sing K.S.W., Everett D.H., Haul R.A.W. (1985). Reporting physisorption for gas/solid systems. *Pure and Applied Chemistry*. 57:603-619.
- Slejko F. (1985) Adsorption Technology: A Step-Step Approach to Process Evaluation and Application. Marcel-Decker Inc. USA.
- Torres-Pérez J., Solache-Ríos M., Colín-Cruz A. (2008) Sorption and desorption of dye remazol yellow onto a Mexican surfactant-modified clinoptilolite-rich tuff and a carbonaceous material from pyrolysis of sewage sludge. *Water, Air & Soil Pollution*. 187(1-4):303-313.
- Weber J.B., Wilkerson G.G., Reinhardt F.C. (2004). Calculating pesticides sorption coefficients (Kd) using selected soli properties. *Chemosphere*. 55:157-166.
- Xing B. y Pignatello J.J. (1996). Time-dependent isotherm shape of organic compounds in soils organic matter: Implications for sorption mechanism. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15:1282-1288.
- Zheng S.Q., Cooper J.F. (1996). Adsorption, desorption and degradation of three pesticides in different soils. *Archives Environmental Contamination Toxicological*. 30:15-20.

PARTE V

DESARROLLO DE BIOPLAGUICIDAS

CAPÍTULO 13

FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS A ULTRA BAJO VOLUMEN (UBV)

Víctor Manuel Hernández-Velázquez¹, Guadalupe Peña-Chora², Roberto Lezama-Gutiérrez³, Laura Lina-García¹, Arisdel Jiménez-Toledano¹ y Karla Tatiana Murillo-Alonso¹

Introducción

Los hongos entomopatógenos pueden ser utilizados en el control de insecto-plaga en diferentes estrategias (Fuxa 1987). Cuando son empleados como bioinsecticidas (incremento inundativo) es necesario producir masivamente el entomopatógeno, formularlo y aplicarlo oportunamente en el campo para disminuir la población del insecto-plaga. El uso generalizado de micoinsecticidas depende en gran medida de las técnicas de formulación que puedan mejorar su estabilidad, prolongar su persistencia en el campo y aumentar su virulencia (Burges 1998; Jackson *et al.* 2010).

Sin embargo, una de las principales limitantes en el uso de los entomopatógenos es la falta de una tecnología de formulación, la cual frecuentemente es simple o inexistente (Moore y Caudwell 1997). La tendencia ha sido preservar los conidios tal como son producidos y suspenderlos en aceites al momento de su aplicación. Diversos autores (Prior *et al.* 1988; Hernández 2003; Cortez 2007) indican que con esta práctica mejora la efectividad y rapidez en causar la muerte del insecto blanco respecto a las formulaciones suspendidas en agua. Por lo general, se requiere que una formulación se encuentre estable al menos 18 meses en almacenamiento para el mercado agrícola, y si el insecticida es producido por contrato para aplicar en un tiempo específico una estabilidad de 3 a 6 meses puede ser aceptable (Couch e Ignoffo 1981).

El método más común para la liberación de hongos entomopatógenos es la aspersión, consiste en romper en gotas un formulado del hongo suspendido en medio líquido, el cual es distribuido en el área objeto de control. Básicamente se realizan aplicaciones en agua, utilizando ≥ 60 litros de agua/ha (terrestre o

¹ Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001 col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209.

² Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209.

³ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Colima. Km. 40 autopista Colima-Manzanillo. Tecmán, Colima, México. C.P. 28100.

aérea), y a ultra bajo volumen (UBV) el cual es definido como la aplicación de entre 0.5-5.0 litros de la suspensión/ha (modificado de Dobson 2001).

Una de las consideraciones más importantes en el diseño del sistema de producción masiva de hongos entomopatógenos es la compatibilidad del producto con las técnicas de formulación y aplicación, por ejemplo, el uso de suspensiones del ingrediente activo en aceite para aplicación a UBV requiere la producción de conidios lipofílicos, los cuales se suspendan fácilmente en aceite (Jenkins *et al.* 1998). Es necesario considerar el equipo disponible para la aplicación del hongo y la formulación del mismo ya que estos aspectos están íntimamente relacionados.

En la actualidad la mayoría de las investigaciones en formulación de hongos para el control de insectos-plaga del follaje, se concentran en la obtención de esporas lipofílicas producidas en medios sólidos o semisólidos y formulados en polvo o en aceite (Moore y Cadwell 1997) para su aplicación a UBV.

Formulación

La formulación es el proceso mediante el cual el ingrediente activo (conidio) se mezcla con ingredientes inertes, coadyuvantes y surfactantes que acondicionan al conidio para mejorar su vida de anaquel, manipulación, aplicación y efectividad biológica. Una formulación debe ser apropiada para una variedad de cultivos y para las condiciones del campo. Su uso debe de ser práctico y por lo general deben ser compatibles con los equipos empleados para su aplicación. Éstos deben ser de una cantidad aceptable de acuerdo a la logística, almacenamiento, manipulación, y volumen deseado para una aplicación (Bateman y Alves 2000).

La formulación adecuada de estos microorganismos requiere de protección contra el efecto de la desecación y radiación ultra violeta (UV) durante y después de la aplicación (Burges 1998). La protección de conidios se logra mediante mezclas de adherentes-dispersantes de tipo aceitoso, o aquellos que faciliten que el ingrediente activo quede encapsulado, esto permite que las gotas finas impacten y persistan sobre los insectos que se desean controlar.

En condiciones de ambiente seco o de temperaturas altas es recomendable utilizar emulsiones (formulaciones aceitosas) ya que se ha demostrado que estas formulaciones son más efectivas que las suspensiones acuosas (Hernández *et al.* 2000). Estudios en laboratorio y campo han demostrado que insecticidas a base de conidios de hongos entomopatógenos formulados en aceite mejoran la

eficacia y rapidez para matar langostas, chapulines, mosquitas blancas y coleópteros, entre otros insectos, que las formulaciones suspendidas en agua (Bateman 1992; Smith 1997; Prior *et al.* 1988). Este tipo de formulación se puede extender en la aplicación de patógenos en el manejo de insectos-plaga en caña de azúcar, debido a las condiciones ambientales que se presentan en estos agroecosistemas (Peña-Chora *et al.* 2011).

Faria y Wraith (2007) documentaron 171 formulados que contienen como principio activo hongos entomopatógenos, el 26.3 % se encuentran en sustrato colonizado, el 20.5% en polvos humectable, 15.2% en aceites de dispersión, 2.9% en gránulos, 1.8% en cebos, 1.8 % en gránulos humectables, 1.2% en aceite concentrado miscible, 0.6% en suspensiones a UBV, 0.6% en polvos de contacto, y concluyeron que se han identificado once diferentes tipos de formulación, en los cuales se incluye el concentrado técnico, que es el hongo colonizando el sustrato, y el empleo de material técnico, que es el ingrediente activo aislado del sustrato o medio de cultivo de producción (FAO y OMS 2002).

Los formulados suspendidos solamente en aceite son aplicados a UBV. Esta tecnología es definida como la aplicación de menos de cinco litros (Tabla 13.1), usualmente 0.5 a 2 l/ha (Bateman 1997). En este sentido, se han propuesto tres estrategias de formulación: a) la preparación de formulados en suspensión oleosa o resuspendidos con un mínimo de agitación, no requieren ser mezclados o medidos por el operador; b) la preparación de concentrados (aceites o polvos) miscibles en aceite, para facilitar el transporte y almacenamiento; y c) el empleo de técnicas de aplicación a UBV de formulados en suspensión acuosa, para aplicación en trópicos húmedos y zonas templadas (Bateman 1994).

Tabla 13.1. Volúmenes usuales de aplicación (l/ha) (Matthews 1988).

Volumen	Cultivos bajos	Árboles
Alto	> 600	> 1000
Medio	200 - 600	500 - 1000
Bajo	50 - 200	200 - 500
Muy bajo	5 - 200	50 - 200
Ultra bajo	< 5	< 5

Aceites de origen vegetal y derivados del petróleo son intrínsecamente compatibles con conidios lipofílicos, puesto que también son ingredientes esenciales para realizar aplicaciones a UBV (Bateman 1997), también son capaces de ser atomizados en pequeñas gotas de 50-100 μm que no se evaporan hasta llegar a su destino (Wraight *et al.* 2001), por lo que se emplean como vehículo aceites vegetales y derivados del petróleo las formulaciones de aceites

disminuyen los riesgos asociados a las formulaciones en polvo como la inhalación de conidios, el contacto con la piel y ojos; los aceites vegetales tienen la ventaja de ser aceptables para los sistemas de producción orgánica, sin embargo, pueden volverse rancios y dejar residuos pegajosos en la boquilla del equipo, los aceites parafínicos se evaporan rápidamente y dejan menos residuos (Ibrahim *et al.* 1999). Por lo anterior el uso de aceites y derivados del petróleo (Tabla 13.2) son una opción atractiva, no sólo para la aplicación en campo (uso de equipo convencional, aplicación asperjada), sino también en la obtención de los conidios, ya que al realizar un formulado líquido los conidios pueden ser lavados con aceites, evitándose así la volatilidad de los conidios y mejorando el proceso de obtención cosecha de estos (Wraight *et al.* 2001).

Tabla 13.2. Ingredientes empleados para desarrollar formulaciones de hongos entomopatógenos (Wraight *et al.* 2001; Butt *et al.* 2001; Basilio 2006; Bastidas *et al.* 2009; Hernández *et al.* 2000; Vega-Aquino *et al.* 2010; Kim *et al.* 2011; Ravernsberg 2011).

Aceite de maíz	Aceite de canola	Lecitina
Aceite de oliva	Aceite mineral	Citrolina
Aceite de soya	Aceite de Neem	Alginato
Aceite de girasol	Goma xantana	Keratina
Aceite de linaza	Tween-polisorbato	Parafina
Aceite de ricino	Transpore	Vaselina
Acido oleico	Acemin E	Derivados de petróleo
Aceite de cacahuete	Grenetina	Oleato de sodio
Aceite de semilla de algodón	Glicerina(ol)	Oleatos

Los conidios formulados en aceite aumentan su eficacia induciendo una mayor mortalidad que los conidios en agua sola (Bateman *et al.* 1993; Inglis *et al.* 1996). En general, se mejora la mortalidad mediante la reducción de la dependencia de humedad al recubrir los conidios con aceites (Bateman *et al.* 1993), sin embargo, la eficacia de los conidios en la formulación de aceite se ha mejorado mediante la adición agua (Batta 2003; Peng y Xia 2011).

Kim *et al.* (2011) evaluaron aceite de maíz, aceite de soya, aceite de semilla de algodón, parafina y metil oleato como vehículo (material inerte), y aceite de ricino etoxilado y sorbitan monooleto como surfactantes para la formulación de los conidios de la cepa SFP-198 de *I. fumosorosea* obteniendo una germinación de 91.6% a 8 horas de exposición a 50°C del formulado a base de aceite de maíz. Vega Aquino *et al.* (2010) formularon conidios de *Isaria tenuipes* y *Nomuraea rileyi* en aceite mineral, aceite de canola, aceite de oliva, aceite de cacahuete y aceite de girasol; evaluaron la mortalidad contra *Spodoptera exigua* y obtuvieron una

mortalidad del formulado a base de aceite mineral par *I. tenuipes* ARSEF 4096 del 91%.

Aplicación

La aplicación del producto formulado es decisiva para que éste funcione, por ello es importante desarrollar de manera consistente un formulado a gran escala (dosis y volumen) y una estrategia de aplicación (método de aplicación, ajuste del equipo, frecuencia y horario de la aplicación). También es necesario conocer la biología del entomopatógeno y la susceptibilidad a las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa, radiación UV) (Bateman 1997; Hernández 2003; Ravernsberg 2011).

