

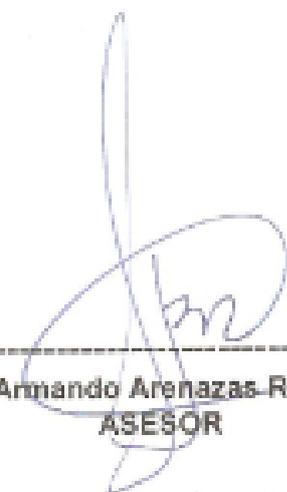
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN DE AREQUIPA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGIA



**EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE CARBOFURANO
EN LA HISTOLOGIA TESTICULAR DE *Rattus norvegicus* VARIEDAD
SPRAGUE DAWLEY**

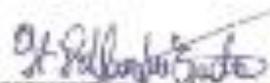
Tesis presentada por la bachiller:
LUZMILA TERESA HUAYHUA CHACÓN
Para optar el Título Profesional de Biólogo

Arequipa-Perú
2016



Blgo. Armando Arenazas-Rodríguez
ASESOR

JURADOS



Dr. Graciano Del Carpio Tejada
PRESIDENTE



Blgo. Rommel Paredes Fuentes
SECRETARIO



Blgo. Armando Arenazas Rodríguez
INTEGRANTE

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi amado hijo Fernando por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día mas y así poder luchar para que la vida nos dépare un futuro mejor.

A mis queridos padres y a todos mis hermanos por su apoyo.

A la memoria de mi hermano German que desde el cielo siempre me cuida y me guía para que todo salga bien.

AGRADECIMIENTOS

A Dios creador de la vida por permitirnos estar con nuestros seres queridos y avanzar siempre adelante, hacia nuevos rumbos.

Al Señor Blgo. Armando Arenazas Rodríguez por su valiosa colaboración durante la ejecución del trabajo realizado, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento.

INDICE

Resumen	
Introducción	
Objetivos	

CAPITULO I MARCO TEORICO

1.1. Antecedentes	01
1.2. Plaguicidas	07
1.2.1. Etiopatogenia	08
1.3. Plaguicidas Orgánicos	08
1.4. Compuestos organofosforados	09
1.4.1. Derivados del ácido carbámico, tiocarbámico y ditiocarbámico	10
1.4.2. Derivados de la urea y de la tiourea	11
1.5. Compuestos heterocíclicos	11
1.6. Métodos de aplicación de plaguicidas	12
1.7. Industria de plaguicidas	15
1.8. Ventajas y desventajas del uso de los plaguicidas	17
1.9. Toxicidad a Oganofosforados y Organoclorados.	19
1.10. Plaguicidas en el suelo	20
1.11. Adsorción de plaguicidas	22
1.11.1. Efectos	23
1.12. Insecticidas	24
1.12.1. Mecanismos de Acción	25
1.13. Carbofurano	26
1.13.1. Usos	27
1.13.2. Persistencia	27
1.13.3. Efectos en la Salud	28
1.13.4. Toxicidad crónica	29
1.13.5. Destino en el ambiente	29
1.14. Testículo	30
1.14.1. Histología	30
1.14.2. Túbulos Seminíferos	31
1.14.3. Espermatogénesis	33
1.14.4. Tejido Intersticial	35

CAPITULO II
MATERIAL Y METODOS

2.1. Lugar y Fecha de Ejecución	37
2.2. Animales de experimentación	37
2.3. Tipo de estudio	37
2.4. Protocolo	37
2.5. Variables	38
2.6. Diseño Experimental	38
2.7. Obtención de láminas histológicas permanentes	39
2.8. Diagnostico Histopatológico	42
2.9. Diseño Estadístico	42

CAPITULO III
RESULTADOS

3.1. Efecto del Carbofurano en el diámetro del túbulo seminífero	43
3.2. Efecto del Carbofurano en la altura del epitelio seminífero	44
3.3. Estructura histológica de Testículo Grupo 1 Control	45
3.4. Efecto del Carbofurano en la altura del túbulo seminífero Grupo 2	46
3.5. Efecto del Carbofurano: altura y diámetro del túbulo seminífero Grupo 3	47
3.6. Efecto del Carbofurano: altura y diámetro del túbulo seminífero Grupo 3	48
DISCUSION	49
CONCLUSIONES	53
RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFIA	55

RESUMEN

Se evaluó el efecto provocado por el insecticida Carbofurano en la histología testicular de *Rattus norvegicus* variedad Sprague Dawley. La evaluación experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biología del Departamento Académico de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa de enero a marzo del 2016. Se utilizaron 20 ratas (machos) de 200 a 300 gramos de peso corporal y de 5 meses de edad, asignados en 4 grupos: Grupo 1 control, Grupo 2 con una dosis de 0.025 mg/Kg/día de Carbofurano, grupo 3 con una dosis de 0,05 mg/Kg/día de Carbofurano, y Grupo 4, con una dosis de 0,1 mg/Kg/día de Carbofurano.

El agente químico fue administrado por vía oral usando jeringas de 1 mL provistas de una cánula de intubación oro-esofágica por 28 días. Al finalizar la administración de las diferentes dosis, los animales de experimentación fueron éticamente eutanizados y se extrajeron los testículos, para su posterior procesamiento a través de la técnica histológica de rutina y obtener láminas histológicas permanentes para su descripción y comparación.

Se determinó que el Carbofurano administrado en dosis de 0,05 y 0,1 mg/kg/día, provocó disminución significativa en el diámetro y altura del epitelio seminífero con respecto al Grupo control de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley. La dosis de 0,1 mg/kg/día de Carbofurano provocó alteraciones histológicas como desorganización del epitelio seminífero así como congestión vascular y edema.

INTRODUCCION

El carbofurano o carbofurán es un plaguicida sistémico utilizado como insecticida, acaricida y nematocida de amplio espectro, que pertenece al grupo químico de los carbamatos (N-methyl). Conjuntamente con los insecticidas organofosforados, los compuestos piretroides y otros carbamatos, el carbofurano integra un grupo sustituto de insecticidas persistentes como el DDT, clordano y heptacloro. Su nombre químico (IUPAC) es 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il metilcarbamato y su fórmula química: $C_{12}H_{15}NO_3$. Se identifica por el número CAS 15-63-66-2. El carbofurano comenzó a ser elaborado en 1969 por la Corporación FMC, en Estados Unidos.

Los seres humanos pueden absorber el carbofurano por inhalación, por ingestión, por la piel y a través de los ojos. La Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos destaca el peligro de intoxicación aguda que presenta este plaguicida a las personas expuestas a su acción. Señala que, como es altamente tóxico, la exposición a las más pequeñas cantidades de esta sustancia química genera un riesgo importante. Por eso, considera que el riesgo de residuos de Carbofurano en los alimentos es preocupante para todos los subgrupos de la población, especialmente para los niños de entre 1 y 2 años de edad.

La exposición a través del agua potable es un riesgo adicional para los consumidores de fuentes específicas y vulnerables, en especial las asociadas a determinados tipos de suelo y modos de uso del plaguicida. Asimismo, la Agencia de Protección del Medio Ambiente advierte que también son preocupantes los riesgos ocupacionales, aun cuando se adopten medidas estrictas de protección. Las preocupaciones expresadas se fundamentan en incidentes de envenenamiento humano asociadas a exposición ocupacional a este agrotóxico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica al carbofurano en el grupo identificado como 1b, lo que significa "altamente peligroso". Sin embargo, en el caso de ingestión en forma directa o de residuos existentes en alimentos, es "extremadamente tóxico". Este plaguicida puede producir irritaciones en la piel y, según la vía por la cual ingresa en el organismo humano, afecta el sistema respiratorio (asfixia), el aparato digestivo (náuseas, vómitos, salivación, sudor frío,

dolor abdominal, diarrea) y ojos (lagrimeo, visión doble, miosis o contracción de la pupila. A niveles más altos de exposición puede causar espasmos musculares, pérdida de coordinación y paro respiratorio. Los problemas respiratorios son característicos del edema pulmonar, síntoma habitualmente de envenenamiento grave por Carbofurano.

Las empresas distribuidoras advierten que las personas con bajo nivel de colinesterasa basal o afecciones hepáticas pueden agravar su estado con la exposición a este plaguicida. Por otra parte, diversos estudios han aportado evidencia sobre la toxicidad del Carbofurano en mamíferos de ensayo expuestos oralmente.

También se ha verificado dicha toxicidad en la exposición humana. En un estudio de dos años de duración con ratas macho y hembra expuestas a este plaguicida a través de su dieta se pudo advertir la inhibición de colinesterasa en plasma, eritrocitos y cerebro.

Por todo lo anteriormente expuesto es necesario comprobar el efecto de este insecticida sobre el desarrollo normal de los gametos sexuales masculinos y femeninos en la estructura histológica de testículo y ovario.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del Carbofurano sobre la histología testicular de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley a dosis de 0,025; 0.05 y 0,1 mg/kg/día,

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del Carbofurano sobre el diámetro del túbulo seminífero de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley a dosis de 0,025; 0.05 y 0,1 mg/kg/día,
- Determinar el efecto del Carbofurano sobre la altura del epitelio seminífero de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley, a dosis de 0,025; 0.05 y 0,1 mg/kg/día.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1. ANTECEDENTES

Está bien documentado que los pesticidas agrícolas causan un gran número de intoxicaciones accidentales en diferentes especies. En la literatura se ha descrito que los animales salvajes se ven particularmente afectados por la exposición accidental de pesticidas. Sin embargo, la situación es aún peor cuando los pesticidas se utilizan intencionadamente para matar a los animales, principalmente a través de la utilización de cebos envenenados.

Se ha estimado que los pesticidas se utilizan ilegalmente en hasta el 68% de todos los casos de envenenamiento de animales. Los estudios epidemiológicos revelaron que los pesticidas representan aproximadamente el 52,5% de las intoxicaciones de aves y que los plaguicidas son una causa importante de muertes de mamíferos silvestres. Debido a su alta toxicidad, varias restricciones se han aplicado a muchos compuestos que están prohibidos o rigurosamente restringidos actualmente en la Unión Europea.

De los 14 pesticidas detectados e investigados, curiosamente 4 productos fueron prohibidos en la Unión Europea, incluyendo el Aldicarb, Carbofurano, Diazinón, y Fentión. Carbofurano y Aldicarb fueron responsables de la muerte de aproximadamente el 75% de los animales de los casos positivamente identificados.

El Carbofurano es soluble en agua, tiene una vida media en el suelo de aproximadamente 3 - 60 días y por lo tanto se espera que tenga un alto potencial de contaminación del agua subterránea.

Los plaguicidas son ampliamente empleados en actividades agrícolas para la protección de cultivos. Inevitablemente, estos agroquímicos entran en los compartimentos ambientales debido a la difusión o contaminación de fuentes puntuales. Este último está vinculado a un mal manejo de los residuos de equipos

usados en la aplicación y su limpieza, práctica que se considera como actividad crítica en términos de riesgo de contaminación ambiental.

Muchos insecticidas tienen diferentes efectos tóxicos inmediatos en animales y seres humanos; y otros se concentran en la cadena alimentaria. El grupo de insecticidas de Carbamatos son tóxicos y tienen mecanismos similares a los organofosforados, pero los primeros tienen una duración y acción mucho más corta y por lo tanto son menos tóxicos. También se ha demostrado que los Carbofuranos poseen toxicidad para la reproducción en ratones hembra con efectos adversos en ciclo estral y folicular ⁽⁵⁾.

Goad et al., (2004), en su experimentación con dosis (2 veces por semana) de 1 a 5 mg/kg de peso de Carbofurano, demostró que los niveles de progesterona, cortisol, estradiol y aumentaron significativamente (1,279%, 202% y 150%, respectivamente), mientras que los niveles de testosterona disminuyeron en 88%. Ningún cambio significativo se produjo en las hormonas tiroideas (T3, T4 total y T4 libre) durante el transcurso del tiempo de experimentación (5 semanas), a pesar de que la temperatura corporal fue significativamente más baja en 1 a 2 horas después de la inyección de Carbofurano. Carbofurano causó un aumento en más de 2 veces en glucosa durante las primeras horas de la toxicidad.

Se investigó el impacto de Carbofurano, un plaguicida Carbamato en la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa (AChE) en las larvas del nematodo parásito del Arenque; *Anisakis simplex*. Larvas de *A. simplex* obtenidas del pez Arenque fueron expuestas a Carbofurano in vivo a concentraciones de 50, 100, 500 y 1000 ug/l, para 24, 48 y 72 h, a una temperatura de 4 °C. Se aplicaron modelos lineales generalizados para analizar la relación entre la actividad de la acetilcolinesterasa y la concentración de Carbofurano, el tiempo de exposición y los parámetros biológicos del anfitrión. Los resultados indican que las larvas de *A. simplex* tienen un alto umbral de sensibilidad a Carbofurano. La actividad enzimática promedio fue mayor en los parásitos obtenidos a partir de anfitriones de sexo masculino, en comparación con los anfitriones femeninos. Estos datos sugieren que los procesos biológicos anfitrión sexo-dependientes también pueden influir en la actividad enzimática de acetilcolinesterasa en los parásitos.

Se estudió la toxicidad Carbofurano en ratas durante la exposición subcrónica. Las ratas hembras y machos se les administró Carbofurano en el agua potable en concentraciones de 25, 100 y 400 ppm para un período de 90 días. Se evaluaron los síntomas clínicos, consumo de agua, el aumento de peso corporal, peso de los órganos, así como los cambios patológicos e histopatológicos en el hígado y los riñones determinaciones a través de exámenes bioquímicos y hematológicos.

Los resultados obtenidos muestran que Carbofurano administrado a ratas causó una disminución significativa en el consumo de agua, así como en las actividades cerebrales, suero y la colinesterasa eritrocitaria. Aumentos estadísticamente significativos en relación con el control se encontraron en las actividades enzimáticas en suero.

Los datos hematológicos demostraron que Carbofurano no tuvo efecto significativo sobre la concentración total de Hemoglobina y glóbulos blancos, pero el total de glóbulos rojos mostro una disminución estadística significativa. Se observaron los cambios histopatológicos en el hígado y los riñones. Sin embargo, la regeneración celular en el hígado y los riñones se encontró en todos los grupos de prueba.

Carbofurano, al igual que otros insecticidas Carbamatos, provoca toxicidad por la inhibición de la acetilcolinesterasa en las sinapsis y las uniones neuromusculares. La actividad de la acetilcolinesterasa reducida, como una diana enzimática, puede servir como un indicador de la exposición excesiva a los efectos de estos agentes. El efecto inhibitor de la acetilcolinesterasa, por tanto, ha sido investigado a fondo y muchos datos sobre este tema están disponibles. Lo que es común para la mayoría de estas investigaciones es que incluso después de la desaparición de los signos evidentes de intoxicación, la actividad enzimática continuó disminuyendo. La disminución varió de 50 a 90% y se correlacionó con la sustancia y la dosis aplicada ⁽⁷⁾.

