

Revista Electrónica Nova Scientia

Nivel tecnológico de invernadero y riesgo para
la salud de los jornaleros

Technological level of greenhouses and risk to
the health of workers

**Ortega Martínez L. D.¹, Martínez Valenzuela C.²,
Waliszewski S. M.², Ocampo Mendoza J.³, Huichapan
Martínez J.², El Kassis E.¹, Soto Ruiz G.² y Pérez
Armendáriz B.¹**

¹Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla.

²Instituto de Investigación en Ambiente y Salud, Universidad de Occidente. Los Mochis.

³Colegio de Posgraduados. Campus Puebla.

Mexico

Beatriz Pérez Armendáriz. Email: beatriz.perez@upaep.mx

Resumen

Introducción: Los invernaderos se clasifican por niveles alto, medio o bajo según las tecnologías que se le adapten, con la que se crean condiciones óptimas de radiación, temperatura, humedad y dióxido de carbono que permiten mejorar la producción agrícola, así como el desarrollo de organismos perjudiciales que se combaten aplicando plaguicidas, exponiendo a los jornaleros a sus vapores y residuos.

Método: Se determinó el daño genotóxico en muestras de células epiteliales de exfoliación bucal de los jornaleros a través del ensayo de micronúcleos, de 40 jornaleros expuestos a plaguicidas, 20 laboraron en invernaderos de baja tecnología y 20 en invernaderos de tecnología alta.

Resultados: Los de baja tecnología mostraron resultados más altos de frecuencias para todas las anormalidades nucleares comparando con el grupo control, especialmente de cromatina condensada, picnosis, cariólisis y micronúcleos. Al calcular el riesgo, se midió las frecuencias de micronúcleos en razón de probabilidades (OR), para los jornaleros de invernaderos de alta tecnología el OR = 17.06 (95 % IC 3.4-83.7) y de baja tecnología OR = 50.66 (% IC 7.5-341.7).

Conclusión: Los resultados indican que los jornaleros que laboran en invernaderos de baja tecnología muestran una mayor frecuencia de células con anormalidades nucleares, debido al efecto de condiciones laborales y exposición a los plaguicidas.

Palabras clave: Exposición, jornaleros de invernaderos, micronúcleos, plaguicidas

Recepción: 17-10-2016

Aceptación: 05-12-2016

Abstract

Introduction: The greenhouses are classified by under high levels or as technologies to be adapted to create optimal conditions of radiation, temperature, humidity and carbon dioxide that improve agricultural production and the development of organisms harmful that fight applying pesticides, exposing laborers to vapors and waste.

Method: The cytotoxic damage was determined in samples of oral epithelial cells exfoliation of day laborers through the micronucleus assay, 40 laborers exposed to pesticides, 20 worked in greenhouses low-tech and high-tech 20.

Results: The low-tech results showed higher frequency for all nuclear abnormalities compared to the control group, especially of condensed chromatin, picnosis, karyolysis and micronuclei. In calculating the risk, the frequency of micronuclei was measured at odds ratio (OR) for laborers in high-tech greenhouses OR = 17.06 (95 % CI 3.4-83.7) and low-tech OR = 50.66 (% CI 7.5 - 341.7).

Conclusion: The results indicate that the laborers who work in low-tech greenhouses show a higher frequency of cells with nuclear abnormalities, due to the effect of working conditions and exposure to pesticides.

Keywords: Exposure, laborers greenhouses, micronuclei, pesticides

Introducción

Para optimizar la producción agrícola en el desarrollo y crecimiento de plantas, se utilizan los invernaderos los cuales establecen condiciones óptimas de radiación, temperatura, humedad y dióxido de carbono (Castañeda *et al.*, 2007, 317). Para cumplir con este fin, se utilizan películas plásticas, sustratos y sistemas de automatización climática (Matallana y Montero, 2001, 209). Por la adaptación de tecnologías en los invernaderos, éstos se clasifican en niveles de acuerdo al uso de tecnología en: bajo, medio y alto nivel (Pieter de Rijk 2008, 1; García *et al.*, 2011, 193).