Cuando el hongo es formulado en aceite de alta viscosidad, ya sea de origen vegetal o mineral, debe mezclarse con un aceite ligero para obtener un flujo adecuado durante la aplicación a UBV (Bateman 1994). Es conveniente considerar que con algunos equipos de aplicación a UBV la viabilidad del conidio puede disminuir hasta un 30% debido a las temperaturas altas que alcanzan estos equipos (Griffiths y Bateman 1997).

Sistemas de aplicación

La aplicación de hongos entomopatógenos a UBV puede ser aérea o terrestre con sistemas de aplicación de chorro de aire, presión hidráulica o tamaño de gota controlada (CDA por sus siglas en inglés) (Chapple *et al.* 2000). De éstos, el sistema más eficiente es el CDA, seguido por el de chorro de aire y el de presión hidráulica. Lo anterior debido a la uniformidad del tamaño de la gota, ya que la eficiencia de la aplicación depende de la relación velocidad del aire y uniformidad en el tamaño de la gota; así las gotas pequeñas son arrastradas fuera del área objeto de control o bien las gotas demasiado grandes caen más rápido también fuera del área de control (Dobson 2001).

Persistencia

Los conidios formulados del hongo entomopatógeno pueden ser transferidos por tres vías al insecto blanco: a) impacto directo con las gotas asperjadas; b) infección secundaria por residuos de la aspersión en vegetación y/o suelo; y c) transmisión horizontal del patógeno o ciclo secundario (Bateman *et al.* 1998).

Cuando los insectos son impactados directamente por la aspersión, es de poca importancia la persistencia del formulado (Jenkins y Thomas 1996), sin embargo,

en la contaminación por residuos en vegetación y suelo, la persistencia de las esporas en el ambiente es importante, y esta ruta de infección puede ser fundamental en el éxito de la aplicación, además, depende en gran medida de la formulación (Langewald *et al.* 1997).

Los principales factores detrimentales que deben tolerar el formulado en campo son: alta temperatura, baja humedad relativa y alta intensidad de luz (Moore y Morley-Davies 1994). En este sentido se ha demostrado que conidios de *M. anisopliae acridum* formulados en aceite, pueden tolerar temperaturas de hasta 55°C por varias horas (McClatchie *et al.* 1994) y germinan en humedades relativas bajas (Bateman *et al.* 1993).

Se conoce que la luz ultravioleta (UV) es el principal factor ambiental detrimental sobre entomopatógenos (Ignoffo *et al.* 1977) incluyendo a los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *M. flavoviride* (Zimmermann 1982; Moore y Morley-Davies 1994; Inglis *et al.* 1997). La radiación UV más dañina es la UVC, pero ésta es absorbida por la atmósfera; por lo tanto, los organismos, las esporas de hongos, entre otros, están expuestos a UVB con longitud de onda de 280 a 320 nm y UVA con longitud de onda de 320 a 400 nm.

La radiación UV causa daños primarios (mutaciones de ácidos nucleicos) y/o secundarios (fotorreacciones), los cuales pueden conducir a la muerte celular, aunque se desconoce el mecanismo exacto por el que causan la muerte de esporas de hongos entomopatógenos (Inglis *et al.* 1995; Moore y Cadwell 1997). En conidios de *M. flavoviride* el daño por UV se refleja en la velocidad de germinación y muerte (Hunt *et al.* 1994; Moorley-Davies *et al.* 1996). No obstante, para evitar estos daños que hemos mencionado se pueden usar bloqueadores químicos o físicos de luz ultravioleta, aunque la mayoría de los estudios con estos protectores se han realizado sobre virus y bacterias (Martignoni e Iwai 1985; Shapiro 1992) y también con *B. bassiana* y *Metarhizium flavoviride* con resultados favorables (Inglis *et al.* 1995; Moore *et al.* 1993), aunque sin justificar aún su inclusión en formulaciones de hongos entomopatógenos (Moore y Cadwell 1997).

Referencias

- Basilio-Hernández D.H. (2006). Efecto de condiciones de cultivo, aceites y dispersantes en la viabilidad y virulencia de conidios de *Paecilomyces fumosoroseus*, patógeno de mosquita blanca (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bastidas A., Velásquez S.E., Marín M.P., Benavides M.P., Bustillo P.A.E., Orozco C.F.J. (2009). Evaluación de preformulados de *Beauveria bassiana*

- (bálsamo) Vuillemin, para el control de la broca del café. *Agronomía*. 17(1):44-61.
- Bateman R. (1992). Controlled droplet application of mycopesticides to locusts. pp 249-254. *En: Biological control of locusts and grasshoppers* C.J. Lomer y C. Prior (Ed.). CAB International. Redwood Press Ltd, Melksham UK.
- Bateman R. (1994). Physical properties and atomisation of ULV formulations of myco-insecticides. pp 222-225. *En: Proceedings of the IOBC/WPRS meeting*. Zurich.
- Bateman R. (1997). Methods of applications of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 171:69-81.
- Bateman R.P., Alves R.T. (2000). Delivery systems for mycoinsecticides using oil-formulations. *Aspects of Applied Biology*. 57:163-170.
- Bateman R.P., Carey M., Moore D., Prior C. (1993). The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. *Annals of Applied Biology*. 122:145-152.
- Bateman R.P., Douro-Kpindou O.K., Kooyman C., Lomer C., Ouambama Z. (1998). Some observations on the dose transfer of mycoinsecticide sprays to desert locusts. *Crop Protection*. 17(2):151-158.
- Batta Y.A. (2003). Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protection*. 22:415-422
- Burges H.D. (1998). Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Dordrecht.
- Butt T.M., Jackson C.W., Magan N. (2001). Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential. CABI International. Ed. T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan. 390 p.
- Chapple A.C., Downer R.G., Bateman R.P. (2000). Theory and practice of microbial insecticide application. *En: Field manual of techniques in invertebrate pathology* Lacey L.A., Kaya H.K. (eds). Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. pp: 5-37.
- Cortez M.H. (2007). Production of *Lecanicillium* (=Verticillium) *lecanii* in different media and pathogenicity. *Agricultura técnica en México*. 33(1):83-87.
- Couch T.L. e Ignoffo C.M. (1981). Formulation of insect pathology. *En: Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980*. Burges H.D. (Ed.). Academic Press. London. pp 621-634.
- Dobson H.M. (2001). Desert locust guidelines. 4. Control. Second edition. Roma: FAO.
- Faria M.R. y Wraight S.P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*. 43:237-256.

- Fuxa J.R. (1987). Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology*. 32:225-251.
- Griffiths J. y Bateman R. (1997). Evaluation of the francome MkII exhaust nozzle sprayer to apply oil-based formulations of *Metarhizium flavoviride* for locust control. *Pesticide Science*. 51:176-184.
- Hernández V.V.M., Berlanga P.M., Barrientos L.L. (2000). Vegetable and mineral oil formulations of *Metarhizium flavoviride* to control the Central America locust (*Schistocerca piceifrons piceifrons*) (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera Research*. 9:223-227.
- Hernández V.M. (2003). Efecto del contenido de humedad de conidios formulados de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) sorokin sobre la viabilidad y producción de exudados en almacenamiento y virulencia sobre *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acrididae). Tesis de Doctorado. Área de biotecnología, Universidad de Colima, México. 130 p.
- Hunt T.R., Moore D., Higgins P.M., Prior C. (1994). Effect of sunscreens, Irradiance and resting periods on the germination on *Metarhizium flavoviride* Conidia. *Entomophaga*. 39(3-4):313-322.
- Ibrahim L., Butt T.M., Beckett A., Clark S. J. (1999). Germination of oil-formulated conidia of the insect-pathogen, *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research*. 103:901-907.
- Ignoffo C.M., Hostetter D.L., Sikorowski P.P., Sutter G., Brooks W.M. (1977). Inactivation of representative species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by ultraviolet light source. *Environmental Entomology*. 6:411-415.
- Inglis G.D., Johnson D.L., Goettel M.S. (1996). Effect of bait substrate and formulation on infection of grasshopper nymphs by *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*. 6:35-50.
- Inglis G.D., Johnson D.L., Goettel M.S. (1997). Effects of Temperature and Sunlight on Mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symphodulosporae) of Grasshoppers under Field Conditions. *Environmental Entomology*. 26(2):400-409.
- Inglis G.D., Goettel M.S., Johnson D.L. (1995). Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Biological Control*. 5:581-590.
- Jackson M.A., Dunlap C.A., Jaronski S.T. (2010). Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl*. 55:129-145.
- Jenkins N.E., Heviefó G., Langewald J., Cherry A.J., Lomer C.J. (1998). Development of a mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News and Information*. 19(1):21-31.

- Jenkins N., Thomas M.B. (1996). Effect of formulation and application method on the efficacy of aerial and submerged conidia of *Metarhizium flavoviride* for locust and grasshopper control. *Pesticide Science*. 46:299-306.
- Kim J.S., Je Y.H., Woo E.O., Park J.S. (2011). Persistence of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) SFP-198 conidia in corn oil-based suspension. *Mycopathologia*. 171(1):67-75.
- Langewald J., Thomas M.B., Douro-Kpindou O., Lomer C.J. (1997). Use of *Metarhizium flavoviride* for control of *Zonocerus variegatus*: a model, linking dispersal and secondary infection from the spray residue with mortality in caged field samples. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 82:1-8.
- Martignoni M.E. e Iwai P.J. (1985). Laboratory evaluation of new ultraviolet absorbers for protection of Douglas-fir tussock moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Economic Entomology*. 78:982-987.
- Matthews G.A. (1988). Métodos para la aplicación de pesticidas. Editorial CECSA. 365 p.
- McClatchie G.V., Moore D., Bateman R.P., Prior C. (1994). Effects of temperature on the viability of the conidia of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations. *Mycological Research*. 98:749-756.
- Moore D., y Caudwell R.W. (1997). Formulations of entomopathogens for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171:49-67.
- Moore D., y Morley-Davies J. (1994). The effects of temperature and ultra-violet irradiation on conidia of *Metarhizium flavoviride*. *En: Brighton Crop Protection Conference. Pests and Diseases*. pp 1085-1090.
- Moore D. y Caudwell R.W. (1997). Formulations of entomopathogens for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 171:49-67.
- Moore D., Bridge P.D., Higgins P.M., Bateman R.P., Prior C. (1993). Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals of Applied Biology*. 122:605-616.
- Morley-Davies J., Moore D., Prior C. (1996). Screening of *Metarhizium* and *Beauveria* spp. conidia with exposure to simulated sunlight and a range of temperatures. *Mycology Research*. 100(1):31-38.
- Peña-Chora G., Rodríguez-Del Bosque L.A., Lina-García L., Barboza-Obregón V., Hernández-Velázquez V.M., Lezama Gutiérrez R., Molina-Ochoa J. (2011). Desarrollo de un bioinsecticida para el control del barrenador del tallo de la caña de azúcar: complejidad del problema, p: 2. *En: Compendio II Simposio La Situación de los plaguicidas en México: Impactos y perspectivas*. E. Sánchez Salinas, Ma. L. Ortiz Hernández, J.L.

- Folch Mallol y A. Olvera Velona (eds.). Octubre de 2011, Cuernavaca, Morelos, México.
- Peng G. y Xia Y. (2011). The mechanism of the mycoinsecticide diluent on the efficacy of the oil formulation of insecticidal fungus. *BioControl*. 56:893-902.
- Prior C., Jollands P., Patourel G.L. (1988). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology*. 52:66-72.
- Ravensberg J.W. (2011). A Roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control, products for control of arthropods. Springer is part of Springer Science, Business Media. London New York. 383 p.
- Shapiro M. (1992). Use of optical brighteners as radiation protectants for gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Economic Entomology*. 85(5):1682-1686.
- Smith S.M. (1997). Oil and emulsion formulations of a microbial control agent increase the potency against a wider range of pest life stages. *Phytoparasitica*. 25:93-100.
- Vega-Aquino P., Sánchez-Peña S., Blanco C.A. (2010). Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103:145-149.
- Wraight S.P., Jackson M.A., De Kock S.L. (2001). Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. pp 253-287. *En: Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*. T.M. Butt, C. Jackson, N. Magan (eds). CAB International, Wallingford.
- Zimmermann G. (1982). Effect of high temperatures and artificial sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*.