De acuerdo con datos de la literatura sobre los efectos subagudos de Carbofurano en ratas, la disminución de la actividad acetilcolinesterasa fue de 52% en los animales tratados, en comparación con el control. Se observó una disminución moderada de la actividad de la Colinesterasa del plasma y los eritrocitos en experimentos crónicos (2 años) probando el nivel de dosis de 100 mg/L, mientras

que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas a una dosis de 20 mg/L en relación con el control.

Se atribuye un aumento en la actividad de las transaminasas de suero a una fuga de enzima a partir de tejido con el suero, lo que probablemente se produce como resultado de la reducción de los niveles considerablemente de fosfatos de alta energía (ATP y ADP) y la Fosfocreatina, que son indispensables para el mantenimiento de la permeabilidad, la integridad y otras características importantes de las membranas celulares (estabilidad, características electrofisiológicas) ⁽²⁷⁾.

Los datos histopatológicos, no siempre corresponden a los cambios bioquímicos, estos cambios pueden ser asumidos por tener poca importancia biológica y el riesgo ambiental de Carbofurano consiguiente puede considerarse mínimo. Sin embargo, estos hallazgos son importantes en la medida en que la misma presencia de efectos tóxicos sugiere precaución y la necesidad de una mayor investigación de los efectos de Carbofurano en algunos otros parámetros significativos posiblemente en la evaluación del riesgo para los humanos y el medio ambiente.

Las bajas concentraciones de organofosforados y Carbamatos pueden inhibir la acetilcolinesterasa, lo que lleva a la acumulación del neurotransmisor acetilcolina en el espacio sináptico de las sinapsis colinérgicas y las uniones neuromusculares, efecto que se ha convertido en un biomarcador clásico de la exposición a estos productos químicos. Sin embargo, se carece de información con respecto a si la exposición de este biomarcador puede ser usado para predecir en última instancia problemas ambientales.

Carbofurano es conocido por inhibir el sistema de neurotransmisión en insectos. Se realizó el presente estudio para evaluar el posible efecto de mejora de la curcumina en las alteraciones inducidas por Carbofurano en el metabolismo energético en el cerebro y el hígado de las ratas. Los resultados demuestran que Carbofurano causó una inhibición significativa en la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) en el hígado de rata, pero un aumento en la actividad de

LDH en el cerebro. Aumento de la actividad LDH se observó también en el suero que puede dañar órganos en animales tratados.

Carbofurano provocó un aumento en el nivel de ácido pirúvico en hígado de rata, pero una disminución en el cerebro. Una disminución en el nivel de proteína soluble se observó también en los tejidos estudiados.

Los resultados del presente estudio muestran los efectos tóxicos de Carbofurano en el cerebro, el hígado y el suero de las ratas. Carbofurano también causó alteraciones significativas en las concentraciones de ácido pirúvico en el cerebro y el hígado de ratas tratadas

Se ha demostrado que el Carbofurano es un potente agente genotóxico en varios estudios. El uso de cultivo de linfocitos de muestras de sangre periférica humana, se informó que Carbofurano es genotóxico en condiciones in vitro. Gentil et al. (1982) describieron que Carbofurano es responsable de la síntesis no programada de ADN en fibroblastos pulmonares humanos. Se encontró que el potencial mutagénico de Carbofurano era positivo en *Salmonella typhimurium*.

La evaluación cuantitativa de las células que contienen micronúcleos sirve como un buen indicador para la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas. Electroforesis en gel de células individuales, más comúnmente conocido como ensayo cometa, es un método simple, sensible y rápido para la detección y cuantificación del daño del ADN por roturas de la cadena, la reparación de sitios abiertos, enlaces cruzados y el sitio lábil a nivel de célula individual. Aunque la incidencia de cáncer intestinal es generalmente baja en los seres humanos y no se tiene ningún informe sobre los efectos perjudiciales inducidos por Carbofurano sobre el mecanismo de ADN, pero los efectos genotóxicos de Carbofurano como se ve en intestino de rata en este estudio, puede resultar en la muerte celular como consecuencia de la apoptosis. Hemos informado anteriormente interrupción de las vellosidades intestinales en ratas expuestas a Carbofuran durante 30 días.

Kamboj et al. (2006), informan de un aumento del estrés oxidativo después de la exposición Carbofurano en diferentes regiones del cerebro de la rata. Milatovic et al. (2005), también han demostrado que el tratamiento con Carbofurano produce

estrés oxidativo debido a un aumento marcado en las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, en los músculos esqueléticos. El daño al ADN celular por peroxidación de grasas juega un papel importante en la lesión celular y las funciones celulares alteradas, lo que conlleva a la apoptosis celular.

Eritrocitos sirven como el principal vehículo para el transporte efectivo de oxígeno y dióxido de carbono entre los pulmones y los tejidos. Los eritrocitos son propensos a estrés oxidativo, ya que están expuestos a alta tensión de oxígeno y ácidos grasos poliinsaturados en la membrana y el hierro unido a la hemoglobina

Se conoce que varios insecticidas se unen a las fracciones de proteína plasmática en humanos y perturban las funciones bioquímicas y fisiológicas dentro de eritrocitos y afectando a la integridad de membrana ⁽¹⁶⁾.

Carbofurano es de naturaleza lipófila y su exposición crónica es responsable de lesiones oxidativas que conducen a perturbaciones en la estructura y funciones de la membrana ⁽³⁰⁾.

Los Carbofuranos están relacionados con la inducción de aberraciones cromosómicas, la formación de micronúcleos y anomalías del espermatozoide en el ratón. Debido a su amplio uso en la agricultura y la relativamente buena solubilidad en agua, Carbofurano puede contaminar las aguas superficiales y subterráneas y por lo tanto conlleva un riesgo para varios consumidores, así como el ambiente. Los datos disponibles muestran que el Carbofurano se ha detectado con frecuencia como contaminante del agua subterránea en América, así como en Europa y Asia durante las últimas dos décadas ⁽¹²⁾.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) establece el nivel máximo de contaminante (MCL) para el Carbofurano en el agua potable a 40 ug / L. La Unión Europea ha establecido una concentración máxima admisible de 0,5 ug / L, para la suma de todos los plaguicidas y 0.1ug / L para un compuesto individual en agua de consumo.

Este desbalance ocurre cuando la concentración de antioxidantes disminuye en el organismo, producto de una alteración funcional de las enzimas involucradas en la

respuesta antioxidante o de un estado de malnutrición como las hipovitaminosis, pero también por el incremento en la producción de prooxidantes, compuestos químicos capaces de generar *Especies Reactivas del Oxígeno (ERO)*, posterior a la ingestión de pesticidas, insecticidas o algunos tipos de fármacos, entre otros ⁽⁶⁾.

1.2. PLAGUICIDAS ^(28, 39, 40)

Los plaguicidas son compuestos químicos que sirven para combatir los parásitos de los cultivos, del ganado, de los animales domésticos y del hombre y su ambiente. De acuerdo con su actividad biológica pueden clasificarse en insecticidas, fungicidas, herbicidas y rodenticidas según que su toxicidad sea para insectos, hongos, malas hierbas o roedores. También existen los atrayentes, repelentes y esterilizantes de insectos que coadyuvan a su destrucción por medio de estas acciones. Según su naturaleza química, en principio, pueden clasificarse en inorgánicos y orgánicos.

Los primeros no plantean, en general, una problemática importante desde el punto de vista de su toxicidad y evolución en el suelo. Por el contrario en lo que se refiere a los orgánicos, se ha ido desarrollando una amplia gama de productos que plantea problemas de evolución en el complejo sistema del suelo. Para que un plaguicida alcance un amplio uso en la práctica agrícola, debe reunir determinadas condiciones básicas como: Efectividad: debe ser efectivo en la destrucción de la plaga contra la que actúa. Selectividad: debe combatir únicamente los organismos dañinos sin perjudicar a la flora o a la fauna beneficiosa. Economía: la utilización de un plaguicida debe producir unos beneficios que superen el gasto que supone su utilización. Seguridad: no debe ser tóxico para las plantas útiles al hombre ni constituirse en un peligro para la salud del hombre ni de los animales domésticos. Estabilidad: debe conservar su capacidad de acción durante un tiempo suficiente.

Posibilidad de formulación: debe ser compatible con algunos de los posibles soportes y diluyentes, dando lugar a formulaciones estables y efectivas. A pesar de estas condiciones, muchos de los compuestos que se han utilizado como plaguicidas han sido tan estables que han originado una gran contaminación ambiental, al quedar sus residuos ampliamente distribuidos en cosechas, suelo, agua y aire en y cerca de los lugares de su uso. Debido a esto, y teniendo en cuenta la toxicidad relativamente elevada de alguno de

ellos, es de gran importancia el estudio de la persistencia e interacción de estos compuestos con el ambiente, con el fin de conocer el problema y poder emplear medios para reducirlo. Esto permitiría, además, usarlos adecuadamente obteniendo de ellos el máximo beneficio con el mínimo riesgo

1.2.1. Etiopatogenia:

El mecanismo etiopatogénico de los plaguicidas no puede ser considerado de una manera global, ya que la toxicocinética de cada compuesto varía sustancialmente respecto a los restantes. Exponer aquí estos mecanismos nos supondría aumentar considerablemente el contenido de esta ponencia y no es ese el propósito de la misma, aunque sí conviene significar que un gran grupo de estas familias químicas, aunque con mecanismo etiopatogénico distinto, tienen gran afinidad por el sistema nervioso central y por el sistema nervioso periférico (organoclorados, organofosforados, carbamatos, bupiridilos, clorofenoles y fenoxiácidos). Algunos tienen especial apetencia por el hígado (bupiridilos, carba matos y fenoxiácidos), otros son especialmente alergizantes (piretrinas), así como algunos otros pueden afectar a funciones específicas de las provitaminas y alterar el funcionamiento adrenal (triazinas). En base a estos distintos mecanismos, y cuando se usan simultáneamente varios plaguicidas, podemos encontrarnos ante cuadros clínicos tremendamente inespecíficos: cefaleas, anorexia, nerviosismo, insomnio, alteraciones digestivas, prurito, alteraciones respiratorias y de las mucosas y finalmente con alteraciones de la visión. Es por todo ello y en base al grado de utilización de productos que nos confirman la gran exposición a compuestos organofosforados (alrededor del 80% con respecto a las demás familias), por lo que vamos a exponer solamente el mecanismo etiopatogénico de estos Organofosforados (OP).

1.3. PLAGUICIDAS ORGÁNICOS ⁽³²⁾

Son compuestos orgánicos que contienen generalmente átomos de cloro en su molécula, y que poseen una alta toxicidad para los insectos. Dentro de este grupo de compuestos el DDT sintetizado en 1874 por Zeidler, quien descubrió sus propiedades físico-químicas, tiene una gran importancia en la historia de los insecticidas. Sin embargo, sus propiedades insecticidas no fueron descubiertas hasta 1940 por Müller comenzando a desarrollarse su utilización para usos agrícolas después de la II Guerra Mundial. Actualmente su

acumulación en el medio ambiente y en los seres vivos ha dado lugar a restricciones en su uso por parte de algunos países.

Fórmula química del DDT Dentro de estos compuestos podemos distinguir tres grupos:

- a) Derivados halógenos de hidrocarburos alifáticos que son utilizados principalmente como fumigantes: metilbromuro, 1, 2-dicloropropano, etc.
- b) Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos con importancia práctica como insecticidas y fungicidas: HCH, toxafenol, clordano, heptacloro, aldrín, dieldrín, endrín, etc.
- c) Derivados halogenados aromáticos: Tienen propiedades insecticidas, acaricidas, herbicidas y fungicidas dependiendo de la naturaleza del átomo de halógeno, del número de ellos en la molécula de benceno y de su posición en el anillo: DDT, DDD, metoxiclor, hexaclorobenceno, etc. Estos compuestos actúan sobre el sistema nervioso de los insectos, aunque no se conoce bien si el mecanismo de acción es por contacto o por ingestión.

1.4. COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS ⁽³⁹⁾

Estos compuestos son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico y fosfínico. Tienen su origen en las investigaciones que se realizaron en la II Guerra Mundial sobre los gases neurotóxicos.

El descubrimiento de sus propiedades insecticidas se debe a Schader, siendo el tetrafosfato de hexaetilo el primero de estos compuestos con aplicación comercial y que es, en realidad, una mezcla cuyo componente más activo es el pirofosfato de teraetilo (TEPP) posteriormente, este mismo científico desarrolló el paratión, que la empresa Bayer empezó a comercializar en 1944.

La mayor actividad de estos compuestos es insecticida, aunque algunos de ellos presentan actividad nematocida, fungicida y herbicida. Estos compuestos se caracterizan por tener un espectro de acción más estrecho que el de los organoclorados, con lo que se reduce la destrucción de otros insectos que

pueden ser beneficiosos. Otras características son su baja persistencia y fácil descomposición a productos no tóxicos, baja dosis de compuesto por área tratada, metabolismo relativamente rápido en organismos vertebrados y ausencia de acumulación en los mismos, todo lo cual los hace preferibles a los organoclorados.

Sin embargo, una desventaja de estos compuestos es su toxicidad, relativamente alta para los vertebrados y seres humanos, que obliga a una manipulación más cuidadosa y su persistencia, no tan corta como se creyó en principio, sobre todo en determinados tipos de suelos. Algunos de estos compuestos actúan como insecticidas sistémicos, es decir, que son absorbidos por las hojas y parte aérea de la planta, aunque el órgano más común de absorción es la raíz, quedando la planta con niveles tóxicos para determinados parásitos.

Entre los compuestos organofosforados utilizados pueden considerarse, además del paratión y el metilparatión, otros como malatión, dimetoato, monocrotofos, diazinón, azinfosmetil, disulfotón, forato, etión, etc. La toxicidad y la acción insecticida de estos compuestos son atribuidas a la inhibición de la actividad acetilcolinesterasa, enzima que se encuentra en las células nerviosas de los insectos y cuya desactivación paraliza su sistema nervioso.

Los insecticidas Organofosforados, por la acción del agua (hidrólisis) se destruyen, por lo que no son persistentes en el medio ambiente, no dejando residuos evidentes ni de larga duración. Por este motivo los Tiempos de Carencia de los Organofosforados suelen ser más cortos que los Organoclorados. Son neurotóxicos que actúan inhibiendo la enzima colinesterasa. Existen diversos modos de acción, por contacto o sistémicos, siendo absorbido por las plantas, traslocándose y actuando cuando el insecto ataca ingiriendo la planta.

1.4.1. Derivados del ácido carbámico, tiocarbámico y ditiocarbámico ⁽³²⁾

Los insecticidas a base de carbamatos fueron desarrollados por la firma Geigy a finales de los años 40 e introducidos por primera vez en Europa en 1953 con el isolán. En Estados Unidos el primer insecticida utilizado en gran escala y todavía en uso fue el carbaril, introducido en 1958 por la Unión Carbide bajo la denominación comercial de sevin, producto de gran actividad y amplio espectro

de acción, siendo además barato, estable y relativamente poco tóxico. Los carbamatos pueden tener propiedades insecticidas y herbicidas.

En el primer caso la máxima actividad corresponde a los derivados N-alquil-carbamato de alquilo o arilo y los N, N-dialquicarbamatos de hidroxiheterociclos. Entre estos compuestos tienen importancia práctica el aldicarb, bigón, pirolán y carbofuran. En cambio, los derivados N-arilcarbamatos tienen actividad herbicida, como el asulán, betanal y barbán, algunos de los cuales pueden ser sistémicos. Los derivados tio- y ditiocarbamatos, en general, tienen propiedades herbicidas, aunque alguno de ellos presenta también actividad fungicida. Entre estos compuestos se encuentran el molinato, vapán y vegadex.

Este grupo de plaguicidas presenta algunas ventajas frente a los compuestos organofosforados como son su eficacia contra insectos resistentes a estos últimos y su mayor seguridad de manejo, pero también presenta desventajas ya que son de producción más difícil, más caros y de mayor toxicidad frente a los insectos polinizadores. Su modo de acción es el mismo que el de los insecticidas organofosforados, es decir, inhiben la actividad de la acetilcolinesterasa.

1.4.2. Derivados de la urea y de la tiourea ⁽³²⁾

Estos compuestos presentan principalmente propiedades herbicidas que aumentan notablemente con la presencia de átomos de halógeno en la molécula destacando entre ellos fenurón, monurón, linurón y fluometurón. Se utilizan principalmente como esterilizantes, en terrenos donde se quiere evitar el crecimiento de todo tipo de plantas y en tratamientos de preemergencia. Actúan inhibiendo la reacción de Hill y por tanto impidiendo el proceso normal de fotosíntesis.

1.5. COMPUESTOS HETEROCÍCLICOS ⁽¹⁷⁾

Constituyen un grupo de compuestos con gran actividad sobre todo herbicida. Pueden ser heterocíclicos de 5 ó 6 átomos y con 1,2 ó 3 heteroátomos en el anillo siendo los más importantes las triazinas sustituidas. Presentan también interés algunos derivados de diazinas (piramín), de la piridina (piclorán) y del

triazol (aminotriazol). Fórmula general de triazinas La acción fundamental de estos compuestos como la de todos los herbicidas es el bloqueo de la fotosíntesis ya que a concentraciones muy bajas se reduce la fijación de CO₂ y se inhibe la síntesis de la glucosa.

1.6. MÉTODOS DE APLICACIÓN DE PLAGUICIDAS ⁽³⁾

Los principios activos donde radica la actividad valorable del plaguicida se obtienen en la industria química con un grado de pureza entre el 75 y el 90%. En general, estos principios constituyen sólo una pequeña proporción del producto final que se vende al agricultor, ya que la mayoría de las sustancias químicas plaguicidas logran su efecto en dosis muy pequeñas, que a veces representan unos pocos gramos de ingrediente activo por hectárea de cultivo.

Como no es posible medir correctamente y distribuir con uniformidad en el campo esas cantidades diminutas lo que se hace es acondicionar esos productos para su empleo en una formulación que pueda ser utilizada bien de forma directa o dispersada en el agua. La formulación contiene la materia activa o el producto técnicamente puro más o menos diluido en un soporte sólido o en un disolvente líquido y además sustancias auxiliares o coadyuvantes que son capaces de modificar ventajosamente las propiedades físicas, químicas y biológicas de los plaguicidas aumentando su eficacia.

Entre ellas se encuentran emulgentes, adherentes, fluidificantes y estabilizantes. La “materia activa”, en muchos casos, es idéntica al principio activo pero en otros lo contiene como un isómero o bien combinado en forma de óxidos, ésteres, sales u otros compuestos. El “producto técnico” es el producto obtenido en la síntesis industrial, que además de la sustancia química útil contiene una determinada proporción de otras sustancias próximas o relacionadas y, además, impurezas de fabricación.

Las diversas formas de aplicación de los plaguicidas requieren distintos tipos de formulaciones. Las más importantes son las siguientes: Polvos para espolvoreo y polvos humectables, productos finamente divididos constituidos

por el plaguicida mezclado con un material inerte. Los polvos humectables se mezclan, además, con sustancias mojantes que facilitan la suspensividad del producto en el agua, pulverizándose después esta suspensión acuosa. Granulados, productos preparados con materias inertes en forma de granos de pequeño tamaño que pueden aplicarse directamente al suelo. Líquidos para pulverizar o diluir, preparaciones en las que el plaguicida líquido está disuelto, generalmente, en un disolvente derivado del petróleo. Se aplican directamente o después de una simple dilución en un disolvente. Líquidos emulsionables, preparaciones en las que el plaguicida líquido está disuelto junto con los emulgentes que hacen posible la formación de una emulsión estable cuando se diluye o se agita en el agua.

Emulsiones, productos preparados en forma de emulsión que se aplican directamente previa su disolución en agua. Con el fin de obtener la máxima eficacia en la aplicación de un plaguicida, el producto deberá ser distribuido de forma uniforme en toda la parcela tratada, evitando que sus partículas se escapen por deriva a otros lugares que no se deseen tratar, bien sea, por deriva directa (componente horizontal del viento) o indirecta (viento o corrientes convectivas o térmicas ascendentes), o bien por evaporación y difusión.

La pérdida de producto fuera de la zona de tratamiento, supone, además de una menor eficacia y mayor gasto de producto, el riesgo de contaminación de zonas cercanas a las de tratamiento. Los factores que afectan a la distribución del producto pueden agruparse en tres grupos:

- a) **Factores meteorológicos:** el viento es la causa principal de la deriva directa. Su velocidad debe ser menor de 2 m/s en los espolvoreos y aplicaciones aéreas de productos líquidos atomizados (gotas cuyo diámetro es inferior a 0,1 mm) La temperatura es causa de la deriva indirecta como consecuencia del calentamiento desigual de las capas de aire que dan lugar a corrientes térmicas convectivas que producen ascensiones y turbulencias del aire. Estas hacen que las partículas asciendan a alturas desde las cuales pueden derivar a grandes distancias reduciendo su incidencia sobre el cultivo que se desea tratar. Este factor y la humedad del aire influyen también en la evaporación de las gotas y en la acción del producto aplicado.

- b) **Factores inherentes a las formulaciones y caldos:** cuando se trata de aplicaciones líquidas o espolvoreos el tamaño medio de la gota y la finura del polvo influyen en la cobertura y penetración del compuesto, así como en la deriva, siendo importante en ambos casos el peso específico. En las formulaciones sólidas el tamaño de los granulados o microgranulados influyen en la adherencia y en la uniformidad de la distribución.
- c) **Factores inherentes a los medios y equipo de aplicación:** en los medios de aplicación aéreos han de tenerse en cuenta las características especiales de los aparatos utilizados. En los aviones, los remolinos causados por la hélice y los extremos de las alas así como la altura del vuelo y la velocidad del aparato, influyen en la distribución del producto, siendo necesario optimizar la interrelación de los tres factores para obtener el mayor rendimiento. Aplicación aérea de plaguicidas, utilizada en el tratamiento de áreas extensas. En los tratamientos de aplicación terrestre, la altura a la que se aplica el producto en los cultivos es muy baja, por lo que si el viento no es muy fuerte la influencia de la deriva directa es escasa a no ser que se trabaje con polvo o con gotas muy finas. Debido al coste de los tratamientos químicos y a la posibilidad de producir efectos tóxicos, es muy importante que el equipo pulverizador esté en perfectas condiciones. La conclusión fue desalentadora ya que más del 75 % de los pulverizadores funcionaba con alguna deficiencia. Aspersión manual de plaguicida. Análisis de los fallos encontrados en un estudio sobre maquinaria de fumigación. Los equipos de aplicación regulan la salida del plaguicida y lo lanzan al aire directamente, desde donde se distribuye sobre los cultivos por deposición siendo las características de esta función directa del tipo de equipo utilizado.

El lanzamiento y arrastre del producto en las aplicaciones aéreas tiene lugar mediante una corriente de aire que se forma al paso del avión. En el caso de las aplicaciones terrestres de plaguicidas líquidos una bomba expulsa el producto al exterior del depósito y lo lanza al aire finamente dividido. Finalmente en los espolvoreos, un ventilador rotatorio lanza un chorro de aire que arrastra el polvo al exterior. Actualmente se utilizan

técnicas especiales antideriva que permiten minimizar los riesgos de contaminación y residuos causados por la deriva en sus distintas fases y que se basan en el control del producto a aplicar.

Este control puede conseguirse mediante la adición de productos especiales que inciden sobre el tamaño de las partículas y sobre su peso específico, o bien mediante la utilización de equipos especiales de aplicación que producen gotas gruesas y por tanto más pesadas. En consecuencia, para conseguir la máxima actividad y a su vez disminuir la contaminación que se puede originar en la aplicación de un plaguicida será conveniente utilizar formulaciones de productos biodegradables, de baja toxicidad, de características físicas adecuadas y a concentraciones lo más bajas posible, así como realizar las aplicaciones en condiciones atmosféricas correctas, utilizando los medios adecuados y de la forma más apropiada.

1.7. INDUSTRIA DE PLAGUICIDAS ⁽³⁾

Los productos con propiedades plaguicidas son compuestos químicos de estructuras moleculares complejas y biológicamente activos. Su proceso de comercialización es largo y costoso, ya que se requieren ensayos exhaustivos para examinar sus efectos no sólo en el organismo que se desea atacar y en la planta o animal hospedadores, sino también en otros organismos a los que se puede llegar, ya sea directamente o a través de la cadena alimenticia. Es necesario un gran esfuerzo para comprobar que su seguridad y eficacia son satisfactorias.

El estudio de una determinada sustancia como plaguicida se emprende si existe una base científica de que puede tener la actividad biológica deseable, bien por su semejanza estructural con un producto conocido o bien porque lo sugieran estudios fundamentales de la fisiología o bioquímica de la plaga. a partir de la obtención de un compuesto nuevo se inicia todo un proceso de ensayos hasta su comercialización.

Desde el punto de vista del fabricante deben satisfacerse dos criterios básicos: Actividad biológica adecuada comparada con las necesidades y con las

existencias de productos en el mercado y rentabilidad sobre la inversión. De acuerdo con esto se realizan inicialmente distintos tipos de ensayos:

- Ensayos en laboratorio que indican si el compuesto tiene cierta actividad biológica, aunque para tener un mejor conocimiento del potencial del producto es preciso realizar ensayos de campo en distintas regiones y climas representativos de las condiciones en las que se utilizará finalmente el producto. Estos ensayos de campo sirven, además, para estudiarlos efectos del producto mismo y de sus productos de descomposición en el suelo y en los tejidos vegetales y animales, así como para detectar los residuos que pudieran generar.
- Investigaciones toxicológicas, efectuadas principalmente con animales de laboratorio que tratan de determinar las dosis con las cuales se producen los efectos toxicológicos y la naturaleza de tales efectos. Los primeros estudios tienen como fin indicar el nivel al cual una sola dosis del ingrediente activo es tóxica para los mamíferos. En la etapa siguiente generalmente se observan los efectos de dosis repetidas en los estudios de largo plazo con el fin de comprobar, de acuerdo con las exigencias de los toxicólogos, que el nuevo compuesto no tiene otros efectos.
- Estudios sobre residuos que tratan de identificar la naturaleza de los compuestos químicos y los niveles de residuos de plaguicidas que quedan después de utilizar el producto, en el vegetal tratado y también en el suelo, agua y aire del lugar de aplicación con el fin de observar los efectos ambientales. Todos estos datos, que es necesario presentar a las autoridades gubernamentales para el registro de un nuevo producto, constituyen las bases de las decisiones sobre las precauciones de uso y la determinación de la aceptación toxicológica de los residuos que quedarán en el cultivo.

También sirven para advertir sobre posibles problemas ambientales y la necesidad de tomar medidas previas para evitarlos. Terminados los ensayos prácticos se procede a la fabricación del producto, determinando el mejor método para obtenerlo y estableciendo el

proceso químico más prometedor según la economía de los métodos. A partir de aquí, se procederá a la construcción de una nueva planta de manufactura de productos fitosanitarios. Antes de la comercialización del producto habrán transcurrido de 7 a 10 años, habiéndose realizado inversiones superiores a los 35 millones de dólares, por lo que no tendría sentido desarrollar un nuevo producto si no existiera un mercado para la venta del mismo. Por ello las funciones de investigación y de mercado colaboran coordinadamente, sobre todo en las primeras fases del desarrollo para que no se desperdicie la inversión. Los investigadores examinan las directrices de la política gubernamental en materia agrícola que le servirán de asesoramiento para encaminar sus esfuerzos en la dirección correcta

1.8. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LOS PLAGUICIDAS ^(3, 28, 32)

Según las estadísticas actuales de la FAO dos tercios de la Humanidad están subalimentados. Por consiguiente el aumento de la producción agrícola es una necesidad, siendo preciso ampliar las áreas cultivadas y el rendimiento de las explotaciones. La lucha contra las plagas es uno de los métodos más importantes para aumentar la productividad de las explotaciones agrícolas, ya que las pérdidas causadas por las plagas son muy elevadas.

Se ha calculado que alrededor de un tercio de la producción alimenticia del mundo se perdería si los agricultores no utilizaran productos químicos para contrarrestar el efecto de las plagas de los cultivos, de las enfermedades de las plantas y la competencia de las malas hierbas. Además de este aumento de los rendimientos, la disminución de las grandes fluctuaciones de las cosechas debidas a las plagas y el ahorro de mano de obra debido al uso de los plaguicidas tienen gran importancia económica. Tampoco conviene olvidar que los insectos parasitan el ganado, destruyen la madera y las plantas destinadas a usos industriales y transmiten enfermedades al hombre. Consecuencia de ello ha sido el rápido incremento de las ventas de productos agroquímicos a partir del desarrollo de la industria moderna en la década de los años 40 con un aumento aproximado del 10 % anual.