CAPÍTULO 14

HONGOS ENDÓFITOS: UNA FUENTE PROMETEDORA DE AGROQUÍMICOS Y AGENTES DE BIOCONTROL

Martha Lydia Macías-Rubalcava¹, Álvaro Ulloa-Benítez¹, Irma Susana Rojas-Tomé², Brenda Lorena Sánchez-Ortiz¹, Marbella Claudia García-Méndez¹ y Rosa Elvira Sánchez-Fernández¹

Introducción

En las últimas décadas, el uso sistemático de plaguicidas sintéticos ha permitido incrementar la productividad de los cultivos. Sin embargo, las plagas resistentes continúan ocasionando pérdidas de hasta el 40% de los plantíos. A esta problemática se suman los severos daños ecológicos que ha provocado el uso indiscriminado de agroquímicos (aproximadamente 500 mil toneladas diarias) (Agrios 2010). Actualmente, una alternativa prometedora en la búsqueda de nuevos agroquímicos, menos tóxicos, más biodegradables y con un mecanismo de acción más específico, es la investigación de los productos naturales, en los cuales se incluyen a los derivados de los hongos endófitos. En años recientes, distintos grupos de investigación han propuesto a estos organismos como una fuente potencial de agentes de biocontrol debido a que han demostrado que los metabolitos secundarios que biosintetizan les confieren protección a la planta hospedera contra herbívoros invertebrados y vertebrados, patógenos y plantas competidoras (Arnold *et al.* 2003; Arnold y Herre 2003; Schulz y Boyle 2005; Herre *et al.* 2007; Strobel 2006; Gao *et al.* 2010; Tejesvi y Pirttilä 2011).

En particular, nuestro grupo de trabajo ha realizado diversos estudios sobre hongos endófitos aislados de plantas y árboles de la Reserva Ecológica “El Edén”, Quintana Roo, México. Algunas de las especies aisladas son nuevas y pertenecen también a géneros nuevos, por lo que se están reportando a medida que se identifican. Los proyectos desarrollados abarcan diversos aspectos de su ecología química y de su potencial antagonico frente a otros organismos. Las pruebas biológicas realizadas con los extractos orgánicos obtenidos de los principales hongos endófitos que hemos aislado, nos han permitido poner en evidencia su efecto antagonico contra plantas y otros hongos, tanto endófitos como fitopatógenos de importancia agrícola, así como demostrar que la actividad está relacionada estrechamente con la producción de metabolitos

¹ Instituto de Química, Departamento de Productos Naturales, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, D.F. México C.P. 04510.

² Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Insurgentes Sur 3877, col. La Fama, Tlalpan 14269, México, D.F.

secundarios. Por otra parte, el estudio biodirigido de algunas de las especies nuevas ha conducido a la obtención de moléculas también novedosas con propiedades fitotóxicas y fungitóxicas. La investigación de los modos de acción de estos compuestos se encuentra en curso. Los resultados generados hasta el momento permiten inferir que los metabolitos secundarios producidos por los hongos endófitos pueden desempeñar un papel biológico y ecológico en las relaciones que establecen con su planta hospedera y con otros microorganismos, dentro y fuera de la planta, por lo que pueden constituir un campo prometedor para el descubrimiento de compuestos de utilidad en el desarrollo de agroquímicos y fármacos (Murià-González 2007, 2010; González *et al.* 2007, 2009; Macías-Rubalcava *et al.* 2008, 2010; Meléndez 2008, 2012; Sánchez-Fernández 2010; Huelgas 2011).

Hongos endófitos

La palabra endófito quiere decir “dentro de la planta” (*endon*: dentro, *phyton*: planta) y ha sido utilizada para referirse a bacterias, hongos, algas e insectos, sin importar la relación que los huéspedes guardan con su planta hospedera. Actualmente, el término se utiliza para describir a los microorganismos que en algún periodo de su ciclo de vida habitaron dentro de las plantas colonizando inter e/o intracelularmente los tejidos sanos de la planta hospedera, sin que aparentemente le causen alguna enfermedad. Más específicamente, los micólogos se refieren con endófitos a los hongos que pasan la mayor parte o toda su vida dentro de su planta hospedera. Estos organismos son fitopatógenos potenciales, pero en general no producen síntomas perceptibles de enfermedad sino hasta que las plantas se encuentran en situaciones de estrés o de senescencia. Desde el punto de vista evolutivo, se piensa que los hongos endófitos han perdido sus factores de virulencia o que la planta hospedera ha desarrollado las defensas necesarias que controlen el desarrollo del huésped. Por otra parte, los hongos endófitos también son considerados saprófitos latentes, debido a que hay evidencias de que son los primeros en comenzar la descomposición de los tejidos vegetales cuando comienza la senescencia de la planta hospedera (Tan y Zou 2001; Strobel *et al.* 2004; Schulz y Boyle 2005; Rodríguez *et al.* 2009).

Las especies de las que se han aislado hongos endófitos incluyen plantas que crecen en bosques tropicales, templados y boreales, tanto angiospermas como gimnospermas, además de herbáceas, musgos y helechos de diversos hábitats, lo cual pone en evidencia su ubicuidad en el reino vegetal (Faeth 2002; Strobel *et al.* 2004). Considerando que de las 300 mil especies de plantas que pueden constituir hospederos potenciales sólo se ha investigado una pequeña

proporción. Resulta claro que los endófitos representan un número importante de especies de hongos aún por descubrir (Tan y Zou 2001; Ganguli y Deshmukh 2007; Yu *et al.* 2010).

Los hongos endófitos se clasifican con base en el tipo de colonización dinámica simbiótica y función ecológica que ejercen en: *Clavicipitaceae* o clase 1 (endófitos de los pastos), que colonizan sistémicamente a sus hospederos; y en no *Clavicipitaceae* o clases 2, 3 y 4 (endófitos de plantas no vasculares, coníferas, angiospermas leñosas y herbáceas), que se limitan a colonizar órganos o células específicas como hojas, frutos, raíces, tallos, etc. (Rodríguez *et al.* 2009).

Se sabe que los hongos endófitos no *Clavicipitaceae*, en general, tienen una transmisión horizontal, a diferencia de la transmisión vertical de los hongos endófitos colonizadores de pastos. En los primeros, la infección no se transmite de la planta madre a la descendencia a través de la semilla, sino que se lleva a cabo principalmente mediante un mecanismo conocido como lluvia de esporas en el que la nueva planta entra en contacto con esporas cuando éstas se depositan en la superficie de la misma. Cuando las condiciones son adecuadas, las esporas germinan y se introducen en los tejidos vegetales, penetrando a través de la cutícula o de los estomas. Existen otros modos de infección como la herbivoría, en la que los insectos ayudan a la transmisión de los endófitos. La infección de los tejidos vegetales aumenta con el tiempo, llegan a su esplendor entre las cuatro u ocho semanas después de la lluvia de esporas. Durante esta sucesión, las interacciones interespecíficas entre los distintos hongos que buscan colonizar la planta definen la alta biodiversidad fúngica de los endófitos (Schulz y Boyle 2005; Van Bael *et al.* 2005; Rodríguez *et al.* 2009).

Mecanismos de protección de los hongos endófitos a sus hospederas y su implicación en el control biológico

Los endófitos juegan un papel importante como organismos mutualistas, debido a que pueden aumentar su tolerancia al estrés y la respuesta de defensa del hospedero contra patógenos, a través de los mecanismos que se describirán a continuación (Tan y Zou 2001; Herre *et al.* 2007; Gao *et al.* 2010).

Mecanismos indirectos. A esta clasificación pertenecen los procesos en los que los hongos endófitos inducen o incrementan la expresión de los sistemas de defensas químicas o fisiológicas intrínsecos de sus plantas hospederas. Así por ejemplo, el endófito *Neotyphodium lolii* reduce las lesiones en las hojas de su hospedera *Lolium perenne* (raigrás perenne), causadas por los patógenos *Alternaria alternata*, *Curoularia lunata*, *Fusarium avenaceum* y *Bipolaris sorokiniana*,

al promover un aumento en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y peroxidasa (POD) de la planta (Tian *et al.* 2008).

Mecanismos directos. Se refieren a las defensas que expresan los endófitos directamente, y que son mediadas por metabolitos secundarios o enzimas (Schulz y Boyle 2005). Un ejemplo está representado por la síntesis del ácido nonanoico que lleva a cabo *Trichoderma hartzium*, endófito de *Theobroma cacao*. Este metabolito protege a la hospedera de la infección de hongos parásitos como *Crinipellis pernicioso* y *Moniliophthora rorei* (Arnold *et al.* 2003; Herre *et al.* 2007).

Mecanismos ecológicos de protección. En este caso las respuestas se desencadenan cuando el endófito se encuentra en contacto cercano con su competidor fitopatógeno, y se originan por ocupación del nicho ecológico, hiperparasitismo y predación. La parasitosis que ocasiona el hongo *Trichoderma atroviride* en las hifas de *Rhizoctonia solani* constituyen un ejemplo de este tipo de mecanismo (Reithner *et al.* 2011).

El grado en el que predominan los mecanismos descritos anteriormente tiene distintas consecuencias para la ecología y para la evolución de las relaciones hospedero-endófito y endófito-patógeno (Herre *et al.* 2007; Gao *et al.* 2010). Las interacciones entre los hongos endófitos, sus hospederas y otros organismos, son muy complejas, ya que el endófito y el hospedero producen metabolitos que son tóxicos para ambos organismos. El hongo produce factores de virulencia como exoenzimas y metabolitos fitotóxicos, y la planta hospedera produce defensas, tanto mecánicas como bioquímicas, estableciéndose un antagonismo balanceado entre el endófito y el hospedero. Sin embargo, dependiendo de la virulencia del hongo, así como de la senescencia del hospedero y de las condiciones de estrés ambiental en las que se encuentre, el balance puede tornarse a favor del hongo y éste podría convertirse en patógeno, presentándose así los síntomas de enfermedad (Tan y Zou 2001; Schulz y Boyle 2005; Strobel 2006).

Los modos de protección descritos anteriormente revelan el potencial de los hongos endófitos como agentes de control biológico y como una fuente de bioplaguicidas alternativos (Tan y Zou 2001; Strobel 2006; Gao *et al.* 2010; Tejesvi y Pirttilä 2011). A su vez, las relaciones mutualistas entre los endófitos y sus plantas hospederas han permitido plantear algunas estrategias para seleccionar especies vegetales, a partir de las cuales, sea probable aislar hongos endófitos con actividad biológica. Estas estrategias incluyen la colecta de: 1) plantas que viven en situaciones ambientales únicas, especialmente si poseen estrategias novedosas de supervivencia; 2) especies que tienen antecedentes etnobotánicos; 3) plantas endémicas inusualmente longevas o que ocupan cierta extensión de

tierra desde la antigüedad; 4) plantas que crecen en áreas con gran biodiversidad; y 5) especies que además de endémicas pueden estar amenazadas o en peligro de extinción. En cualquiera de estos casos es importante establecer el tipo de interacciones que se presentan entre el endófito y la planta (Strobel *et al.* 2004; Strobel *et al.* 2004; Gao *et al.* 2010; Kusari y Spiteller 2011).