En 1981 las ventas en todo el mundo, incluyendo usos no agrícolas, ascendieron a 17.500 millones de dólares, de los cuales unos 14.000 millones

correspondieron a productos fitosanitarios. Dos tercios de estas ventas se realizaron en zonas de agricultura intensiva de Europa Occidental, Norteamérica y Japón. Sin embargo el uso de plaguicidas presenta varios inconvenientes que son necesarios tener en cuenta. Hay que considerar en primer lugar que los plaguicidas alteran el balance de la naturaleza desequilibrando los sistemas ecológicos. Este hecho tiene gran trascendencia, ya que, como es sabido, el suelo es un ecosistema francamente complejo, en el que coexisten multitud de poblaciones animales, vegetales y microbianas que mantienen entre sí y con el agua y los elementos minerales edáficos un equilibrio dinámico muy preciso.

La alteración de este equilibrio por la introducción de unos agentes químicos tan activos, como suelen ser los plaguicidas, producen una serie de fenómenos variados que probablemente afectan a muchos de los elementos biológicos del suelo. Al mismo tiempo, los insectos y algunos otros parásitos pueden desarrollar razas resistentes a los plaguicidas lo que hace necesario utilizar dosis mayores o productos de mayor efectividad.

La flora y la fauna también pueden ser afectadas por la aplicación de un plaguicida, en la zona donde se realiza el tratamiento o incluso en regiones más extensas. Los residuos de estos compuestos pueden llegar a zonas más lejanas del área de aplicación arrastrados por el viento, cursos de aguas continentales, corrientes marinas y a través de las cadenas biológicas. Si se tiene en cuenta que todos los plaguicidas son tóxicos en mayor o menor grado para el hombre, es necesario destacar también este aspecto estando su peligrosidad relacionada con:

- La manipulación de los compuestos
- La toxicidad residual en alimentos
- Su evolución en el suelo

El manejo de estos compuestos lleva consigo unos riesgos de intoxicación que deben ser tenidos en cuenta por las personas que los manipulan y aplican. La toxicidad se establece mediante ensayos en animales de experimentación y su expresión cuantitativa se representa mediante la dosis letal media DL50, que corresponde a la cantidad de plaguicida necesario para causar la muerte al 50% de los individuos que componen el lote de ensayo. La DL50 se representa en miligramos de plaguicida por kilogramo de peso de

animal tratado en el ensayo. Cuanto menor sea su valor, mayor será la toxicidad del compuesto.

1.9. TOXICIDAD A ORGANOFOSFORADOS Y ORGANOCLORADOS ^(13,24,32)

La toxicidad residual se refiere a los residuos en los alimentos y a la contaminación del medio biológico. La presencia de residuos de plaguicidas puede dar lugar a una intoxicación de los consumidores. Este hecho se evita estableciendo unas tolerancias de residuos en las que se especifica la cantidad máxima en mg. de plaguicida por Kg. de producto vegetal que puede admitirse en los alimentos en base a la toxicidad del producto activo y a la proporción del alimento en la dieta normal. Para evitar la presencia de un residuo superior al tolerable, se determinan los tiempos mínimos que deben transcurrir entre la aplicación del plaguicida y la recolección de la cosecha.

Los Organismos Internacionales, como la FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud), han establecido los niveles máximos admisibles respecto a la ingestión de plaguicidas normalmente utilizados en distintos países, siendo las autoridades nacionales las encargadas de establecer una legislación apropiada y vigilar cuidadosamente los residuos de los plaguicidas mediante controles analíticos adecuados.

La toxicidad relacionada con la evolución de los plaguicidas en el suelo, se expone en apartados sucesivos al tratar detalladamente este proceso dada su importancia. De todo lo anteriormente expuesto podemos resumir que los plaguicidas son productos que, junto a una gran utilidad económica, presentan riesgos de importancia variable. En consecuencia, resulta imprescindible la comprobación de que su eficacia sea superior a unos mínimos aceptables y que los riesgos derivados de su manipulación y aplicación sean perfectamente controlables. Para conseguir los objetivos será necesario que el agricultor efectúe una buena práctica agrícola.

En definitiva, deberá seguir fielmente las instrucciones de uso del producto, efectuará únicamente los tratamientos necesarios evitando tratamientos por rutina, elegirá sólo plaguicidas autorizados sobre el cultivo, no aplicará dosis

superiores a las recomendadas, el método de aplicación será lo más uniforme y regular posible y el momento de aplicación será tal que actúe sobre la plaga en su forma más vulnerable y con la suficiente antelación a la fecha de recolección para que se cumpla el plazo de seguridad entre tratamiento y recolección. Al mismo tiempo, la Administración, consciente de la problemática que presentan estos productos, debe adoptar las medidas adecuadas para garantizar al usuario que los productos que puede adquirir en el mercado son suficientemente eficaces y seguros.

En España desde 1942 está prohibida la fabricación, importación y comercialización de cualquier plaguicida que no haya sido inscrito en el Registro Oficial Central de productos fitosanitarios del Ministerio de Agricultura. La inscripción en dicho registro está precedida de una laboriosa homologación que abarca la comprobación de su eficacia, de sus características físico-químicas, y la evaluación de su peligrosidad bajo los distintos aspectos ya mencionados.

Actualmente existe una legislación clara y completa al respecto a partir del 24 de Enero de 1984, fecha en que se publica el Reglamento Técnico Sanitario. Para finalizar señalaremos que también corresponde a los Gobiernos promover planes de investigación y desarrollo en torno a la protección de cultivos y del medio ambiente. Esta investigación, no comercial, debe desempeñar un papel importante al lado del emprendido por la industria, ya que por su propia naturaleza las compañías químicas tienen que fijarse objetivos definidos, es decir, descubrir, desarrollar y comercializar nuevas sustancias susceptibles de venderse a tal escala que produzca beneficios además de amortizar la inversión inicial. Limitadas de esta forma, no pueden emprender todas las investigaciones sobre protección de cultivos necesarias en una agricultura desarrollada.

1.10. PLAGUICIDAS EN EL SUELO

Cuando un plaguicida se aplica al campo, bien en forma de pulverización o líquido se distribuye en las distintas fases del ambiente suelo, agua, aire, animales y plantas. La distribución tendrá lugar de forma que la concentración

en cada una de las fases sea función tanto de las propiedades químicas del compuesto como de la fase.

El estudio de la interacción de los plaguicidas con la fase suelo, sustrato primario y más importante, tiene especial interés, ya que la mayor parte de los mismos llega a ponerse en contacto con la superficie de éste ya sea directa o indirectamente por lo que se hace necesario conocer su evolución en este sistema.

Estos mecanismos pueden actuar solos o en combinación sobre la estructura de los diferentes productos específicos y dependen de otras variables, como humedad, temperatura, materia orgánica, tipo de arcilla, pH, intercambio iónico del suelo, así como de las características físicoquímicas del compuesto de que se trate sucesivamente considerados son: Descomposición química que tiene lugar por procesos de oxidación, reducción, hidroxilación, dealquilación, rotura de anillos, hidrólisis e hidratación.

- Descomposición fotoquímica que se produce por efecto del espectro de luz ultravioleta de la luz solar. Las fuentes de luz y su intensidad regulan el grado de descomposición de un compuesto.
- Descomposición microbiana, la acción de los microorganismos del suelo sobre los plaguicidas es probablemente el mecanismo de descomposición más importante. los microorganismos del suelo, bacterias, algas y hongos, obtienen alimento y energía para su crecimiento por descomposición de estos compuestos orgánicos sobre todo cuando carecen de otras fuentes.
- Volatilización o pérdida del compuesto en forma de vapor. Todas las sustancias orgánicas son volátiles en algún grado dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentren y de la temperatura ambiente.
- Movimiento, el transporte de un plaguicida en el suelo, por disolución o arrastre mecánico, se hace bajo la influencia del agua, bien de las precipitaciones atmosféricas que favorecen el movimiento de

convección, bien de la imbibición que permite un desplazamiento por difusión molecular.

- El grado de lixiviación está influido por las características físicoquímicas del suelo, solubilidad del producto, frecuencia e intensidad de la lluvia, etc. Descomposición por las plantas y organismos como consecuencia de los procesos metabólicos que tienen lugar en las plantas.

Los mecanismos que influyen en la evolución de plaguicidas en el suelo adsorción, fenómeno de atracción entre una superficie sólida y un líquido o un vapor por este mecanismo, las moléculas de plaguicida pueden ser adsorbidos o retenidas por los coloides presentes en el suelo, arcilla y materia orgánica, durante el proceso de lixiviación. Cuando un plaguicida es adsorbido su concentración en la solución del suelo disminuye, estableciéndose un equilibrio entre las concentraciones de materia activa disuelta y adsorbida. El mecanismo de desorción del compuesto dependerá principalmente de la energía de adsorción. Cuanto mayor sea esta energía, más difícil será la desorción del plaguicida de nuevo a la solución del suelo.

1.11. ADSORCIÓN DE PLAGUICIDAS ⁽³⁹⁾

De todos los mecanismos implicados en la evolución de plaguicidas en el suelo mencionados en el apartado anterior, la adsorción- desorción es el más importante por influir directa o indirectamente en la magnitud y efecto de los otros. Es fácil comprender que la adsorción influye en el lavado, en la volatilización e incluso en la biodegradación por microorganismos ya que éstos no pueden degradar el plaguicida si éste es inaccesible. Se ha demostrado que los sustratos que no son accesibles a los microorganismos no son atacados o lo son más lentamente.

El proceso de adsorción de plaguicidas por el suelo se refiere, como ya hemos indicado, a la interacción entre estos compuestos y las partículas del suelo por lo que estará íntimamente relacionado con la superficie específica y con las propiedades físicoquímicas de estas partículas y en consecuencia con el

tamaño de las mismas. De ahí que la fracción coloidal será la más activa en este proceso, o sea, la que tendrá mayor facilidad para retener moléculas de plaguicidas. La fracción coloidal del suelo está constituida por una parte orgánica (materia orgánica) y una parte inorgánica (minerales de la arcilla).

Las interacciones entre las moléculas de plaguicidas y las fracciones coloidales del suelo están influidas considerablemente por la humedad, temperatura, pH, y contenido de minerales y materia orgánica del suelo. A su vez también están relacionadas con las características de los compuestos orgánicos, en cuanto a su solubilidad en el agua, polaridad, tamaño molecular y características químicas. De acuerdo con esto, el margen de adsorción de un plaguicida por el suelo puede extenderse desde poco o nada hasta una inactivación total, dependiendo estas diferencias de la naturaleza de la fracción coloidal y de la estructura química del compuesto así, estudios experimentales han demostrado que de los plaguicidas de uso más frecuente (clorados, fosforados, carbamatos), son los fosforados los más fuertemente inactivados en el suelo, tanto en suelos minerales como en suelos orgánicos, debido a que son los más fácilmente adsorbidos por el suelo.

De acuerdo con todo ello, en la Unidad de Físico-Química y Mineralogía de Arcillas del Centro de Edafología y Biología Aplicada de Salamanca se trabaja desde hace varios años en estudios sobre interacción de minerales de la arcilla con un grupo de plaguicidas ampliamente utilizados en la actualidad.

1.11.1. Efectos

- a) Da lugar a una inactivación de los plaguicidas, ya que estas moléculas al quedar bloqueadas no pueden ejercer su efecto tóxico. Para que estos compuestos sean efectivos en el suelo deben aplicarse en dosis determinadas. Así, si el suelo tiene textura arcillosa y la adsorción tiene lugar en gran cantidad, las dosis de aplicación deberán ser superiores a las normales si se quieren conseguir los efectos deseados.
- b) Origina un aumento de la persistencia de estos compuestos en el suelo con el consiguiente riesgo de contaminación. 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 de temperatura o humedad, o en la estructura del suelo se pueden originar desprendimientos lentos del compuesto al estado disponible, de modo que vuelve a entrar en el sistema biológico, pero ahora a concentraciones demasiado bajas para ser significantes en el control de las plagas, aunque posiblemente a niveles suficientemente altos para entrar de alguna forma en la cadena de alimentos y ser nocivo a determinados organismos, diferentes de aquellos para los que había sido destinado.

- c) Influye en su degradación, en unos casos, impidiéndola o retrasándola, ya que mientras que estos compuestos están adsorbidos los mecanismos de descomposición de los mismos o no pueden actuar o actúan más lentamente. En otros casos, la adsorción puede aumentar la degradación del plaguicida, ya que los minerales de la arcilla pueden catalizar su descomposición por medio de la formación de fuertes arcilla-molécula orgánica que debilitarán ciertos enlaces dentro de la molécula.

La posibilidad de las arcillas de catalizar estas reacciones está relacionada con su naturaleza, en algunos casos, fuertemente ácida y con la naturaleza de los cationes de cambio. Así por ejemplo es notable la descomposición de heptaclor, DDT, dieldrín y endrín sobre diluyentes como atapulgita y caolinita. El efecto de esta degradación catalítica no tendrá consecuencias en cuanto a la contaminación, siempre que los productos de hidrólisis no sean tóxicos, pero sí tendrá efecto en cuanto a la actividad.

Como consecuencia de estos efectos se puede concluir que una condición indispensable y absolutamente necesaria, previa a la aplicación de un plaguicida en el campo, es conocer la composición del suelo, la textura del mismo y la naturaleza de los minerales que contienen la fracción arcilla. El conocimiento de estos aspectos daría lugar a un mayor beneficio, con los mínimos riesgos de "presente y futuro".

1.12. INSECTICIDAS ⁽⁴⁰⁾

Un insecticida, es un producto fitosanitario utilizado para controlar, insectos (Insecta, en latín, literalmente "cortado en medio", basado en la observación directa de la simetría bilateral de los mismos), generalmente por la inhibición de enzimas. El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida. Los biocidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales, de origen biológico o de origen físico que están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo considerado nocivo para el hombre. Los insecticidas tienen importancia para el control de plagas de insectos en la agricultura o para eliminar todos aquellos que afectan la Salud humana y animal. Los ácaros no son insectos y pueden ser inmunes a algunos insecticidas, se eliminan con productos específicos, los acaricidas, que son también productos fitosanitarios que se utilizan para matar o eliminar, controlar, prevenir, repeler o atenuar la presencia o acción de los ácaros en la agricultura u otros medios. Durante el siglo XX, se dio el desarrollo exponencial de la Industria de la síntesis química cuando se comienzan a producir y diseñar productos insecticidas de síntesis o sintéticos. Hacia fines de este siglo y comienzos del siglo XXI, a causa de la toxicidad inespecífica de los insecticidas sintéticos comienza el desarrollo de productos menos tóxicos y más específicos.

1.12.1. Mecanismos de acción

Los insecticidas pueden hacer acción sobre uno o diferentes de los estados de desarrollo del insecto, y se pueden considerar ovicidas, larvicidas y adulticidas respectivamente si eliminan los huevos las larvas o los imágos o adultos.