Hongos endófitos como fuente prometedora de agroquímicos naturales

La investigación química y biológica de diversas especies de hongos endófitos ha conducido al aislamiento de metabolitos secundarios que poseen actividades biológicas de interés para la agricultura, la medicina y la industria. Entre las propiedades que han demostrado estos compuestos se encuentran la herbicida, la fungicida, la antibiótica, la nematocida, la insecticida, la alguicida, la inmunosupresora y la anticancerígena (Saxena y Pandey 2001; Tan y Zou 2001; Schulz *et al.* 2002; Arnold *et al.* 2003; Gunatilaka 2006; Strobel 2011; Tejesvi y Pirttilä 2011). En el caso de los metabolitos con propiedades fitotóxicas, se ha encontrado que su modo de acción involucra la afectación simultánea de diversos procesos, tales como la fotosíntesis, la respiración, la obtención de nutrientes, la apertura de estomas y la producción de fitohormonas, esto les confiere características únicas que pueden aprovecharse para el diseño de agroquímicos altamente eficaces (Rimando y Duke 2006).

Entre los hongos endófitos que poseen un alto potencial como alternativa para la obtención de compuestos de interés agrícola, se encuentra el género *Muscodor*, el cual está constituido por las especies *M. albus*, *M. roseus*, *M. vitigenus*, *M. crispans*, *M. cinamomi*, *M. yucatanensis* y *M. fengyangensis*. Estos endófitos biosintetizan compuestos orgánicos volátiles (VOC, por sus siglas en inglés), destacando diversos alcoholes, ácidos, cetonas y ésteres, que actúan de manera sinérgica para matar a una amplia variedad de hongos, plantas y bacterias (Strobel 2006, 2011; Macías-Rubalcava *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2010; Suwannarach *et al.* 2010). Las propiedades aleloquímicas de estos compuestos son tan notables, que en el 2005 la empresa líder en bioplaguicidas AgraQuest Inc., patentó el uso del género *Muscodor* para su uso en procesos de micofumigación destinados al control biológico de microorganismos patógenos que se encuentran en el suelo de cultivos de importancia económica. Actualmente, las especies más utilizadas con este fin son *M. albus* y *M. roseus*, las cuales se emplean, por ejemplo, para la fumigación del suelo en el que se cultiva la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.), con lo que disminuye la severidad de las enfermedades causadas por *Aphanomyces cochlioides*, *Pythium ultimum*, *Verticillium dahlia* y *Rhizoctonia solani*. Se espera que en un futuro cercano la micofumigación reemplace completamente el uso del bromuro de metilo (Stinson *et al.* 2003; Strobel 2011).

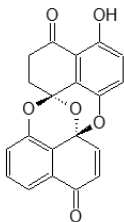
Otra especie del género *Muscodor* con posible aplicación en la agricultura es *M. yucatanensis*, aislada de *Bursera simaruba* (González *et al.* 2009; Macías-Rubalcava *et al.* 2010). Los extractos orgánicos derivados del medio de cultivo y del micelio, así como la mezcla de VOC que produce, son letales para los endófitos *Guignardia mangiferae*, *Colletotrichum sp.* y *Phomopsis sp.*, y para los fitopatógenos *Alternaria solani*, *Rhizoctonia sp.*, *Phytophthora capsici* y *P. parasitica*. Además, inhiben significativamente el crecimiento de la raíz de *Amaranthus hypochondriacus*, *Solanum lycopersicum* y *Echinochloa crus-galli*. Otro endófito fitotóxico que ha despertado gran interés es la especie recientemente descubierta *Edenia gomezpompae*, aislada de las hojas de *Callicarpa acuminata* (González *et al.* 2007). A partir de este endófito se han aislado varios compuestos novedosos, incluyendo las preusomerinas EG₁ (1), EG₂ (2), EG₃ (3) y EG₄ (4) y la palmarumicina EG₁ (5), además de las palmarumicinas conocidas CP₂ (6), CP₁₇ (7) y CP₁₈ (8). Se ha demostrado que las preusomerinas inhiben a otros endófitos de su mismo hospedero, así como a diversos fitopatógenos de importancia económica, tales como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia sp.*, *A. solani*, *Phytophthora capsici* y *Phytophthora parasitica* (Macías-Rubalcava *et al.*, 2008; González-Meléndez, 2009). Se ha encontrado también que los extractos orgánicos del medio de cultivo y del micelio, así como los compuestos (1-8) poseen actividad fitotóxica sobre la longitud de la raíz, la germinación y la respiración de las plántulas de *A. hypochondriacus*, *S. lycopersicum* y *E. crus-galli*. Estudios *in vitro* han permitido confirmar que el modo de acción de los compuestos derivados de *E. gomezpompae* involucra la inhibición de la fotosíntesis, actuando específicamente a nivel de la síntesis de ATP y de las reacciones luminosas (Ruiz Velasco-Sobrino 2012).

Es importante destacar que los compuestos con actividad herbicida y fungicida que se han obtenido de endófitos son sustancias que permanecen en el ambiente por periodos de tiempo relativamente cortos, pues son biodegradables y no dejan residuos tóxicos comparados con los sintéticos, que generalmente se encuentran halogenados (Saxena y Pandey 2001; Schulz *et al.* 2002; Strobel *et al.* 2004). En la Tabla 14.1 y en la Figura 14.1 se presentan ejemplos adicionales de compuestos activos derivados de hongos endófitos.

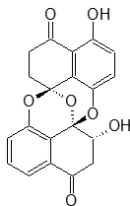
Tabla 14.1. Metabolitos secundarios activos derivados de hongos endófitos.

Hospedera	Hongo endófito	Metabolito secundario	Organismo blanco	Referencias
<i>Capsicum annuum</i> <i>Cucumis sativus</i> <i>Glycine max</i>	<i>Paraconiothyrium</i> sp.	Brefeldina A (9)	<i>E. crus-galli</i>	Khan <i>et al.</i> 2012
<i>Salsola oppositifolia</i>	<i>Phoma</i> sp.	(+)-Flavipucina (10)	<i>P. infestans</i> <i>Septoria tritici</i>	Loesgen <i>et al.</i> 2011
<i>Laggera alata</i>	<i>Podospora</i> sp.	Esterigmatocis-tina (11)	<i>Anopheles gambiae</i>	Matasyoh <i>et al.</i> 2011
<i>Bidens pilosa</i>	<i>Botryosphaeria rhodina</i>	Botriorodinas A y B (12)	<i>F. oxysporum</i> <i>Aspergillus terreus</i>	Abdou <i>et al.</i> 2010
<i>Setaria viridis</i>	NITE AP-796	3-(4-metilfuran-3-il)propan-1-ol (13)	<i>Eysarcoris ventralis</i>	Nakajima <i>et al.</i> 2010
<i>Picea rubens</i>	<i>Phialocephala scopiformis</i>	Cordianhídrido A (14) Ácido 4-oxo-5-fenilpentanoico (15) Macrolactona tipo vermiculina (16)	<i>Choristoneura fumiferana</i>	Sumarah <i>et al.</i> 2010
<i>Picea</i> sp.	<i>Phialocephala scopiformis</i>	Rugulosina (17)	<i>Choristoneura fumiferana</i>	Miller y Sumarah 2008
No identificado	<i>Pestalotiopsis adusta</i>	Pestalocloruros A y B (18 y 19)	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Gibberella zeae</i>	Li <i>et al.</i> 2008
<i>Bontia daphnoides</i>	<i>Nodulisporium</i>	(+)-Ácido nodulispórico (20)	<i>Ctenocephalides felis</i>	Ireland <i>et al.</i> 2008
<i>Saurauia scaberrinae</i>	<i>Phoma</i> sp.	Fomodiona (21)	<i>P. ultimum</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>R. solani</i>	Hoffman <i>et al.</i> 2008
<i>Azadirachta indica</i>	<i>Geotrichum</i> sp.	1-[(2R,4S,5S)-2-cloro-4-metil-1,3-oxazinan-5-il]etanona (22) 1-(2,4-dihidroxifenil)etanona (23)	<i>Bursaphelenchus xylophilus</i> <i>Panagrellus</i> sp.	Li <i>et al.</i> 2007
<i>Lolium perenne</i>	<i>Neotyphodium</i>	Lolina (24)	<i>Rhopalosiphum padi</i> <i>Schizaphis graminum</i> <i>Oncopeltus fasciatus</i>	Schardl <i>et al.</i> 2007 Spiering <i>et al.</i> 2005
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Acremonium byssoides</i>	Acremina A (25)	<i>Plasmopara viticola</i>	Assante <i>et al.</i> 2005

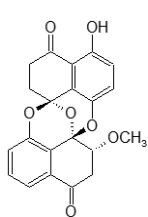
(1)



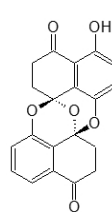
(2)



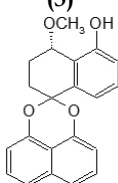
(3)



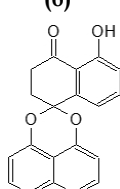
(4)



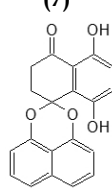
(5)



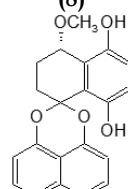
(6)



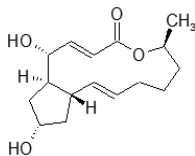
(7)



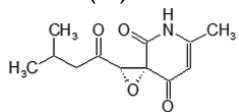
(8)



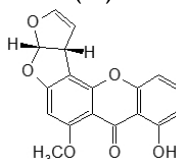
(9)



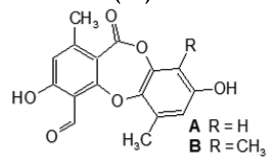
(10)



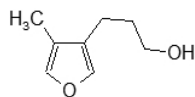
(11)



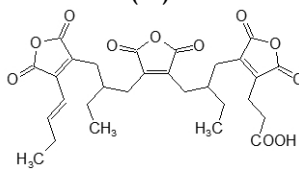
(12)



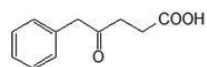
(13)

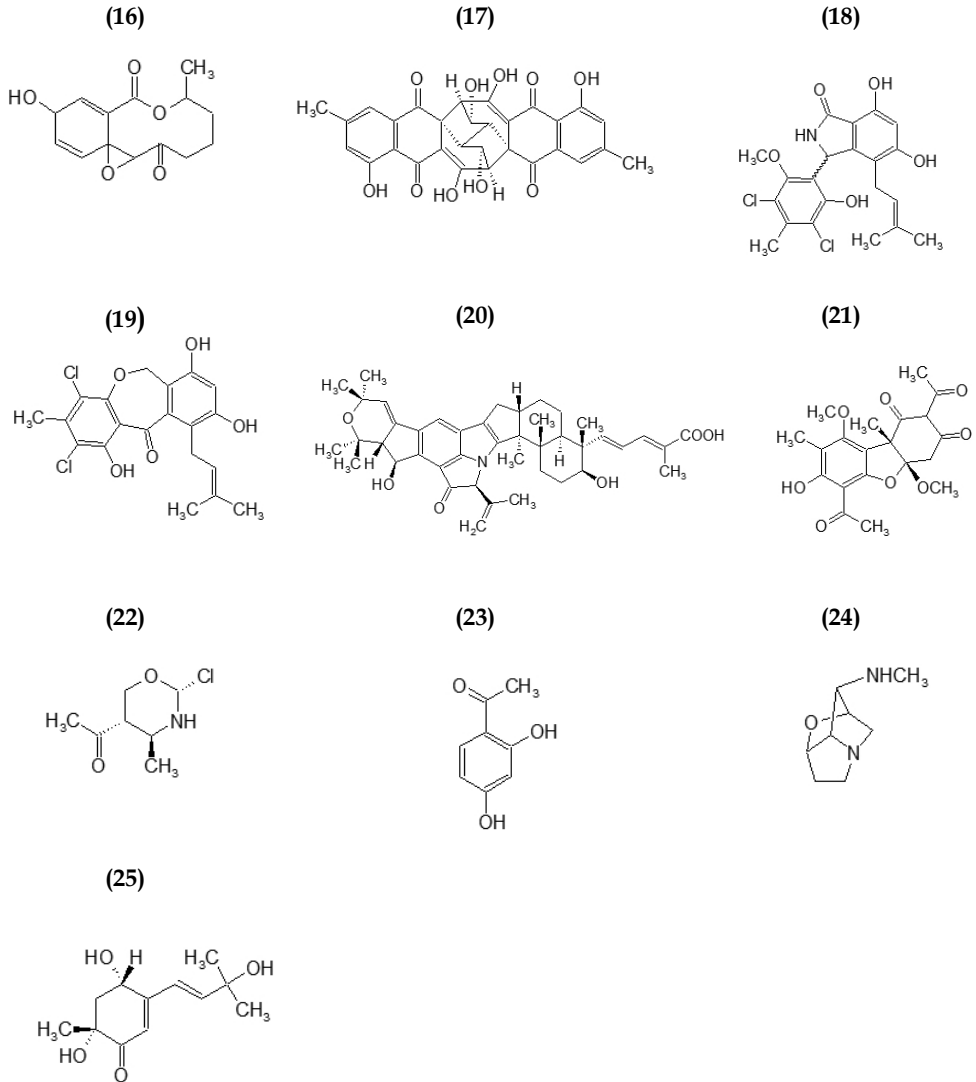


(14)



(15)





Figuras 14.1. Metabolitos secundarios activos derivados de hongos endófitos.