La interacción entre el insecticida y el órgano blanco, puede darse de diferentes maneras, ya sea por contacto directo del producto, o bien a través de la alimentación. Lo más común es una forma combinada, más moderna y efectiva de actuación, en caso de plantas, es la absorción del insecticida en el interior de la planta y a través de los vasos conductores causando así el daño cuando el insecto se alimenta de esa planta contaminada. Clasificación según el mecanismo de acción:

- Insecticidas de ingestión a través de las plantas que han incorporado a su sistema vascular el producto insecticida.

- Insecticidas de contacto, por acción del insecticida directamente sobre el organismo blanco.
- Insecticidas combinados de ingestión y contacto, que es la acción sinérgica de los dos anteriores.
- Insecticida sistémico, que hace contacto directo con el organismo blanco, pero no actúa en el sitio, sino que es traslocado dentro del cuerpo del insecto, ejerciendo su acción de diversas maneras, interviniendo en alguno de sus metabolismos.

1.13. CARBOFURANO ⁽¹⁷⁾

El carbofurano o carbofurán es un plaguicida sistémico utilizado como insecticida, acaricida y nematocida de amplio espectro, que pertenece al grupo químico de los carbamatos (N-methyl).

Conjuntamente con los insecticidas organofosforados, los compuestos piretroides y otros carbamatos, el carbofurano integra un grupo sustituto de insecticidas persistentes como el DDT, clordano y heptacloro.

Su nombre químico (IUPAC) es 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il metilcarbamato y su fórmula química: $C_{12}H_{15}NO_3$. Se identifica por el número CAS 15-63-66-2. Su fórmula global es la siguiente:

El carbofurano comenzó a ser elaborado en 1969 por la Corporación FMC, en Estados Unidos.

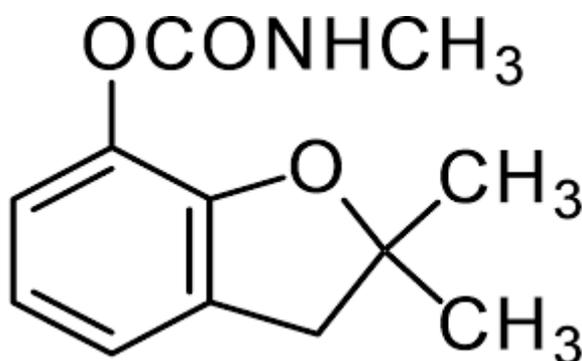


Figura 1. Fórmula química del Carbofurano

1.13.1. Usos

Se usa para el control de insectos y nemátodos de una gran variedad de cultivos, especialmente maíz, trigo, arroz, soja, papas, girasol, frutas (melón, uvas) y hortalizas, entre muchos otros.

En Argentina ha sido utilizado para eliminar loros, aves que se alimentan de cultivos anuales y perennes, aplicándolo en sus nidos. El tiempo de carencia es de 60 días.

Se comercializa en distintas formulaciones con los nombre de Carbofurán 10 G, Carbodan, Curaterr 10% GR, Curater, Furadan 10 G, Furadán 4 F, Furacarb, Fursem, Carbofed, Carbogroz, Cropsa. Se aplica al suelo incorporado al agua de riego. Algunos distribuidores recomiendan no usarlo en hortalizas con hojas comestibles.

1.13.2. Persistencia

Posee una vida media en suelos de 30 a 60 días. Se degrada principalmente por acción microbiológica, generando dióxido de carbono. La persistencia ambiental del carbofurano está controlada por su degradación por vías química, fotoquímica y bioquímica.

La primera de ellas está preeminentemente asociada a la hidrólisis, con tiempos de vida medios para este mecanismo de reacción comprendidos entre 2 días, a pH=9,5 y 1.700 días, a pH=5,2 teniendo influencia directa la temperatura sobre la tasa de hidrólisis, además del pH.

La fotólisis directa y la fotooxidación por el mecanismo de radicales libres constituyen una importante vía de degradación del carbofurano, habiéndose observado en estudios de laboratorio una fotodescomposición significativa dentro de 96 horas. La volatilización no aparece como una vía significativa de remoción del carbofurano.

Este plaguicida tiene baja adsorción en el suelo, variando su tiempo de vida medio entre varios días y más de 3 meses. La escasa retención en el suelo y su relativamente alta solubilidad acuosa determinan una migración considerable del carbofurano hacia el agua ambiente, donde el tiempo de vida medio está fuertemente influenciado por el pH.

1.13.3. Efectos en la salud

Los seres humanos pueden absorber el carbofurano por inhalación, por ingestión, por la piel y a través de los ojos. La Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (EPA) destaca el peligro de intoxicación aguda que presenta este plaguicida a las personas expuestas a su acción. Señala que, como es altamente tóxico, la exposición a las más pequeñas cantidades de esta sustancia química genera un riesgo importante. Por eso, considera que el riesgo de residuos de carbofurano en los alimentos es preocupante para todos los subgrupos de la población, especialmente para los niños de entre 1 y 2 años de edad.

La exposición a través del agua potable es un riesgo adicional para los consumidores de fuentes específicas y vulnerables, en especial las asociadas a determinados tipos de suelo y modos de uso del plaguicida. Asimismo, la EPA advierte que también son preocupantes los riesgos ocupacionales, aun cuando se adopten medidas estrictas de protección. Las preocupaciones expresadas por la EPA se fundamentan en incidentes de envenenamiento humano asociadas a exposición ocupacional a este agrotóxico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica al carbofurano en el grupo identificado como 1b, lo que significa “altamente peligroso”. Sin embargo, en el caso de ingestión en forma directa o de residuos existentes en alimentos, es “extremadamente tóxico”.

Este plaguicida puede producir irritaciones en la piel y, según la vía por la cual ingresa en el organismo humano, afecta el sistema respiratorio (asfixia), el aparato digestivo (náuseas, vómitos, salivación, sudor frío, dolor abdominal, diarrea) y ojos (lagrimeo, visión doble, miosis o contracción de la pupila).

A niveles más altos de exposición puede causar espasmos musculares, pérdida de coordinación y paro respiratorio. Los problemas respiratorios son característicos del edema pulmonar, síntoma habitualmente de envenenamiento grave por carbamato.

Las empresas distribuidoras advierten que las personas con bajo nivel de colinesterasa basal o afecciones hepáticas pueden agravar su estado con la

exposición a este plaguicida. Por otra parte, diversos estudios han aportado evidencia sobre la toxicidad del carbofurano en mamíferos de ensayo expuestos oralmente.

También se ha verificado dicha toxicidad en la exposición humana. En un estudio de dos años de duración con ratas macho y hembra expuestas a este plaguicida a través de su dieta se pudo advertir la inhibición de colinesterasa en plasma, eritrocitos y cerebro.

1.13.4. Toxicidad crónica

Este agrotóxico no sólo afecta el sistema nervioso central, generando ansiedad, dolores de cabeza, irritabilidad y agresividad, sino también el sistema inmunológico. En este caso, los síntomas evidentes son cansancio, falta de apetito y debilidad general. También puede provocar efectos teratogénicos, es decir, daños en el embrión o feto (abortos) y mutagénicos (cambios en el material genético, que pueden traducirse en malformaciones congénitas, abortos o cáncer, entre otras afecciones). Efectos reproductivos Hay riesgos reproductivos de envergadura.

El carbofurano puede causar daño en el aparato reproductivo masculino y disminuir la cantidad de esperma en animales. Un estudio de un año de duración efectuado con perros Beagle expuestos a este plaguicida en la dieta permitió observar inhibición de la colinesterasa de eritrocitos y plasmática y, además, efectos perjudiciales en testículos y útero.

Las observaciones efectuadas dieron lugar al establecimiento de un nivel de exposición en el cual no se observa efecto alguno igual a 0,5 mg (kg masa corporal). A la vez, se determinó el valor 12,5 mg (kg masa corporal) como el menor nivel de exposición en el cual se observan efectos adversos.

1.13.5. Destino en el ambiente

Si el Carbofurano es liberado en la atmósfera se presenta tanto en la fase de vapor como de partículas. La fase de vapor es degradada por reacción con

radicales hidroxilo con una vida media de 13 horas. Las partículas son físicamente removidas por precipitación húmeda y seca.

En el aire la fotólisis directa es también un proceso importante de remoción de este compuesto. En el suelo el Carbofurano es moderadamente persistente (vida media de 30 a 120 días) y tiene una movilidad variable dependiendo de la textura. En suelos franco arenosos, franco limosos y limo arcillosos es muy móvil; en suelos franco arcillo-limosos es moderadamente móvil y en suelos orgánicos ligeramente móvil. Por lo anterior, se considera un peligro significativo de contaminación para las aguas subterráneas.

La hidrólisis y la biodegradación son mecanismos relevantes de remoción de este compuesto, siendo la primera más rápida en ambientes alcalinos, mientras que la segunda se acelera en suelos previamente tratados con plaguicidas. Sus principales productos de degradación son el 3-Hidroxicarbofuran, 3-Cetocarbofuran y Fenol-carbofurano. La fotólisis directa y la fotooxidación (vía radicales hidroxilo) contribuyen a su remoción en los cuerpos de agua (ríos, lagos y mar). La volatilización, adsorción a sólidos suspendidos o sedimentos y la bioconcentración en organismos acuáticos (moluscos y peces) son destinos ambientales menores para este plaguicida.

1.14. TESTÍCULO ^(17, 38)

Los testículos son órganos pares situados fuera de la cavidad abdominal, alojados en el escroto. Tienen forma ovoide, con una longitud de 4-5 cm y una anchura de 3 cm. Los testículos se organizan como una glándula exocrina compuesta para la producción de los espermatozoides y como una glándula endocrina para la producción de las hormonas sexuales masculinas.

1.14.1. Histología:

Presenta los dos componentes fundamentales:

- A) **Estroma:** en el estroma la cápsula que rodea al testículo se llama túnica albugínea y es una capa muy gruesa de tejido conjuntivo denso. La parte más interna es una capa de tejido conjuntivo laxo con muchos vasos. La túnica albugínea se engruesa en la cara posterior del testículo formando el mediastino testicular: los vasos sanguíneos y linfáticos y las vías espermáticas atraviesan esta zona para entrar o

salir del testículo. Desde la cápsula se desprenden tabiques muy finos de tejido conjuntivo laxo (tabiques testiculares) que se introducen en el testículo y convergen hacia el mediastino testicular.

- B) **Parénquima:** el parénquima testicular está formado por unos 500-1000 túbulos seminíferos muy contorneados. Los tabiques testiculares delimitan unos 250-300 lobulillos. Cada lobulillo contiene 1-4 túbulos seminíferos, cada túbulo seminífero tiene forma de U: el comienzo y el final del túbulo son rectos (túbulos rectos) y se sitúan cerca del mediastino testicular donde se continúan con la rete testis. El resto del túbulo es muy largo y está muy contorneado y plegado sobre sí mismo: esto hace que en las preparaciones histológicas los encontremos cortados en todos los planos posibles, los espacios que hay entre los túbulos seminíferos están ocupados por el tejido intersticial testicular, una pequeña cantidad de tejido conjuntivo laxo con vasos, nervios y células de Leydig

1.14.2. Túbulo Seminífero

Cada túbulo seminífero tiene una longitud aproximada de 50 cm y un diámetro de 200 μm y es lugar en el que se lleva a cabo la espermatogénesis. La pared del túbulo seminífero está formada por un epitelio especial denominado epitelio seminífero, de 80 μm de altura. Por fuera de la lámina basal del epitelio se encuentra la lámina propia (tejido peritubular), una capa de tejido conjuntivo.

- a) **Epitelio seminífero:** el epitelio seminífero es un epitelio estratificado muy complejo en el que encontramos dos poblaciones celulares diferentes: las células de Sertoli (células de sostén) y las células espermatogénicas.

Las células de Sertoli: no se dividen en el testículo del adulto y representan $\approx 10\%$ de las células del epitelio seminífero. Sin embargo, son el tipo celular predominante hasta la pubertad. En la vejez, cuando la población de células espermatogénicas decrece, vuelven a ser el tipo celular que predomina en el epitelio seminífero, son células muy grandes que se extienden desde la lámina basal hasta la luz del túbulo seminífero, tienen un núcleo grande, la cromatina está muy dispersa y

en ella resalta un nucléolo muy voluminoso con algún grumo de heterocromatina asociada a él, la forma y la ubicación del núcleo es variable: puede ser aplanado y situarse en la base de la célula o triangular u ovalado y estar situado a cierta distancia de la base celular. El citoplasma presenta gran cantidad de orgánulos como corresponde a una célula muy activa; abundante REL y RER y un Aparato de Golgi bien desarrollado, muchas mitocondrias alargadas, abundantes lisosomas, gránulos de lipofucsina y cuerpos residuales, haces de microfilamentos y abundantes microtúbulos, gránulos de glucógeno y gotitas lipídicas, laminillas anulares apiladas. Las superficies apical y lateral son muy irregulares, presentan unas depresiones profundas ocupadas por las células espermatogénicas vecinas, las superficies laterales tienen también prolongaciones laminares ramificadas que se sitúan entre las células espermatogénicas, hay uniones gap y desmosomas entre las células de Sertoli vecinas y hemidesmosomas de unión a la lámina basal, las prolongaciones más basales, paralelas a la lámina basal, están unidas por zonulas occludens y esto hace que en el epitelio seminífero se establezcan dos compartimentos: o un compartimento basal, en el que se localizan las células espermatogénicas que sufren mitosis (espermatogonias) y los espermatocitos primarios recién formados [los espermatocitos primarios se incorporan al compartimento adluminal gracias a la formación de nuevas prolongaciones de las células de Sertoli que generan uniones estrechas que los separan de las espermatogonias, y la desaparición de las uniones estrechas y la retracción de las prolongaciones antiguas de las células de Sertoli que estaban por encima de los espermatocitos primarios recién formados] o un compartimento adluminal, en el que se localizan las células espermatogénicas que sufren meiosis (espermatocitos primarios y secundarios), las que se están diferenciando (espermátides) y las células maduras (espermatocitos) o estas uniones estrechas entre prolongaciones de células de Sertoli que separan el compartimento basal del adluminal son la base de la llamada barrera hematotesticular que mantiene aisladas a las células espermatogénicas haploides (espermatocitos secundarios, espermátides y espermatozoides) del

sistema inmunitario. Las funciones de las células de Sertoli son dar soporte y protección y nutrir a las células espermatogénicas en desarrollo; fagocitar los cuerpos residuales que se producen durante la maduración de las células espermatogénicas; secretar un líquido rico en proteínas y electrolitos a la luz del túbulo seminífero; secretar la proteína fijadora de andrógenos (ABP) que hace que se consigan concentraciones elevadas de andrógenos en el compartimento adluminal del epitelio; secretar la hormona inhibina (inhibe la liberación de FSH en la hipófisis).