Perspectivas en la investigación de los hongos endófitos

Como se ha descrito a lo largo del capítulo, los hongos endófitos representan una fuente vasta de metabolitos secundarios con posible aplicación en la agricultura. Sin embargo, aún son desconocidos o inciertos diversos aspectos de su ecología química y de su implicación como agentes de biocontrol, debido principalmente a los problemas experimentales que implica su estudio, como

por ejemplo la dificultad de tener plantas control adultas con la colonización exacta de endófitos y lo arriesgado que resulta extrapolar los efectos observados en estudios *in vitro* a los fenómenos observados *in vivo* (Kusari y Spiteller 2011). Además, en numerosas investigaciones no se ha tomado en cuenta el nicho ecológico de estos microorganismos, a pesar de que este enfoque sería de gran ayuda en la búsqueda de actividades específicas (Stone *et al.* 2004). En consecuencia, es evidente la necesidad de implementar estrategias de búsqueda con criterios de selección bien definidos, para incrementar la eficacia en el descubrimiento de agroquímicos alternativos potenciales a partir de estos organismos y, al mismo tiempo, que permitan profundizar en la importancia de su papel ecológico. Asimismo, considerando la gran diversidad y complejidad estructural de sus metabolitos secundarios, la investigación de los hongos endófitos seguirá representando un campo prácticamente inagotable, que requerirá de técnicas analíticas y biológicas cada vez más eficientes y específicas.

Consideraciones finales

Los productos naturales aislados a partir microorganismos representan un valor agregado de estos organismos y de los distintos ecosistemas en los que habitan. La búsqueda, la caracterización y la descripción de estos compuestos son importantes tanto para la bioprospección, como para entender las relaciones ecológicas complejas que se establecen entre plantas y otros organismos dentro de una comunidad o ecosistema y en las que los metabolitos secundarios o aleloquímicos juegan un papel fundamental.

Los microorganismos crecen en ambientes competitivos y su metabolismo secundario puede verse influenciado por la presión que ejerce la competencia con otros organismos, incluyendo hongos y bacterias muy diversos, es decir, el nicho ecológico al que pertenecen es importante para seleccionar especies útiles y así encontrar candidatos para el control biológico, o bien, como una fuente de compuestos bioactivos útiles es agricultura.

La importancia de estudiar microorganismos y especialmente hongos endófitos de plantas que habitan en nuestro país, radica principalmente en la contribución al conocimiento de su papel ecológico y de su contenido metabólico. Al mismo tiempo, la información generada puede ser de utilidad para la búsqueda de nuevos compuestos con aplicación directa en las prácticas agrícolas, tal como se ha demostrado en el presente capítulo. Por último, estas investigaciones permiten descubrir nuevos géneros y especies de hongos, lo que constituye así al conocimiento de la biodiversidad fúngica. En México, la investigación sobre hongos endófitos está enfocada básicamente al aislamiento, identificación y

evolución en las diferentes hospederas; sin embargo, es necesario estudiar también a estos organismos desde el punto de vista químico y biotecnológico, para lograr el aprovechamiento racional de su gran potencial como agentes de control biológico o para la obtención de metabolitos secundarios bioactivos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de los Institutos de Química y Ecología, por el apoyo para la realización de los estudios sobre hongos endófitos de plantas de México y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo financiero otorgado a través del proyecto 81017.

Referencias

- Abdou R., Scherlach K., Dahse H-M., Sattler I., Hertweck C. (2010). Botryorhodines A-D, antifungal and cytotoxic depsidones from *Botryosphaeria rhodina*, an endophyte of the medicinal plant *Bidens pilosa*. *Phytochemistry*. 71(1):110-116.
- Agrios G.N. (2010). *Plant Pathology*. 4ª Edición. Academic Press. Estados Unidos. 922 pp.
- Arnold A.E. y Herre E.A. (2003). Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: Ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia*. 95:388-398.
- Arnold A.E., Mejía L.C., Kylló D., Rojas E.I., Maynard Z., Robbins N., Herre E.A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *PNAS*. 100:15649-15654.
- Assante G., Dallavalle S., Malpezzi L., Nasini G., Burruano S., Torta L. (2005). Acremines A-F, novel secondary metabolites produced by a strain of an endophytic *Acremonium*, isolated from sporangiophores of *Plasmopara viticola* in grapevine leaves. *Tetrahedron*. 61:7686-7692.
- Faeth S.H. (2002). Are endophytic fungi defensive plant mutualist? *Oikos*. 98:25-36.
- Ganguli B.N, Deshmukh S.K. (2007). *Fungi. Multifaceted Microbes*. Anamaya Publishers. New Deli.
- Gao F.K., Dai C.C., Liu X.Z. (2010) Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 4(13):1346-1351.
- González M.C., Anaya A.L., Glenn A.E., Saucedo-García A., Macías-Rubalcava M.L., Hanlin R.T. (2007). A new endophytic ascomycete from El Eden Ecological Reserve, Quintana Roo, Mexico. *Mycotaxon*. 101:251-260.

- González M.C., Anaya A.L., Glenn A.G., Macías-Rubalcava M.L., Hernández-Bautista B.E., Hanlin R.T. (2009). *Muscodor yucatanensis*, a new endophytic ascomycete from Mexican chakah, *Bursera simaruba*. *Mycotaxon*. 110:363-372.
- Gunatilaka L. (2006). Natural Products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*. 69:509-526.
- Herre E.A., Mejía C.L., Kylo D.A., Rojas E., Maynard Z., Butler A., Van-Bael S.A. (2007). Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*. 88:550-558.
- Hoffman A.M., Mayer S.G., Strobel G.A., Hess W.M., Sovocool G.W., Grange A.H., Harper J.K., Arif A.M., Grant D.M., Kelley-Swift E.G. (2008). Purification, identification and activity of phomodione, a furandione from an endophytic *Phoma* species. *Phytochemistry*. 69(4):1049-1056.
- Huelgas-Marroquín P. (2011). Aspectos de la ecología química de los metabolitos secundarios bioactivos del hongo *Xylaria* sp., aislado de *Callicarpa acuminata* (Verbenaceae). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 100 pp.
- Ireland C., Peekhaus N., Lu P., Sangari R., Zhang A., Masurekar P., An Z. (2008). The tryptophan synthetase gene TRP1 of *Nodulisporium* sp.: molecular characterization and its relation to nodulisporic acid a production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79:451-459.
- Khan A.L., Hamayun M., Hussain J., Kang S.M., Lee I.J. (2012). The Newly Isolated Endophytic Fungus *Paraconiothyrium* sp. LK1 Produces Ascotoxin. *Molecules*. 17:1103-1112.
- Kusari S. y Spiteller M. (2011). Are we ready for industrial productions of bioactive plant secondary metabolites utilizing endophytes? *Natural Product Reports*. 28:1203-1207.
- Li E., Jiang L., Guo L., Zhang H., Chen Y. (2008). Pestalochlorides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 16:7894-7899.
- Li G.H., Yu Z.F., Li X., Wang X.B., Zheng L.J., Ke-Qin Zhang. (2007). Nematicidal Metabolites Produced by the Endophytic Fungus *Geotrichum* sp. AL4. *Chemistry and Biodiversity*. 4:1520-1524.
- Loesgen S., Bruhn T., Meindl K., Dix I., Schulz B., Zeeck A., Bringmann G. (2011). (+)-Flavipucine, the Missing Member of the Pyridione Epoxide Family of Fungal Antibiotics. *European Journal of Organic Chemistry*. (26):5156-5162.
- Macías-Rubalcava M.L., Hernández-Bautista B.E., Jiménez-Estrada M., González M.C., Glenn A.E., Hanlin R.T., Hernández-Ortega S., Saucedo-García A., Muria-González J.M., Anaya A.L. (2008). Naftoquinone

- spiroketal with allelochemical activity from the newly discovered endophytic fungus *Edenia gomezpompae*. *Phytochemistry*. 69:1185-1196.
- Macías-Rubalcava M.L., Hernández-Bautista B.E., Duarte G., Oropeza F., González M.C., Glenn A.E., Hanlin R.T., Anaya A.L. (2010). 'Allelochemical potential of volatile compounds and organic extracts from *Muscodora yucatanensis* fungus from *Bursera simaruba*. *J. Chem. Ecol.* 36:1122-1131.
- Matasyoh J.C., Dittrich B., Schueffler A., Laatsch H. (2011). Larvicidal activity of metabolites from the endophytic *Podospira* sp. against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Parasitology Research*. 108:561-566.
- Meléndez-González C. (2008). Potencial aleloquímico del endófito *Edenia gomezpompae* sobre diferentes comunidades de hongos endófitos de plantas tropicales. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 113 pp.
- Meléndez-González C. (2012). Policétidos diméricos bioactivos del hongo endófito *Acremonium* sp. aislado de *Bursera simaruba* (Burseraceae). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 122 pp.
- Miller J.D. y Sumarah M.W. (2008). Effect of a Rugulosin-producing Endophyte in *Picea glauca* on *Choristoneura fumiferana*. *Journal of Chemical Ecology*. 34:362-368.
- Muriá-González M.J. (2007). Búsqueda de aleloquímicos en un hongo endófito de una zona tropical de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 100 pp.
- Muriá-González M.J. (2010). Papel de los bisnaftoespirocetales del hongo endófito *Edenia gomezpompae* en la interacción antagonica con *Guignardia mangiferae* y *Phytophthora capsici*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 138 pp.
- Nakajima H., Ishihara A., Sawa Y., Sakuno E. (2010). 3-(4-Methylfuran-3-yl)propan-1-ol: A White-Spotted Stinkbug (*Eysarcoris ventralis*) Repellent Produced by an Endophyte Isolated from Green Foxtail. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 58(5):2882-2885.
- Reithner B., Ibarra-Laclette E., Mach R.L., Herrera-Estrella A. (2011). Identification of mycoparasitism-related genes in *Trichoderma atroviride*. *Applied and Environmental Microbiology* 77(13):4361-4370.
- Rimando A.M. y Duke S.O. (2006). Natural products for pest management. Dube N. K., editor. CAB International. Londres, Reino Unido. 293 pp.
- Rodríguez R., White J., Arnold, A. E. y Redman R. (2009). Fungal endophytes: diversity and ecological roles. *New Phytologist*. 182:314-330.
- Ruiz-Velasco Sobrino M.E. (2012). Potencial fitotóxico de los extractos orgánicos y principales metabolitos secundarios producidos por las variantes morfológicas de *Edenia gomezpompae*: Efecto sobre la respiración y la

- fotosíntesis. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. En proceso de titulación.
- Sánchez-Fernández R.E. (2010). Determinación del potencial alelopático de los extractos del medio de cultivo y del micelio de un hongo endófito aislado de *Lonchocarpus castilloi* (Fabaceae). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 87 pp.
- Saxena S. y Pandey A.K. (2001). Microbial metabolites as eco-friendly agrochemicals for the next millennium. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 55:395-403
- Scharidl C.L., Grossman R.B., Nagabhyru P., Faulkner J.R., Mallik U.P. (2007). Loline alkaloids: currencies of mutualism. *Phytochemistry*. 68 (7): 980-996.
- Schulz B., Boyle Ch., Draeger S., Römmert A.K., Krohn K. (2002). Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*. 106:996-1004.
- Schulz B. y Boyle C. (2005). The endophytic continuum. *Mycol. Res.* 109:661-686.
- Spiering M.J., Moon C.D., Wilkinson H.H., Scharidl C.L. (2005). Gene Clusters for Insecticidal Loline Alkaloids in the Grass-Endophytic Fungus *Neotyphodium uncinatum*. *Genetics*. 169:1403-1414.
- Stinson A.M., Zidack N.K., Strobel G.A. y Jacobsen B.J. (2003). Mycofumigation with *Muscodor albus* and *Muscodor roseus* for control of seedling diseases of sugar beet and *Verticillium* wilt of eggplant. *Plant Disease*. 87:1349-1354.
- Stone J.K., Polishook J.D., White J.F. (2004). Endophytic fungi. *En: Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*. Mueller G.M., Bills G.F., Foster M.S. (Ed.). Elsevier Academic Press. China. 777 pp.
- Strobel G. y Dasy B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology. Reviews*. 67:491-502.
- Strobel G., Dasy B., Castillo U., Harper J. (2004). Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*. 67:257-268.
- Strobel G. (2006). Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Current Opinion in Microbiology*. 9:240-244.
- Strobel G. (2011). *Muscodor* species endophytes with biological promise. *Phytochem Rev.* 10:165-172.
- Sumarah M.W., Puniani E., Sørensen D., Blackwell B.A., Miller J.D. (2010). Secondary metabolites from anti-insect extracts of endophytic fungi isolated from *Picea rubens*. *Phytochemistry*. 71:760-765.
- Suwannarach N., Bussaban B., Hyde K.D. Lumyong S. (2010). *Muscodor cinnamomi*, a new endophytic species from *Cinnamomum bejolghota*. *Mycotaxon*. 114(9):15-23.
- Tan R.X. y Zou W.X. (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*. 18:448-459.

- Tejesvi M. y Pirttilä A. (2011). Potential of tree endophytes as sources for new drug compounds. pp 295-311. *En: Endophytes of forest trees*. Pirttilä A. y Frank C., editores. Springer. Estados Unidos de América. 319 pp.
- Tian P., Nan Z., Li C. (2008). Effect of the endophyte *Neotyphodium lolii* on susceptibility and host physiological response of perennial ryegrass to fungal pathogens. *European Journal of Plant Pathology*. 122:593-602.
- Van Bael S., Maynard Z., Rojas E., Mejia L. C., Kyllö D., Herre E. A., Robbins N., Bischoff J. F. y Arnold A. E. (2005). Emerging Perspectives on the Ecological Roles of Endophytic Fungi in tropical Plants. *En: The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*. 3ª Edición. Dighton J., White J., Oudemans P. (Ed.). Taylor & Francis. Nueva York, Estados Unidos. pp 181-192.
- Yu H., Zhang L., Li L., Zheng C., Guo L., Li W., Sun P., Qin L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*. 165:437-449.
- Zhang C.L., Wang G.P., Mao L.J., Komon-Zelazowska M., Yuan Z.L., Lin F.C., Druzhinina I.S., Kubicek C.P. (2010). *Muscodor fengyangensis* sp. nov. from southeast China: morphology, physiology and production of volatile compounds. *Fungal Biology*. 114(10):797-808.

CAPÍTULO 15

POTENCIAL DE LAS PLANTAS NATIVAS DE MÉXICO PARA EL DESARROLLO DE BIOINSECTICIDAS

Graciela Bustos-Zagal¹, Ludmila E. Guzmán-Pantoja ², Cesáreo Rodríguez-
Hernández³ y Víctor M. Hernández-Velázquez ¹

Introducción

Las plantas han desarrollado, durante su evolución, importantes mecanismos químicos y físicos para protegerse y estabilizar los efectos de los organismos fitófagos. Varias de las sustancias activas que ellas sintetizan se han aislado para su estudio y se ha observado que, correctamente aplicadas, sean puras o combinadas, resultan eficientes en el manejo de insectos-plaga. El conocimiento de las ventajas de estas propiedades de las plantas, fue inicialmente empírico, adquirido por personas que han observado que hay plantas que, generalmente, se mantienen sanas en ambientes con presencia de plagas. Algunas plantas son usadas como repelentes en los sistemas de cultivo y sus derivados como los extractos, polvos, resinas y compuestos activos, son empleados por sus propiedades insecticidas e insectistáticos.

En América Latina es común que la producción de aceites y extractos botánicos para el control de insectos-plaga se haga sin un sistema regulatorio, a baja escala sólo para su uso local, cuyas poblaciones de son escasos recursos económicos. En términos estadísticos, los plaguicidas botánicos y biológicos en general comprenden una fracción muy pequeña del volumen total de los plaguicidas usados anualmente en todo el mundo, es decir, el consumo total mundial de los bioinsecticidas, para el 2009, representó el 0.2% del consumo total de insecticidas (FAOSTAT 2009). Este aumento paulatino en la industria y el consumo de bioinsecticidas no implica el desplazamiento total de los plaguicidas sintéticos, pero pone énfasis en el uso integrado de opciones de bajo riesgo en el control de insectos-plaga. Cabe destacar que los insecticidas botánicos mantienen una importancia por su bajo nivel de toxicidad, menor acumulación, que comúnmente exhiben en el ambiente, y por ser generalmente compatibles con

¹ Laboratorio de Control Biológico, Centro de investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

² Laboratorio de Fermentaciones y Fisiología de Frutas y Hortalizas, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Universitario S/N, las Campanas, 76010, Querétaro, Querétaro, México.

³ Entomología, Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillos, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México.

otras alternativas de programas de manejo integrado de plagas (Silva *et al.* 2002). En comparación con los insecticidas sintéticos, tienen menor efecto residual y debido a que contienen una mezcla compleja de compuestos, la mayoría biológicamente activos, el desarrollo de la resistencia en los insectos se prolonga.

Se ha mostrado un interés creciente por el uso de esta alternativa en el manejo de plagas, aunque suele sobrestimarse dicha situación, pues en ocasiones se hacen recomendaciones confusas sobre el uso de estos productos sin que hayan sido validados por investigaciones de campo y bioseguridad. En México y en América Latina, esto es común, a pesar de que los productos son de origen natural no puede asumirse que sean seguros en su totalidad, por eso, para aprovechar eficientemente los beneficios de estos productos es importante el empleo adecuado de las técnicas y el equipo de seguridad cuando se trabaja en la elaboración y aplicación de los extractos botánicos, así como reconocer las dosis adecuadas de formulación.

En las industrias plaguicidas mexicanas, especialmente aquellas que incluyen la producción de plaguicidas botánicos, la mayoría de los derivados de las plantas con potencial para controlar los insectos plagas son de importación, lo que implica una dependencia tecnológica y una fuga de divisas. Por otro lado, la mayoría de las especies de plantas con potencial insecticida han sido introducidas en México, las cuales demandan mayores cuidados agrícolas que las plantas nativas, además dichas plantas han sido seleccionadas de acuerdo a las necesidades agrícolas y pecuarias de los países que las han estudiado.

Por lo anterior, en este trabajo se realizará una búsqueda y revisión bibliográfica sobre los estudios realizados en el país de las plantas que la investigación, la industria, los agricultores y en general las personas habitualmente emplean para el control de plagas en los cultivos y granos almacenados.

Historia del uso de las plantas por sus propiedades insecticidas

Actualmente el sector agrícola y pecuario dispone de insecticidas de origen sintético, biológico y métodos culturales para el control de plagas. El control químico sintético, por su parte, es considerado por los agricultores y ganaderos de fácil adquisición y manipulación, además de generar rápida actividad de control y por ser efectivos, sin embargo el uso desmedido e irracional de estos productos ha generado graves daños ecológicos, económicos y a la salud pública. Como consecuencia de estos perjuicios biológicos y sociales se considera obligatorio el uso de alternativas de control ecológicamente seguras como lo son los insecticidas botánicos que han sido utilizados desde tiempos

antiguos en diversos lugares del mundo y en la actualidad su uso está siendo retomado. La primera referencia sobre la aplicación de extractos de plantas para el control de plagas proviene de Roma y data aproximadamente de 400 años a.n.e. (Dayan *et al.* 2009), este producto era conocido como “polvo de Persia”.

Los métodos empíricos que los agricultores empleaban se caracterizaban por el empleo de polvos, humos y extractos de plantas los cuales fueron desplazados con el uso de insecticidas químicos sintéticos. Fue alrededor de los años setentas a la fecha en que estos productos tuvieron su segunda época de auge. Aproximadamente hay 3000 plantas con propiedades insecticidas y repelentes a nivel mundial (Narayanasamy 2002) incluyendo más de 30 géneros en las regiones tropicales y subtropicales, y México aporta alrededor del 10% de estas plantas en el mundo, y de acuerdo con las estimaciones hasta ahora publicadas, se encuentra en el cuarto lugar entre los países con más de 18 mil especies de plantas vasculares (Magaña y Villaseñor 2002). México es un país que tiene amplio índice de plantas endémicas con un interesante contenido de metabolitos secundarios, lo que genera múltiples posibilidades de encontrar compuestos con actividades plaguicidas. En nuestro país y en América Latina se han utilizado tradicionalmente plantas en la medicina y la agricultura desde la época prehispánica; y sin embargo se han realizado pocos estudios metódicos al respecto. En la actualidad esto constituye una fuente valiosa de compuestos en la que debe reincidirse en mayor escala.

Plantas seleccionadas por su potencial para desarrollar un bioinsecticida

Es claro que el control de plagas con productos sintéticos resulta eficiente cuando pensamos en términos de una alta densidad poblacional que demanda una mayor cantidad de alimentos, pero, los inconvenientes ecológicos, económicos y a la salud pública que esto ha traído, han hecho reflexionar a la sociedad para solicitar productos con menos residuos tóxicos, un ambiente más conservado y estudios de alternativas de control para producir plaguicidas seguros, eficaces, selectivos y biodegradables (Regnault *et al.* 2005).

Como parte de las tendencias actuales, retomar el uso de plantas con potencial bioactivo es una de las prioridades de estudio en diversos sectores productivos sean farmacéuticos, agrícolas y alimenticios, con el fin de ampliar su utilidad y valor ecológico y económico. De la diversidad de plantas que existe mundialmente pocas han sido investigadas por sus usos y en algunas de ellas hace falta investigación. De estos insecticidas botánicos, un pequeño porcentaje ha logrado desarrollarse en el mercado, si consideramos que los compuestos activos extraídos de las plantas en su mayoría son biodegradables e inocuos, y

que en México se encuentran aproximadamente el 10% de las especies de plantas superiores del mundo y más del 50% de ellas son nativas de nuestro país (CONABIO 2006), resulta interesante explorar el potencial insecticida e insectistático de sus extractos botánicos y otros derivados, para el desarrollo de bioinsecticidas. Para la producción actual de varios insecticidas botánicos comerciales se consideró como modelo los conocimientos empíricos y científicos sobre las propiedades insecticidas de las plantas, en sus inicios este conocimiento estaba dirigido al uso de hojas, frutos, plantas intercaladas raíces machacadas y ramas colgadas entre los productos agrícolas almacenados y en zonas de cultivo; posteriormente se dirigió al empleo de aceites, extractos, resinas, polvos, jabones, humos, jugos, entre otros derivados de plantas con potencial insecticida, y por último se generó conocimiento sobre la extracción, aislamiento e identificación de los compuestos responsables de la actividad insecticida e insectistática. A nivel comercial en el país existen alternativas de plaguicidas biológicos, botánicos y minerales de bajo riesgo para la salud de los seres vivos y para organismos benéficos, los cuales también son considerados dentro de la Certificación Orgánica y registro de la Environmental Protection Agency (EPA).