Células espermatogénicas: en el epitelio seminífero se encuentran diversos tipos de células espermatogénicas que difieren en su localización y en su grado de diferenciación: **espermatogonias:** se localizan en el compartimento basal del epitelio y establecen contacto con la lámina basal del epitelio (el resto de las células espermatogénicas están en el compartimento adluminal y no contactan con la lámina basal); **espermatocitos primarios; espermatocitos secundarios; espermátides:** se localizan cerca de la luz del túbulo seminífero; los **espermatozoides:** son las células ya maduras, se liberan a la luz del túbulo seminífero.

Lámina propia: la lámina propia o tejido peritubular está formada por varias capas (3-5) de miofibroblastos peritubulares: son células con capacidad contráctil que generan ondas peristálticas que hacen avanzar los espermatozoides por los túbulos seminíferos hacia la rete testis; algunos fibroblastos; algunas fibrillas de colágena

1.14.3. Espermatogénesis

La espermatogénesis es el proceso de formación de espermatozoides a partir de espermatogonias. Este proceso se inicia en la pubertad por la acción de la FSH hipofisaria y se mantiene durante toda la vida. Este proceso tiene lugar en varias fases: una primera fase de proliferación o fase espermatogónica; una segunda fase de maduración o fase espermatocítica; una tercera fase de espermiogénesis o fase espermátide.

A) Fase espermatogónica o de proliferación: esta primera fase se llama así porque en ella se produce la división mitótica de las espermatogonias. Hay tres tipos de espermatogonias: tipo A oscuras (Ad) son células con pocos orgánulos citoplasmáticos, su núcleo es ovalado con una cromatina muy basófila (oscura, de ahí el nombre de la célula); estas parecen ser las células madre espermatogénicas; estas células se dividen para generar o dos espermatogonias tipo Ad (que permanecen como células madre) o dos espermatogonias tipo Ap: las dos espermatogonias tipo Ap resultantes permanecen unidas por un puente delgado de citoplasma, no se llega a completar la división citoplasmática; espermatogonias tipo A pálidos (Ap); son células parecidas a las anteriores, su núcleo es ovalado y su cromatina se tiñe muy poco (pálida) estas espermatogonias tipo Ap sufren varias divisiones mitóticas para aumentar su número: todas las células que derivan del mismo par de espermatogonias tipo Ap se mantienen unidas por puentes de citoplasma, como las perlas de un collar (y estos puentes se mantienen hasta las fases más avanzadas del proceso; espermatogonias tipo B, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios hasta las espermatídes avanzadas); las células resultantes de la última división mitótica se diferencian en espermatogonias tipo B. Las espermatogonias tipo B son células parecidas a las anteriores; su núcleo es esférico, central, con cromatina condensada en la cara interna de la envoltura nuclear y alrededor de un nucléolo central; la división mitótica de cada espermatogonia tipo B produce dos células hijas que se diferencian rápidamente en espermatocitos primarios que, al poco de formarse pasan al compartimento adluminal del epitelio seminífero, justo por encima de uniones estrechas de las células de Sertoli

B) Fase espermatocítica o de meiosis: Esta fase se llama así porque en ella se produce la división meiótica de los espermatocitos; **espermatocitos primarios:** al poco de formarse estas células duplican su dotación de ADN; cada una de estas células sufren la primera división meiótica (meiosis reduccional) para dar lugar a dos espermatocitos secundarios. La primera división meiótica es muy larga (la profase dura alrededor de 20 días en los humanos) y en ese tiempo la cromatina nuclear puede verse condensada en forma de cromosomas. Los espermatocitos secundarios: cada una de estas células sufren la segunda

división meiótica (meiosis ecuacional) para dar lugar a dos espermátides, la segunda división meiótica es muy rápida por lo que los espermátocitos secundarios tienen una supervivencia muy corta y son difíciles de ver en los preparados histológicos.

C) Fase de espermátide o de espermiogénesis: esta fase se llama así porque en ella las espermátides, células haploides que ya no se dividen, sufren un proceso de diferenciación gradual que acabará transformándolas en espermatozoides maduros (espermiogénesis), que también son haploides. Las espermátides se localizan en el compartimento adluminal del epitelio seminífero, cerca de la luz del túbulo, son células más pequeñas que los espermátocitos, son células redondeadas (o poliédricas por la gran densidad de espermátides que hay) su citoplasma contiene mitocondrias pequeñas, REL y sobre todo se caracteriza por la presencia de un prominente aparato de Golgi. El proceso de diferenciación de las espermátides se produce con las espermátides alojadas en las depresiones de la superficie de las células de Sertoli y, además, adheridas a la membrana de las células de Sertoli.

1.14.4. Tejido Intersticial

Los espacios triangulares delimitados por los túbulos seminíferos están ocupados por un tejido conjuntivo laxo que recibe el nombre de tejido intersticial testicular. El componente fundamental del intersticio testicular son las células de Leydig, aunque también encontramos el resto de los componentes propios del tejido conjuntivo laxo.

A) Células de Leydig (células intersticiales): Las células de Leydig se encuentran agrupadas y en estrecho contacto con los vasos del intersticio; son células de forma poliédrica y con un tamaño $\approx 20 \mu\text{m}$, su citoplasma es acidófilo y contiene los orgánulos propios de las células que sintetizan esteroides, REL desarrollado, abundantes mitocondrias con crestas tubulares, gotitas lipídicas numerosas algunos lisosomas y gránulos de lipofucsina es característico de estas células la presencia de cristales de Reinke: estructuras alargadas compuestas de material proteico; el núcleo es excéntrico y tienen 1-2 nucléolos, la superficie celular es irregular y presenta prolongaciones que se interdigitan con

las de las células vecinas: hay uniones gap entre células de Leydig vecinas, son las células endocrinas del testículo: secretan testosterona [las células de Leydig secretan testosterona ya en el periodo embrionario y fetal la testosterona es fundamental para el desarrollo de las gónadas masculinas y a los pocos meses del nacimiento se inactivan. Al llegar la pubertad, se activa de nuevo la síntesis de testosterona], Otros componentes del intersticio testicular fibroblastos y fibras de colágena, capilares sanguíneos y linfáticos, fibras nerviosas.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

2.1. LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biología y Bioterio del Laboratorio de Fisiología Animal del Departamento Académico de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa durante los meses de enero a marzo del 2016.

2.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Para efectuar el presente trabajo de investigación se utilizaron 20 ratas machos *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley con pesos corporales entre 200 y 300 gramos aproximadamente y con edades de 5 meses.

2.3. TIPO DE ESTUDIO

Experimental univariado

2.4. PROTOCOLO

Los animales de experimentación estuvieron alojados en el Bioterio del Laboratorio de Fisiología Animal, bajo condiciones de temperatura ambiental.

La dieta fue a base de alimento comercial balanceado y agua *at libitum*.

Después de una semana de ambientación, se inició la administración a los grupos tratamiento con Carbofurano (CARBODAN 48 F).

Los 04 grupos fueron distribuidos de la siguiente manera: **Grupo 1** control, sin administración de carbofurano; **Grupo 2** con una dosis de 0.025mg/kg/día de carbofurano; **Grupo 3** con una dosis de 0.05 mg/kg/día de carbofurano y el **Grupo 4** con una dosis de 0,1 mg/kg/día de carbofurano.

El plaguicida fue resuspendido en solución salina y administrado vía oral usando jeringas de 1 mL provistas de una cánula de intubación oro-esofágica durante 28 días.

Al terminar los 28 días de tratamiento, las ratas fueron eutanizadas, con cloroformo en una campana de vidrio, para luego proceder a la dislocación cervical.

Luego se procedió a extraer los testículos de cada grupo y se fijaron en frascos pequeños con formol al 10% durante 24 horas.

Los testículos fijados en formol fueron sometidos a la técnica histológica de rutina para la obtención de láminas histológicas permanentes y su proceder a su identificación y comparación.

Para obtener los datos del diámetro y altura de los tubos seminíferos se utilizó un ocular micrométrico graduado hasta 50µm.

2.5. VARIABLES

- Dependiente: alteración histológica en testículo
- Independiente: concentraciones de carbofurano (0.025; 0.05; 0.1 mg/kg/día).

2.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

TRATAMIENTO	N° de Ratas
Grupo 1: Control	5
Grupo 2: Carbofurano 0.025 mg/kg/día	5
Grupo 3: Carbofurano 0,05 mg/kg/día	5
Grupo 4: Carbofurano 0,1 mg/Kg/día	5
TOTAL	20

2.7. OBTENCION DE LAMINAS HISTOLÓGICAS PERMANENTES CON COLORACIÓN HEMATOXILINA Y EOSINA (MAYER)

Las láminas histológicas permanentes de testículo se procesaron en el Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, siguiendo el procedimiento que a continuación se detalla.

2.7.1. Obtención de la Muestra.

Después de sacrificado el animal, inmediatamente se procede a extraer de ellos los testículos; seccionando los órganos en forma transversal.

2.7.2. Fijación.

El proceso de fijación preservó los tejidos deteniendo la autólisis y a la vez permite que los tejidos permanezcan sin cambios apreciables luego de subsecuentes tratamientos. La fijación se hizo inmediatamente después de obtenidos los testículos ya que cualquier demora seca el tejido y acelera la autólisis.

Las muestras se fijaron en Formol al 10% por 24 horas, seguidamente se hicieron los cortes necesarios, los cuales deberán tener un grosor de 3 a 5 mm., los mismos que se colocaron nuevamente en Formol al 10 % por 1 hora, debidamente etiquetados o rotulados para ser colocados en el Autotecnichon.

2.7.3. Deshidratación y Aclaramiento

Para remover toda el agua de los tejidos se tiene el siguiente recorrido:

Agua corriente, 1 hora

Alcohol 70%, 1 hora

Alcohol 80%, 1 hora

Alcohol 90%, 1 hora

Alcohol 95%, 1 hora

Alcohol 100%, 1 hora

Alcohol 100%, 1 hora

Para el aclaramiento

Xilol puro I por 1 hora

Xilol puro II por 1 hora

2.7.4. Inclusión

Las muestras procedentes del Xilol II se sumergieron en recipientes con parafina, este proceso de sumergir el tejido en una sustancia firme tal como la parafina es el medio de inclusión más utilizado. Una vez incluidos los tejidos en la parafina I se llevó la muestra a la estufa a una temperatura de 60 °C por un tiempo de 1 hora, luego se trasladó a la parafina II, a temperatura de 60 ° C durante 1 hora para luego proceder al bloqueo de las muestras.

2.7.5. Corte

Una vez extraídos los tejidos de la parafina, se procedió a la orientación e inclusión de tejido en los moldes (Placas de Leukart) con parafina diluida (caliente), para la orientación de la muestra se usa las pinzas.

Los bloques formados se llevaron a refrigeración por espacio de 1 hora, para endurecer la parafina lo cual favorece en el corte de las muestras, se procedió al corte mediante el micrótopo deslizante (Rotatorio. American Optical).

El corte de las muestras permitió obtener "las cintas" de las mismas. Estas cintas mediante pinzas se colocan en un flotador de tejidos (que contiene agua caliente: Baño María 50 °C). El baño María extiende los cortes histológicos (evitan la presencia de arrugas y aire atrapado); una vez bien extendidos los cortes, éstos se colocaron en las láminas portaobjetos recubiertas con albúmina de Mayer (que favorece la adhesión de los cortes).

2.7.6. Coloración con Hematoxilina - Eosina (H.E.)

Para colorear los cortes histológicos adheridos en los portaobjetos se siguieron los siguientes pasos:

Se empezó colocando las láminas portaobjetos en el Xilol (Xilol I) por 15 minutos para eliminar la parafina de los cortes; luego se pasó al otro recipiente con Xilol (Xilol II) para completar la eliminación de la parafina. Después las láminas se trasladaron a los alcoholes de una batería de hidratación:

Alcohol 100%, 1 minuto

Alcohol 100%, 1 minuto

Alcohol 95%, 1 minuto

Alcohol 90%, 1 minuto

Alcohol 80%, 1 minuto

Alcohol 70%, 1 minuto

Agua corriente, 1 minuto

Luego se procedió a la coloración siguiendo los siguientes pasos:

Hematoxilina de Mayer, 5 minutos

Agua corriente, 10 minutos

Agua destilada, 1 minuto

Eosina, 20 segundos

Alcohol 70%, 1 minuto

Alcohol 80%, 1 minuto

Alcohol 90%, 1 minuto

Alcohol 95%, 1 minuto

Alcohol 100%, 1 minuto

Alcohol 100%, 1 minuto

Xilol I, 1 minuto

Xilol II, 1 minuto

Finalmente se procedió al montaje (final de los cortes coloreados) usando unas gotas de Bálsamo de Canadá y laminillas cubreobjetos. Se dejó secar el bálsamo, luego etiquetaron las láminas y realizaron las descripciones histológicas correspondientes.

2.8. DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO:

El diagnóstico histopatológico de las muestras obtenidas fue hecho en el Laboratorio de Biología. Este examen histopatológico fue realizado en cada una de las láminas histológicas de testículo por cada Grupo, obteniéndose así la descripción histopatológica de la estructura histológica del testículo.

2.9. DISEÑO ESTADÍSTICO

Los datos estadísticos se expresan como promedios. Las diferencias estadísticas entre los grupos fueron analizados por ANOVA y la prueba de especificidad de Tukey. Las diferencias fueron estadísticamente significativas si $p < 0.05$. Se utilizó el paquete estadístico computarizado SPSS versión 21.0 para Windows

CAPITULO III

RESULTADOS

3.1. EFECTO DEL CARBOFURANO EN EL DIÁMETRO DEL TÚBULO SEMINÍFERO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY.

TABLA 1. Comparación del efecto de las diferentes dosis de Carbofurano sobre el diámetro de túbulos seminíferos de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley.

TRATAMIENTOS	MEDIA (um)	SIGNIFICANCIA
T1 Control	349,10±10,26	a
T2 Carbofurano 0.025 mg/kg/día	311,00±12,76	b
T3 Carbofurano 0,05 mg/kg/día	309,22±14,60	b
T4 Carbofurano 0,1 mg/Kg/día	291,10±19,60	c
Fo= 11.38	P< 0.05	

En la Tabla 1 se muestra los resultados de la evaluación del diámetro del túbulo seminífero en los cuatro Grupos con diferentes dosis. El grupo 4 con una dosis de

0,1 mg de Carbofurano, muestra diferencia significativa en cuanto al diámetro de los túbulos seminíferos ($291,10 \pm 19,60 \mu\text{m}$) en comparación con los demás grupos, así como el grupo control ($349,10 \pm 10,26 \mu\text{m}$).