Entre las diversas alternativas de control de insectos plaga destacan numerosas plantas que contienen sustancias bioactivas degradables e inocuos que podrían emplearse en el manejo integrado de plagas de importancia agrícola y pecuario.

A continuación integramos diversas investigaciones y experiencias prácticas sobre el uso de tres especies de plantas nativas y/o endémicas de México con la finalidad de contribuir al desarrollo industrial de nuevos insecticidas botánicos que sean biodegradables, con menor toxicidad y resistencia a plagas.

Investigación de *Trichilia havanensis* (Meliaceae) y sus derivados, a nivel de laboratorio y campo, por su potencial para el control de insectos plaga de importancia agrícola y pecuaria

La especie *Trichilia havanensis* está distribuida en la regiones tropicales de México, Islas del Caribe, América Central, norte de Colombia y Venezuela. En México se le ha ubicado en los estados de Sinaloa, Colima, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Distrito Federal, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala y Morelos (Fernández *et al.* 1998; Anónimo 2009), Quintana Roo, Chiapas, Tabasco, Veracruz, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y Tamaulipas (Calderón y Germán 1993). Su distribución se restringe al continente americano, por lo que no se localiza en Europa y África. Por su amplia distribución y crecimiento abundante representa una especie con potencial para sus diversos usos.

Diversos estudios de laboratorio y campo han demostrado la efectividad de *T. havanensis* contra plagas agrícolas (López-Olguín y Aragón 1990; Lagunes 1993), por su parte, el fruto seco pulverizado de esta planta, incorporado a una dieta nutritiva, ocasiona mortalidad, reducción significativa del peso y un efecto en el retraso del desarrollo larval de *Spodoptera littoralis* (López-Olguín *et al.* 1997). El extracto acuoso de semillas tiene efectos antialimentarios sobre larvas de *S. exigua* (gusano soldado), mientras que el pulverizado a concentraciones entre el 1% y el 5% presenta efectos tóxicos, inhibitorios y disuasivos en la eclosión de huevos, alimentación larval, pupación, emergencia de adultos, oviposición, retraso en el crecimiento larval y reducción de la capacidad reproductora de *Ceratitis capitata* (mosca mediterránea de la fruta) (López-Olguín *et al.* 2002). De acuerdo con estudios reportados por Figueroa, resultó que las semillas pulverizadas son tóxicas, reduce el peso larval y prolonga el desarrollo larval-pupal de *S. frugiperda* (Figueroa 2011). Otro estudio muestra que los índices de actividad antialimentaria (particularmente para los índices antiapetitivo y de supresión de la alimentación) y el perfil químico de los extractos acetónicos, etanólicos e hidro-etanólicos de semillas, contienen una variedad y concentración de compuestos activos que afectan significativamente el comportamiento de alimentación de las larvas de *Helicoverpa armigera* y *Phyllophaga vetula* (López-Olguín *et al.* 1998).

Estos y otros resultados son importantes para considerar a *T. havanensis*, planta nativa de México, como candidata para fabricar y comercializar un producto botánico a base de los principios activos del extracto acuoso de semillas, con lo cual bajaría los costos del producto y hace costeable su aplicación en campo para el control de plagas que afectan cultivos de valor agronómico. Otra alternativa de este productos botánicos, que considera estimaciones costeables de control, es su aplicación alternada con otros productos de diferentes plantas, con el propósito de bajar los costos de adquisición de algunas materias primas, tal es el caso de semillas de papaya, que también presentan potencial insecticida, así como, prolongar y disminuir el desarrollo de resistencia en razas fisiológicas de insectos-plaga expuestos al control. Por lo general estas alternativas suelen ser inofensivas en enemigos naturales de los insectos plaga.

Productos naturales activos

Las plantas de esta familia se caracterizan químicamente por contener gran cantidad de tetranortriterpenoides, conocidos comúnmente como limonoides (Taylor 1981). Se han identificado en la planta completa havanesín, sus di y triacetatos y trichilenona; en la semilla, azadirona, triacetato de havanensín, el 14-15-deoxi-compuesto, su 1-7-diacetato y limonoide 6; en el fruto los di y tri

acetatos de havanensín; y en la corteza del tallo beta-amirina, además del esteroide beta-sitosterol (Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana 2009). Muchos de estos compuestos destacan por su sobresaliente actividad en el comportamiento y la fisiología de diversas especies de insectos fitófagos. Del extracto acetónico de semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. (*Meliaceae*) se han obtenido abundantes cantidades de 1,7- y 3,7-di-O-acetil-14,15-desoxihavanensinas y de azadirona (Tr-2) de los limonoides aislados (Arenas y Rodríguez 1990) únicamente la azadirona se ha citado con actividad antialimentaria contra *Epilachna varivestis* Mulsant (Champagne *et al.* 1992).

Los compuestos, azadirona, O-acetiltrichilenona (II); 3,7-di-O-acetil- 14,15-desoxihavanensina (III), 1,7-di-O-acetil-14,15-desoxihavanensina (IV), 1,7-di-O-acetilhavanensina (Tr-11) y 3,7-di-O-acetilhavanensina (Tr-12) fueron obtenidos del extracto acetónico de semillas de *T. havanensis*, los primeros cuatro limonoides son responsables de la actividad antialimentaria de larvas de *H. armígera*, plaga de importancia agrícola mundial (López-Olguín *et al.* 1998) y en general estos limonoides han mostrado control de lepidópteros noctuidos y coleópteros (López-Olguín 1998). Se ha observado que las mezclas de limonoides activos son más efectivas en el control de plagas, que los correspondientes a compuestos puros, lo que sugiere un efecto sinérgico en las mezclas.

Es evidente, por tanto, la importancia que tienen los compuestos aislados de especies de la familia *Meliaceae* para el desarrollo potencial de productos ambientalmente seguros y efectivos que puedan contribuir al control de plagas.

Usos tradicionales en el control de insectos-plaga

En México las comunidades campesinas e indígenas, principalmente, emplean diversas plantas para la protección de cultivos y granos almacenados, las cuales están siendo validadas científicamente por diversos departamentos de investigación de universidades e instancias privadas. Entre las plantas conocidas empíricamente por su potencial insecticida está Xopiltepetl (*T.havanensis*), preparada comúnmente como atole y empleado para tratar a los granos almacenados en el momento de la siembra. Los campesinos de la Sierra Norte de Puebla reportan que con el fruto fresco elaboran una pasta, con la cual impregnan las semillas del maíz veinticuatro horas antes de la siembra y que este tratamiento resulta efectivo para evitar el ataque de insectos durante la germinación (López-Olguín 1994).

Desde hace mucho tiempo, agricultores mexicanos, como es el caso de la comunidad Náhuatl-Totonaca de Puebla, tradicionalmente por conocimiento empírico, han usado los frutos macerados de esta planta, para proteger las semillas de maíz del ataque de insectos, aves y roedores al momento de su siembra. En Hidalgo existe mucha dependencia de la flora local para el control de plagas; entre las plantas con mayor importancia se encuentra *T. havanensis*, de la cual se obtienen seis productos como infusiones y humo con técnicas tradicionales de preparación, y se emplean contra nueve plagas (Villavicencio-Nieto *et al.* 2010).

Investigación de *Microsechium helleri* (cucurbitaceae) y sus derivados a nivel de laboratorio y campo por su potencial para el control de plagas de importancia agrícola y pecuaria

Planta trepadora, vigorosa, perenne y monoica, comúnmente conocida como chayotillo, amole de bejuco, chicamole o sanacoche, es originaria de México y Centroamérica. Crece en bosques de *Quercus* con *Pinus*, *Alnus* y/o *Cupressus*, en el bosque tropical caducifolio y en el bosque mesófilo ocasionalmente como arvense, así como en algunos matorrales xerófilos y como ruderal, tanto en Guanajuato, Querétaro, Michoacán, Jalisco, Hidalgo, D.F., Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Chihuahua, Durango, San Luis Potosí, como en Centroamérica, en altitudes de entre los 1850 y 2900 msnm. Comúnmente florece y fructifica entre julio y noviembre. En virtud de su tendencia a ocupar ambientes perturbados, no se considera vulnerable a la extinción (Lira 2001). En varias partes de México sus raíces se emplean como sustitutos de jabón e incluso se pueden encontrar a la venta en los mercados de Oaxaca (Lira y Caballero 2002).

En el estado de Hidalgo, México, existe una dependencia de la flora local para el control de plagas, que se realiza en un esquema de usos múltiples, con técnicas tradicionales. Se ha investigado que en la región se usan 124 especies de plantas, de las que se obtienen 186 productos, como infusiones y humo, para controlar 29 tipos de plagas de vertebrados e invertebrado, así como, para la protección de las personas, hogares, animales domésticos y cultivos, entre otros. En esta región es costumbre utilizar todas las partes de las plantas (Villavicencio-Nieto 2010).

Productos naturales activos

En la literatura citada hemos encontrado resultados promisorios en la investigación de plaguicidas naturales de la familia cucurbitaceae. Estudios químicos en el extracto metanólico de la raíz de *Microsechium helleri* han

establecido la presencia de cuatro saponinas que están involucradas en los mecanismos de resistencia de las plantas hacia fitófagos y patógenos, y tienen una función importante en la defensa química contra insectos. Particularmente estos compuestos actúan como reguladores del crecimiento en larvas de *S. littoralis*, los cuales podrían ser potencialmente útiles en el área de la agricultura. Once saponinas han sido aisladas de la raíz de esta planta y evaluadas por su actividad antialimentaria, nematicida y fitotóxica (Hernández-Carlos *et al.* 2011).

Usos tradicionales en el control de insectos plaga

El extracto acuoso de raíz se utiliza para el control de gallina ciega, cochinilla, babosas, caracoles, lombrices. Particularmente en la regiones de Acaxochitlán, San Bartolo, Tutotepec y Tenango, en Hidalgo, la raíz de *Microsechium helleri* es machacada en agua y este extracto es utilizado para el control de pulgas en los perros (Villavicencio-Nieto 2010).

Investigación de *Nicotiana tabacum* (Solanaceae) y sus derivados a nivel de laboratorio y campo por su potencial para el control de plagas de importancia agrícola y pecuaria

El tabaco (*N. tabacum*) es uno de los insecticidas e insectistáticos más antiguos, después del piretro. En la agricultura de subsistencia y ahora con la búsqueda de alternativas biorracionales, el tabaco se sigue usando en el control de insectos-plaga, por lo que es indispensable conocer y adoptar todas las formas, técnicas y procedimientos de su uso en la agricultura de América Latina, en particular las recetas contra insectos-plagas (Rodríguez 2006).

El tabaco es una planta anual, potencialmente perenne y leñosa, originaria del continente americano, específicamente de México, también se produce en latitudes como las que corresponden a África del Sur, Bélgica, Canadá y Brasil. La temperatura ideal para el desarrollo del tabaco es entre 18 y 28°C, donde el exceso de humedad o la falta de ésta podrían dañar la planta.

El polvo o triturado de la hoja fresca o seca y del tallo posee propiedades antisépticas e insecticidas. También son usados la infusión y el extracto acuoso de hojas. En las plantas a tratar puede aplicarse el polvo o la infusión, especialmente para el control de insectos chupadores, barrenadores, masticadores y minadores (Rodríguez 2006).