3.2. EFECTO DEL CARBOFURANO EN LA ALTURA DEL EPITELIO SEMINÍFERO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY.

TABLA 2. Comparación del efecto de las diferentes dosis de carbofurano sobre la altura de epitelio seminífero de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley.

TRATAMIENTOS	MEDIA (um)	SIGNIFICANCIA
T1 Control	$176,05 \pm 14,12$	a
T2 Carbofurano 0.025 mg/kg/día	$168,80 \pm 12,71$	a
T3 Carbofurano 0,05 mg/kg/día	$91,13 \pm 20,25$	b
T4 Carbofurano 0,1 mg/Kg/día	$96,76 \pm 23,13$	b
Fo= 1.9	P < 0.05	

En la Tabla 2, se observa los promedios y sus respectivas desviaciones estándar de la altura del epitelio seminífero (mm), sometido a diferentes dosis de Carbofurano. Se detalla también los valores de la prueba estadística aplicada, “análisis de varianza de un factor”, con un Fo= 1.9 que al ser contrastado con el F de tabla muestra que existe diferencia estadística significativa ($P < 0.05$), en la altura del epitelio seminífero, específicamente los grupos 3 y 4 con dosis de Carbofurano de 0,05 y 0,1 mg/Kg/día, expresando una altura promedio de $91,13 \pm 20,25$ y $96,76 \pm 23,13$ respectivamente, en contraste con el control que expreso un promedio en la altura de $176,05 \pm 14,12$ del epitelio del tubo seminífero

3.3. ESTRUCTURA HISTOLOGICA DE TESTICULO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY. GRUPO 1 CONTROL

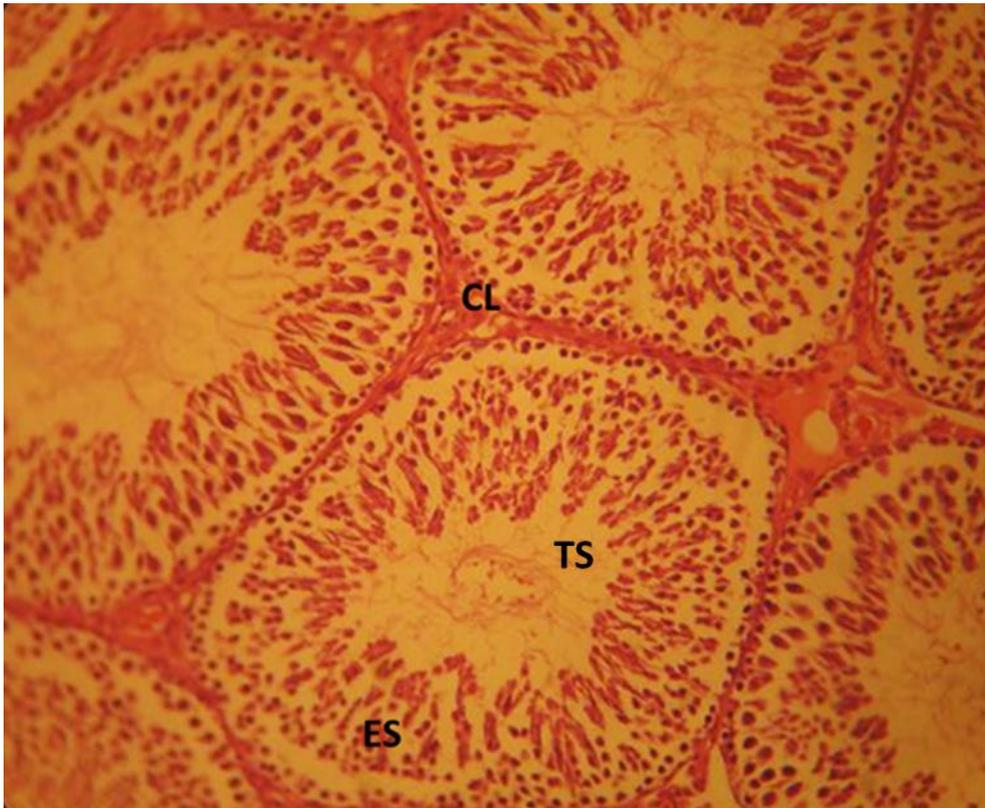


Figura N° 2. Estructura histológica de túbulos seminíferos de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley del Grupo control. Se observa la estructura histológica de la pared del tubo seminífero (TS), sin alteración; nótese el epitelio seminífero (ES) con las diferentes células en estado de desarrollo. Además se observa el espacio intersticial con células de Leydig (CL).

3.4. EFECTO DEL CARBOFURANO EN LA ALTURA DE LA PARED DEL TUBO SEMINIFERO DE TESTICULO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY. GRUPO 2.

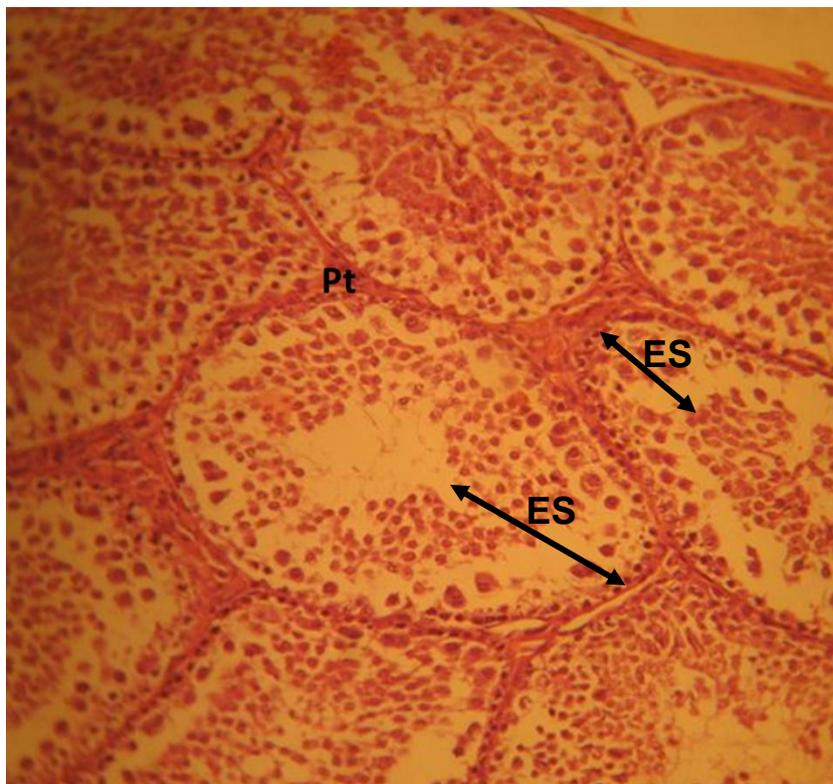


Figura 3. Estructura histológica de la Pared de los túbulos seminíferos de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley, con dosis de Carbofurano 0.025 mg/kg/día. Se observa una leve modificación en la altura del epitelio seminífero (ES) ocasionado por el Carbofurano a una dosis de 0.025 mg/Kg/día, además se logra observar un leve crecimiento del tejido conjuntivo peritubular (Pt).

3.5. EFECTO DEL CARBOFURANO EN LA ALTURA DE LA PARED Y DIAMETRO DEL TUBO SEMINIFERO DE TESTICULO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY. GRUPO 3.

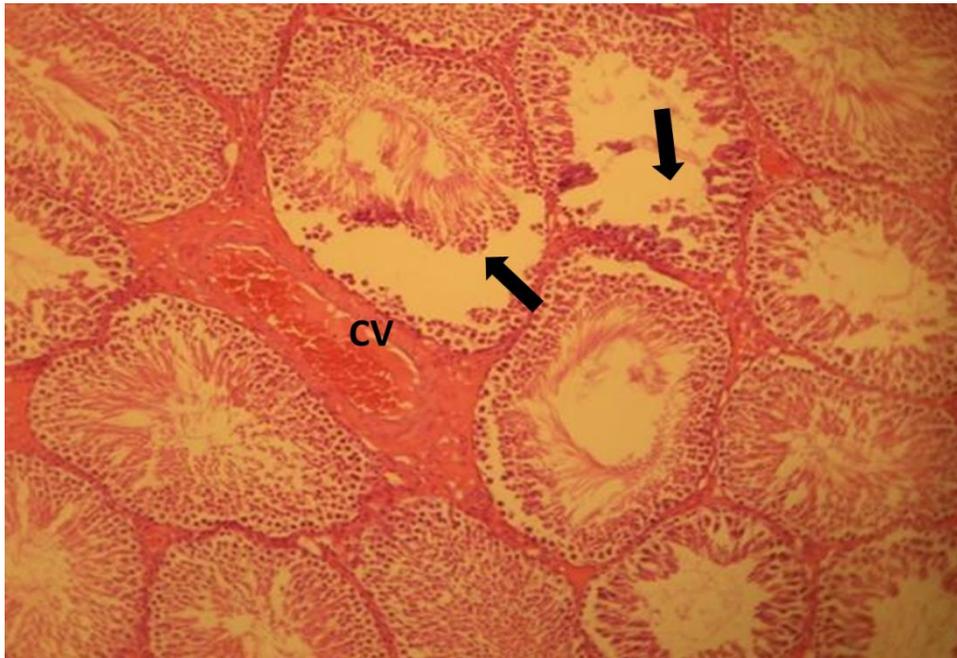


Figura 4. Estructura histológica de la Pared de los túbulos seminíferos de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley, con dosis de Carbofurano 0.05 mg/kg/día. Se observa disminución de la altura del tubo seminífero y reducción del diámetro (flechas), el epitelio seminífero muestra desarrollo incompleto. Además se observa congestión vascular severa (CV)

3.6. EFECTO DEL CARBOFURANO EN LA ALTURA DE LA PARED Y DIAMETRO DEL TUBO SEMINIFERO DE TESTICULO DE *Rattus norvegicus* VAR. SPRAGUE DAWLEY. GRUPO 4.

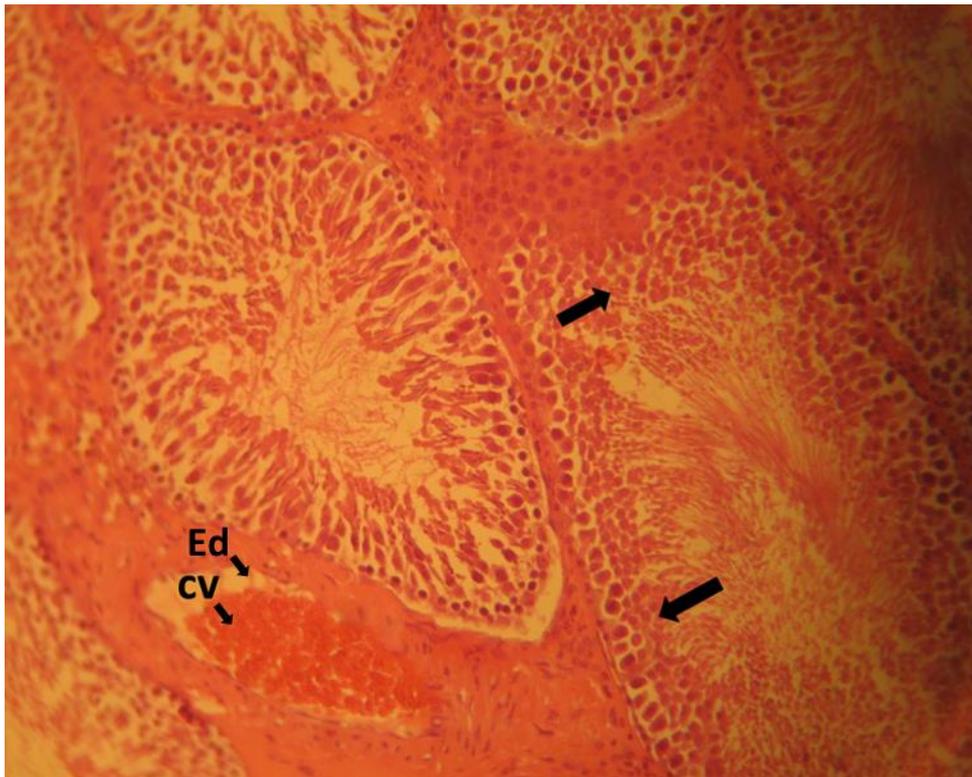


Figura 5. Estructura histológica de la Pared de los túbulos seminíferos de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley, con dosis de Carbofurano 0.1 mg/kg/día. Se observa la degeneración tubular, con una desorganización histológica interna del túbulo, manifestando una disminución de la altura del epitelio seminífero (flechas, la formación de Edema (Ed) y la congestión vascular severa (CV).

DISCUSION

Los plaguicidas son ampliamente empleados en actividades agrícolas para la protección de cultivos. Inevitablemente, estos agroquímicos entran en los compartimentos ambientales debido a la difusión o contaminación de fuentes puntuales. Este último está vinculado a un mal manejo de los residuos de equipos usados en la aplicación y su limpieza, práctica que se considera como actividad crítica en términos de riesgo de contaminación ambiental (Hidalgo et. al. 2016).

Los efectos de los agroquímicos son variables y es difícil medir su impacto real, dado que sus acciones están en relación al tiempo de exposición, dosis, vulnerabilidad específica de cada especie y de cada individuo, más aun cuando uno de los blancos de actuación viene a ser las gónadas sexuales tanto masculinas como femeninas, alterando el proceso de la reproducción y poniendo en peligro el aseguramiento de la perpetuidad de las especies silvestres, en especial mamíferos terrestres, importantes en el cumplimiento de funciones vitales en los diferentes ecosistemas de nuestro medio.

Una de las gónadas afectadas por la acción residual de los plaguicidas en el ambiente, corresponde a los testículos quienes realizan dos funciones vitales, de alta demanda de energía, a saber, la espermatogénesis y la esteroidogénesis. Ambos fenómenos fisiológicos se producen dentro de los túbulos seminíferos y el intersticio, respectivamente. Estos dos compartimentos son morfológicamente distintos, pero están conectados funcionalmente. Los testículos son dos órganos del sistema reproductor masculino el cual está formado por una red de tubos los cuales transportan el líquido seminal.

El tubo seminífero es un tubo muy plegado hueco. Su pared está compuesta por una capa delgada de tejido conectivo. Contiene un epitelio seminífero; conocido como epitelio germinal tiene varias capas de espesor; está formado por 2 tipos celulares, las células de Sertoli y las espermatogénicas. Estas últimas se

encuentran en diversas etapas de maduración por lo tanto son las más afectadas al contacto con el plaguicida suministrado. (Lesly C Gardner; 2005).

En el presente estudio, las reducciones del diámetro del túbulo seminífero y la altura de las células epiteliales se asociaron con el incremento de dosis de Carbofuranos en el número de células nodrizas o de Sertoli donde éstas se atrofian y más aún disminuirían por aumento de la dosis de este plaguicida, en consecuencia disminución de la actividad hormonal y de regulación de la espermatogénesis.

Estudios hechos anteriormente con Carbofuranos demostraron que este plaguicida artificial provoca alteraciones nucleares, desordenes citogenéticos en células somáticas y germinales, alterando los procesos de espermatogénesis. La oxidación de grupos Sulfhídrido los cuales se originan de los Carbamatos como el Carbofurano son altamente electrofilicos y se pueden unir covalentemente a muchas biomoleculas tales como las proteínas, y los propios ácidos nucleicos; ARN y ADN. Este efecto de alquilación induce a mutagénesis, trayendo como consecuencia una disrupción de la morfología espermática, provocada también por la alteración general de los túbulos seminíferos.

El grupo de insecticidas de Carbamatos son tóxicos y tienen mecanismos similares a los organofosforados, pero los primeros tienen una duración y acción mucho más corta y por lo tanto son menos tóxicos. También se ha demostrado que los Carbofuranos poseen toxicidad para la reproducción en ratones hembra con efectos adversos en ciclo estral y folicular (Baligar y Kaliwal, 2002)

Goad et al., (2004), en su experimentación con dosis (2 veces por semana) de 1 a 5 mg/kg de peso de Carbofurano, demostró que los niveles de progesterona, cortisol, estradiol y aumentaron significativamente (1,279%, 202% y 150%, respectivamente), mientras que los niveles de testosterona disminuyeron en 88%. Chapin *et al.*, (1990) y Bustos-Obregón et. al. (2003), manifiestan que la reducción de la hormona testosterona producida por las células de Leydig, circunstancia provocada por la administración de Malatión, pueden haber inhibido la actividad de esterasas no específicas, reduciendo la producción de esteroides masculinos, repercutiendo en la disminución total del tejido interno del túbulo seminífero. Resultados que coinciden con los de nuestra investigación, donde la disminución de testosterona provocada por la administración de Carbofuranos sería la razón

del decremento tanto del diámetro del túbulo seminífero en el tratamiento 4, con dosis de Carbofurano de 0,1 mg/Kg, y un diámetro promedio de $291,10 \pm 19,60$ μm , observándose diferencias significativas en comparación con el control que expreso un diámetro promedio de $349,10 \pm 10,26$ μm . Así mismo se debe destacar que este posible descenso de producción de la hormona esteroidea masculina como es la Testosterona, habría provocado una disminución significativa de la altura del epitelio seminífero del tratamiento 4, con dosis de Carbofuranos de 0,1 mg ($96,76 \pm 23,13$ μm) en relación al control, quien mantiene una altura mayor de células germinativas como es de $176,05 \pm 14,12$ μm , entendiéndose que el proceso de la espermatogénesis sería alterado directamente por la acción de los Carbofuranos quienes reducirían la población de células espermatidas, por condensación nuclear y posteriormente degeneración ultratestructural de células germinales como las espermatidas, considerando que éstas se ubican hacia la luz del túbulo, por lo tanto disminuyendo la altura del epitelio conforme aumenta la dosis del insecticida.

En relación a la arquitectura histológica del testículo de *Rattus norvegicus* var. Sprague Dawley y puntualmente los túbulos seminíferos tratados con diferentes dosis de Carbofuranos, se puede observar el mayor daño a nivel del tratamiento 4, con dosis de 0,1 mg de Carbofuranos, (Fig N°5), presentando edemas y congestión vascular, esto sucedería debido a la generación de estrés oxidativo provocado por el Carbofurano, tal como lo manifiesta Kamboj et al. (2006), quien informo de un aumento del estrés oxidativo después de la exposición Carbofurano en diferentes regiones del cerebro de la rata. Milatovic et al. (2005), también han demostrado que el tratamiento con Carbofurano produce estrés oxidativo debido a un aumento marcado en las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, en los músculos esqueléticos.

El daño al ADN celular por peroxidación de grasas juega un papel importante en la lesión celular y las funciones celulares alteradas, lo que conlleva a la apoptosis celular; fenómenos moleculares que habrían provocado lesiones tisulares en consecuencia alterando la estructura histológica del tejido vascular circundante a los túbulos seminíferos generando la aparición de congestión y edemas en el túbulo seminífero con las dosis altas (0,05 mg y 0,1 mg) de tratamiento con Carbofuranos.

La disminución del factor energético es importante considerar a nivel de metabolismo celular en el epitelio seminífero de testículos de rata , que habría generado una disminución de la proliferación celular normal, inducida por la hormona testosterona, principalmente en los tratamientos con dosis altas de Carbofurano, ya que de acuerdo con datos de la literatura sobre los efectos subagudos de Carbofurano en ratas, se atribuye que el aumento en la actividad de las transaminasas de suero se debe a una fuga de la enzima a partir de tejido, lo que probablemente se produce como resultado en la reducción de los niveles considerablemente de fosfatos de alta energía (ATP y ADP) y la fosfocreatina, que son indispensables para el mantenimiento de la permeabilidad, la integridad y otras características importantes de las membranas celulares (estabilidad, características electrofisiológicas) (Gupta 1994; Sunil et. al. 2016).

CONCLUSIONES

- El Carbofurano, administrado en dosis de 0,05 mg y 0,1 mg/kg/día, provocan disminución significativa en el diámetro de túbulos seminíferos con respecto al control en testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley
- La altura del epitelio seminífero de testículo de *Rattus norvegicus* Var. Sprague Dawley se ve disminuida significativamente con la administración de 0,1 mg/kg/día de Carbofurano.
- Las alteraciones histológicas encontradas en los diferentes Grupos con dosis de Carbofurano corresponden a desorganización de las células del tubo seminífero; disminución de la altura y diámetro del tubo seminífero así como congestión vascular y edema.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar cantidad y actividad esteroidogénica en el tejido testicular, sometido al efecto de administración de Carbofurano
2. Evaluar la calidad seminal y viabilidad de los espermatozoides con iguales dosis de Carbofurano.

BIBLIOGRAFIA

1. **A. Kamboj, R. Kiran, R. Sandhir.** 2006. Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by N-acetylcysteine, *Exp. Brain Res.* 170 567–575.
2. **Adam A, Marzuki A, Abdul Rahman H, Abdul Aziz M.** 1997. The oral and intratracheal toxicities of ROUNDUP and its components to rats. *Vet Hum Toxicol* 39(3):147-151.
3. **Antonio de la Iglesia Huerta, Pedro Delgado Cobos.** 2013 Plaguicidas: Neurotoxicidad y vigilancia de la salud. Centro Nacional de Medios de Protección. Sevilla-INSHT
4. **Bacha, W.; L. Bacha.** 2001. Atlas color de Histología Veterinaria. Segunda edición. Colombia
5. **Baligar, P.N., Kaliwal, B.B.** 2002. Reproductive toxicity of carbofuran to the female mice: effects on estrous cycle and follicles. *Ind. Health* 40, 345–352.
6. **Benítez D.E.** 2006. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigación Biomédica.*25(2).
7. **Boskovic, D., Vitorovic, S.Lj., Karan, V., Neskovic, N.K.** 1997. Carbofuran Toxicity to Rats in Subchronic Exposure. In: XXXVI European Congress of Toxicology: Diversification in Toxicology—Man and Environment Aarhus, Denmark (Abstract: *Pharmacol Toxicol* No. P4-23).
8. **Brkic, D.; Slavoljub Lj. Vitorovic, Slavica M. Gasić, Nesko K. Neskovi.** 2008. Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 25 334–341
9. **Bustos-Obregón, E. & González-Hormazábal, P.** 2003. Effect of a single dose of malathion on spermatogenesis in mice. *Asian J. Androl.*, 5:105- 7.
10. **Caserta D, Mantovani A, Marci R, Fazi A, Ciardo F, La Rocca C, Maranghi F, Moscarini M.** 2011. Environment and women's reproductive health. *Hum Reprod Update.* 17 (3): 418-433.
11. **Chapin, R. E.; Phelps, J. L.; Somkuti, S. G.; Heindel, J. J. & Burka, L. T.** 1990. The interaction of Sertoli and Leydig cells in the testicular toxicity of tri-o-cresyl phosphate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 104:483-95.

12. **Chauhan, L.K.S., Pant, N., Gupta, S.K., Srivastava, S.P.** 2000. Introduction of chromosome aberrations, micronucleus formation and sperm abnormalities in mouse following carbofuran exposure. *Mutat. Res.* 465, 123–129.
13. **Córdoba, D.** 2001. *Toxicología Bogotá, El Manual Moderno.* 107-147.
14. **Cotran R, Kumar V, Robbins S.** 1997. *Patología Estructural y Funcional.* Quinta Edición. Madrid-España. Editioal Mc Graw Hill.
15. **Curtis KM, Savitz DA, Weinberg CR, Arbuckle TE.** 1999. The effect of pesticide exposure on time to pregnancy. *Epidemiology;* 10:112-117.
16. **Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D.** 1992. Effect of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian J Exp Biol* 30:65–7.
17. **Desarrollos de Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente correspondientes a Carbofurano.** 2003. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, República Argentina.
18. **Di Fiore MSH** 1996. *Atlas de Histología Normal.* 7ma ed. Ed. El Ateneo Buenos Aires
19. **Ecotoxicological.** 2016. Analysis during the removal of carbofuran in fungal bioaugmented matrices. *Chemosphere* 144 864–871
20. **Espinoza-Navarro, Omar; Rodríguez Bustos, Hector; Kemble Molina, Hector.** 2015. Effect of Malatión insecticide on testicular germinal epithelium of cf1 mice. *INTERCIENCIA* Volumen: 40 Número: 8 Páginas: 560-563
21. **Fawcett DW. Bloom-Fawcet.** 1994. *Tratado de Histología* (1994) 12va ed. Ed Interamericana-Mc Graw-Hill México.
22. **Gartner, L.P.; Hiatt, J.L.** 1995. *Atlas Color de Histología* 2da.ed; Ed. Panamericana Buenos Aires
23. **Geneser F.** 2000. *Histología sobre Bases Biomoleculares* 3ra.ed.; Ed. Panamericana, Buenos Aires.
24. **Geng, Xiao; Shao, Hua; Zhang, Zhihu.** 2015. Malatión-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male wistar rats. *ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY* Volumen: 39 Número: 2 Páginas: 659-667

25. **Goad, R.T., Goad, J.T., Atieh, B.H., Gupta, R.C.** 2004. Carbofuran-induced endocrine disruption in adult male rats. *Toxicol. Mech. Methods* 14, 233–239
26. **Guide laboratory animals for the care and use.** 2011. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research. Washington DC.
27. **Gupta R.C., Goad, J.T., Kadel, W.L.**1994. In vivo acute effects of carbofuran on protein, lipid, and lipoproteins in rat liver and serum. *J. Toxicol. Environ. Health* 42, 451–462.
28. **J.M. Gentile, G.J. Gentile, J. Bultman, R. Sechriest, E.D. Wagner, M.J. Plewa.** 1982. An evaluation of the genotoxic properties of insecticides following plant and animal activation, *Mutat. Res.* 101 (19–29).
29. **K. Rai; Prashant K.; Rai; Rizvi, S; GeetaWatal, BechanSharma.** 2009. Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61 (531–535).
30. **Kamboj A, Kiran R, Sandhir.** 2006. R.N-acetyl cysteine ameliorates carbofuran induced alterations in lipid composition and activity of membrane bound enzymes. *Mol Cell Biochem* 286:107–14
31. **Lu FC.** 1995. A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by WHO. *Regul Toxicol Pharmacol* 21:352–364.
32. **Maldonado A.; Martínez A. L.** 2007. Impacto de las fumigaciones aéreas en las bananeras de Las Ramas- Salitre-Guayas. Anexo 7. Acción Ecológica, FEDES, Red Juvenil de Salitre. Ecuador. Disponible en: Base de datos RAP-AL, www.rap-al.org
33. **Milatovic, R.C. Gupta, A. Dekundy, T.J. Montine, W.D. Dettbarn.** 2005. Carbofuran induced oxidative stress in slow and fast skeletal muscles: prevention by memantine and atropine, *Toxicology* 208 13–24.
34. **N. Gera, R. Kiran, A. Mahmood.** 2009. Subacute effects of carbofuran on enzyme function in rat small intestine, *Toxicol. Mech. Meth.*19 141–147
35. **Pessoa, K.H. Luchmann, Ribeiro, Verasa, Correa. A.J. Nogueira, A. C. D. Bainyb, P. Carvalho.** 2011. Cholinesterase inhibition and behavioral toxicity of carbofuran on *Oreochromis niloticus* early life stages. *Aquatic Toxicology* 105 312– 320

- 36. Podolska. M.; Mulkiewicz. E.; D. Napierska.** 2008. The impact of Carbofuran on acetylcholinesterase activity in *Anisakis simplex* larvae from Baltic herring. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91 104–109
- 37. Ross MH, Kaye GI Y Pawlina W.**2007.Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular 4ta ed. Ed Panamericana BsAs
- 38. Ruiz-Suárez, R.; Boada, L.; Henríquez-Hernández L.; González-Moreo F.; Suárez-Pérez A.; Camacho, M.; Zumbado, M.; Almeida-González M.;Travieso-Aja,M.; Luzardo, O.** 2015. Continued implication of the banned pesticides carbofuran and aldicarb in the poisoning of domestic and wild animals of the Canary Islands (Spain). *Science of the Total Environment* 505 1093–1099
- 39. Sánchez Martín, M. J.; Sánchez Camazano M.** 1994. Los plaguicidas Adsorción y Evolución en el Suelo, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología.
- 40. Sistema Integrado de Información Agropecuaria.** 2011. Programa de Servicios Agrícolas Provinciales, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Disponible en: <http://dev.siaa.gov.ar/series>.
- 41. Stevens, A.; Lowe J.**1993. Texto y atlas de Histología, 1ra.ed. en español Ed. Mosby/Doyma ,Hong Kong.
- 42. Sunil Kumar Jaiswal, Nikhat Jamal Siddiqi, Bechan Sharma.** 2016. Studies on the ameliorative effect of curcumin on carbofuran induced perturbations in the activity of lactate dehydrogenase in wistar rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- 43. Tortora Derrickson.** 2006. Principios de Anatomía y Fisiología. 11ª Edición. Editorial Médica Panamericana. México.