Los preparados insecticidas de tabaco se han utilizado en diversas partes del mundo como lo describe el Dr. Cesario Hernández, del Colegio de Posgraduados, México, y se le ha utilizado en el control de muchos insectos

plaga de cultivos como el frijol, trigo, maíz, tomate, rosales, entre otros. Varios de estos derivados del tabaco suelen combinarse con extractos de otras plantas o sus derivados, tal es caso de *Capsicum sp.*, *Azadiractha indica*, *Eucalyptus tereticornis* y de la savia de nopal, o con compuestos como la cal viva, carbonato de sodio, sal y jabón (Rodríguez 2006).

Productos naturales activos

El tabaco contiene varios compuestos entre los que destacan por su actividad biológica la nicotina, nicocianina, ácido prúsico, ácido tánico y ácido gálico. En el caso del compuesto nicotina, éste no se encuentra en la planta en forma libre sino que formando maleatos y citrato, es básicamente un insecticida de contacto no persistente. Su modo de acción consiste en mimetizar la acetilcolina al combinarse con su receptor en la membrana postsináptica de la unión neuromuscular. Actualmente se encuentran en el mercado un grupo de insecticidas conocidos como neonicotinoides que son sintéticos o derivados de la estructura de la nicotina como son imidacloprid y acetamiprid, entre otros.

Usos tradicionales en el control de insectos plaga

En México se hierve una taza de polvo de tabaco en cuatro litros de agua, luego se enfría y se aplica contra insectos chupadores del orden homóptero, heteróptero y tisanópteros. En Oaxaca, se recomienda macerar hojas frescas de tabaco en un litro de agua después de 24 horas de reposo, se filtra y se asperja a las hojas contra mosca blanca. Los pulgones pueden controlarse con el polvo, té o macerado de las hojas del tabaco.

Ventajas de uso

Las principales ventajas del uso de los extractos botánicos radican en que pueden emplearse en programas de manejo integrado de plagas, con las restricciones especificadas, quizás alternadamente con agroquímicos de síntesis y otros productos biológicos. Son compatibles con la mayoría de los enemigos naturales de plagas y enfermedades punto importante de la agricultura sostenible (Raguraman y Singh 2000; Simmonds 2000). La mayoría pueden ser utilizados poco tiempo antes de la cosecha sin riesgo de residuos y el periodo de seguridad se consigna a cero días, por su rápida degradación disminuye el riesgo residual en los alimentos. Estos productos son aceptados en la agricultura ecológica, según el reglamento de la comunidad Europea número 889/2008. A través de su uso correcto, en dosis y preparados de acuerdo a las especificaciones, estos productos no han causado intoxicación en las personas que realizan su aplicación, no afectan al ciclo biológico de las plantas tratadas y

son biodegradables. No dependen de condiciones específicas de temperatura, humedad o aireación para actuar, únicamente se recomienda hacer las aplicaciones del producto durante las primeras horas del día dado que muchos compuestos activos son fotolábiles. Su almacenamiento, transporte y aplicación son similares a plaguicidas químicos de síntesis. El desarrollo de resistencia en razas fisiológicas de insectos es más lento que los insecticidas sintéticos (Mordue 2000).

Consideraciones finales

Actualmente en el mercado se encuentra toda una variedad de productos biológicos para el manejo de plagas en los cultivos, es evidente que la aceptación reservada de estas alternativas podría deberse a que muchas veces han fallado en tiempo y modo de efectividad, lo que hace que el agricultor dude de estos productos.

Comercialmente destacan los extractos botánicos como alternativa de control, que son sustancias bioactivas extraídas de las plantas con propiedades insecticidas, la investigación de estos productos comienza con la observación en el campo de plantas que se mantienen sanas cuando están expuestas a la presión de plagas. El efecto comprobado de estos productos de maceración inicialmente preparados artesanalmente para controlar problemas de salud es usado por muchos campesinos en la agricultura tradicional para controlar plagas en sus cultivos. Una vez realizadas las observaciones anteriores, se desarrollan actividades experimentales con las plantas y sus derivados para elegir las que mejor efecto brinden en el control del insecto-plaga en cuestión, de manera que se extraen las sustancias activas, se comprueba su eficacia en laboratorio y en campo, se realizan estudios de bioseguridad, se busca el potencial de la planta para ser cultivada y finalmente se realiza la formulación y estabilización de los productos para garantizar su correcta aplicación en el campo, del mismo modo de un producto químico de síntesis. Es prioridad poder avanzar con la investigación de extractos acuosos, de plantas nativas y/o endémicas de México principalmente, debido a que el agua es el solvente más fácil de conseguir, muchos de los compuestos activos están presentes y su manejo es relativamente fácil, además de favorecer el uso de recursos naturales propios de la región, lo cual se asocia con el factible cultivo de las plantas candidatas con potencial para el control de insectos plaga.

Las actividades biológicas de las plantas como la toxicidad en insectos fitófagos, efectos antialimentarios y disuasivos, entre otros efectos insectistáticos muestran el potencial de sus compuestos para desarrollar productos botánicos para el

control de plagas Después de generar una recomendación para el control de insectos plagas con el uso de sustancias de plantas, se genera una serie de investigaciones tendientes a prevenir problemas posteriores, como son el análisis quimiotaxonómico y el potencial tóxico de las especies botánicas, órganos y partes de las plantas con mayor concentración de los compuestos activos contra insectos, modos y mecanismos de acción del metabolito tóxico en el insecto, pruebas de bioseguridad y residualidad del producto botánico, estudios agronómicos de la especie botánica con potencial para el control de plagas y estudios de distribución y propagación de la especie vegetal.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Eduardo Aranda Escobar† por impulsar esta línea de investigación así como al personal que trabaja extractos botánicos del laboratorio Control Biológico del Centro en Investigación en Biotecnología.

Referencias

- Anónimo. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. México, 22 <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>. Consultado febrero 2012.
- Arenas C., Rodríguez-Hahn L. (1990). Limonoids from *Trichillia havanensis*. *Phytochemistry*. 29:2953-2956.
- Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). *Trichillia havanensis*. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia>.
- Calderón R. y Germán T. (1993). Flora del bajo y de regiones adyacentes. Meliaceae. Fascículo 11. Trabajo realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, el Centro de Investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán y el Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro. D. F., México. 22 p.
- Champagne D., Koul O., Isman M., Scuder G., Towers G. (1992). Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry*. 31(2):377-394.
- CONABIO. (2006). Capital natural y bienestar social. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. p. 17.
- Dayan F.E., Cantrell C.L., Duke S.O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 17:4022-4034.
- FAOSTAT. (2009). Dirección de Estadística. Consumo mundial de productos botánicos y biológicos 2009. Base de datos de FAOSTAT <http://www.faostat.fao.org>. Consultado noviembre 2011.
- Fernández-Nava R., Rodríguez J., Arreguín S., Rodríguez J. (1998). Listado florístico de la Cuenca del Río Balsas, México. *Polibotánica*. 9:1-151.

- Figueroa B. (2011). Incidencia del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* Smith en Ocoyucan, Puebla y actividad bioinsecticida de semillas de *Carica papaya* L. y *Trichilia havanensis* Jacq. Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduado, Puebla, Puebla. 195 p.
- Hernández-Carlos B., González-Coloma A., Orozco-Valencia Á., Ramírez-Mares M., Andrés-Yeves M., Joseph-Nathan P. (2011). Bioactive saponins from *Microsechium helleri* and *Sicyos bulbosus*. *Phytochemistry*. 72(8):745-751.
- Lagunes T. (1993). Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de Posgraduados-CONACYT. Montecillos, México.
- Lira S.R. (2001). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Curcubitaceae. Unidad de Biotecnología y Prototipos, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. Fascículo 92. 120 pp.
- Lira R. y Caballero J. (2002). Ethnobotany of the wild Mexican cucurbitaceae. *Economic botany*. 56:380-398.
- López-Olguín J.F. y Aragón A. (1990). Pruebas de campo con polvos vegetales para el combate de "gallina ciega" (*Phyllophaga* spp.) y "gusano cogollero" (*Spodoptera frugiperda*) en la Sierra Norte de Puebla. En: II Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Compendio. Oaxaca, Oaxaca, México. pp 74-87.
- López-Olguín J.F. (1994). Investigación Agrícola en una zona marginada del estado de Puebla. *Elementos*. 3(20):26-32.
- López-Olguín J.F., Budia F., Castañera P., Viñuela E. (1997). Actividad de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*. 23(1):3-10.
- López-Olguín J.F., De la Torre M.C., Viñuela E., Castañera P. (1998). Actividad de los extractos de semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. sobre larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*. 24:629-636.
- López-Olguín J. (1998). Actividad de productos de *Trichilia havanensis* (Jacq.) y *Scutellaria alpina* subesp. *javallambrensis* (Pau), sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) y *Spodoptera exigua* (Hübner). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 137 p.
- López-Olguín J., Adán A., Ould-Abdallahi E., Budia F., Del Estal P., Viñuela E. (2002). Actividad de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) en la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*. 28(2):299-306.

- Magaña P., Villaseñor J. (2002). La flora de México, ¿se podrá conocer completamente? Del herbario, *Ciencias* 66:1-3.
- Mordue A.J., y Nisbet A. (2000). Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: it's Action Against Insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 29(4):615-632.
- Raguraman S. y Singh R.P. (2000). Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed oil on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonia*. *Journal of Economic Entomology*. 92:1274-1280.
- Rodríguez H.C. (2006). Plantas Contra Plagas 1. Potencial Práctico de Ajo, Anona, Nim, Chile y Tabaco. Ed. 30 Colegio de Post Graduados Red de Acción sobre plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM) y Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL). Texcoco, Edo. de México, México.
- Silva A.G., Lagunes T., Rodríguez M., Rodríguez L. (2002). Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. Costa Rica. 66:4-12.
- Simmonds M.S.J., Manlove J.D., Blaney W.M., Khambay B.P.S. (2000). Effect of botanical insecticides on the foraging and feeding behaviour of the coccinellid predator *Cryptolaemus montrouzieri*. *Phytoparasitica* 28:99-107.
- Taylor D. (1981). Chemotaxonomy: The occurrence of limonoids in the Meliaceae. *En: Flora Neotropica. Monograph 28*, Pegniton T.D., The Newyork Botanical Garden, N. Y. pp. 450-459.
- Vilavicencio-Nieto M., Pérez-Escandón B., Gordillo-Martínez A. (2010). Plantas tradicionales usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*. 30:193-238.

LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO
ASPECTOS GENERALES,
TOXICOLÓGICOS Y AMBIENTALES

se terminó de imprimir en el mes de mayo de 2014,
en los talleres de Dicograf, S.A. de C.V.
Poder Legislativo 304, Cuernavaca, Morelos.
La edición consta de 450 ejemplares
para su composición se utilizó el tipo Book Antiqua.

El uso de plaguicidas es importante por los beneficios que se obtienen de ellos, especialmente relacionados con la necesidad de satisfacer la demanda de alimentos para los más de siete mil millones de habitantes del planeta. No obstante, es necesario establecer un punto de equilibrio entre sus beneficios y sus riesgos, de manera que se sustenten las condiciones más idóneas posibles para promover la salud pública y la protección del ambiente.

La aplicación generalizada de plaguicidas para controlar las plagas y proteger los cultivos, se ha asociado ampliamente con la contaminación del agua, suelo y alimentos; de esta manera, las altas concentraciones detectadas en muestras biológicas y ambientales son evidencia del uso de diversos compuestos químicos. Por otro lado, los residuos líquidos y sólidos y los productos caducos, almacenados o dispuestos de forma inadecuada, han propiciado la aparición de importantes cantidades de pasivos ambientales que, en la mayoría de los casos, no se registran de manera oficial.

En este contexto surge este libro, que proporciona las experiencias de diversos grupos de científicos que abordan desde diferentes perspectivas la situación de los plaguicidas en México. La obra incluye los aspectos generales de los plaguicidas, su relación con la salud (toxicología y ecotoxicología), sus impactos en el ambiente, el desarrollo de tecnologías para su tratamiento y disposición final y el desarrollo de bioplaguicidas como alternativa frente a los químicos tradicionales.