Las tecnologías implementadas, influyen principalmente en las condiciones ambientales generadas en el interior del invernadero, reflejadas en el aumento de la producción así como en el crecimiento y desarrollo de organismos tanto benéficos como perjudiciales. Éstas, se manifiestan como plagas y enfermedades, cuya presencia implica mayor riesgo económico por tratarse de un sistema intenso de producción. Por ello, el productor recurre de manera continua al uso de plaguicidas para eliminar dichos riesgos (Muiño *et al.*, 2007, 1; Sonneveld y Voogt 2009, 1; Ortega *et al.* 2014, 3; Reinoso, 2015, 147). La aplicación de agroquímicos origina la exposición de los jornaleros, siendo ésta un problema importante de contaminación al ambiente y eminente riesgo para la salud de los trabajadores (Bortoli *et al.*, 2009, 1; Muñoz, 2011, 95).

Los jornaleros que laboran en invernaderos, están expuestos ocupacionalmente a los plaguicidas que se aplican a través del contacto y a sus vapores aspirando el aire contaminado. Por las condiciones sociales y culturales de los jornaleros, desconocen la actividad tóxica de plaguicidas minimizando el riesgo para su salud (Tinoco y Halperin, 2001, 93; Haro *et al.*, 2002, 19; Ortega *et al.*, 2014, 3). Aunado a que es frecuente que no respetan o no conocen las instrucciones del uso y manejo de los agroquímicos, aumentando así la probabilidad de afectación para la salud (Acaccia *et al.*, 2003, 1; Sammons *et al.*, 2005, 1).

Anteriormente se han desarrollado diversos estudios de biomonitoreo en grupos humanos expuestos a plaguicidas en invernaderos utilizando una variedad de biomarcadores como: aberraciones cromosómicas, estudio de micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y el ensayo cometa. Estas investigaciones encontraron una relación positiva (Falck *et al.*, 1999, 225; Gómez *et al.*, 2000, 17; Bolognesi *et al.*, 2002, 391; Castillo *et al.*, 2006, 1; Costa *et al.*, 2006,

343; Peralta *et al.*, 2011, 7) así como una relación negativa (Lucero *et al.*, 2000, 255; Pastor *et al.*, 2001, 539; Bolognesi *et al.*, 2003, 251; Piperakis *et al.*, 2003, 104; Bolognesi *et al.*, 2004, 109; Piperakis *et al.*, 2006, 355; Lamadrid Boada *et al.*, 2011, 235), con la intensidad de la expresión del biomarcador. Las discrepancias en los resultados pueden ser originadas por las características sociodemografías y biográficas así como por las condiciones ambientales, presentes en el interior del invernadero, las cuales se asocian con el implemento de tecnologías aplicadas que modifican las condiciones de exposición y el comportamiento de los plaguicidas en el interior del invernadero. El comportamiento de los plaguicidas rociados en el sistema cerrado del invernadero, es muy diferente comparando con el sistema de cultivo convencional al aire libre donde las condiciones ambientales promueven la degradación y/o dispersión de los mismos (Wu *et al.*, 2013, 843; Bojacá *et al.*, 2013, 403; Sonneveld y Voogt, 2009, 1). La constante exposición de los jornaleros en invernaderos por la inhalación, absorción dérmica o ingestión oral (Benítez *et al.*, 2010, 97) en espacios cerrados favorece el proceso de absorción de sustancias tóxicas, lo que se refleja en el daño citogenético (Costa *et al.*, 2006, 343; Peralta *et al.*, 2011, 7).

Para considerar los posibles riesgos en la salud de los trabajadores expuestos a plaguicidas en invernaderos, es esencial contar con biomarcadores confiables y mínimamente invasivos. En este sentido, el ensayo de micronúcleos (MN) de células de exfoliación bucal, es reconocido como una valiosa herramienta para determinar la presencia de micronúcleos los cuales son fragmentos o cromosomas completos que quedan fuera del núcleo durante la mitosis así como otras anormalidades nucleares como son las: células binucleadas, células picnóticas, células con brotes nucleares, células cariolíticas, células con condensación de cromatina y células cariorréxicas. Estas anormalidades, se relacionan con la citotoxicidad presente en el organismo y son una evidencia de daño de origen clastogénico. Encuentran su utilidad en estudios epidemiológicos de biología molecular, para investigar el estilo de vida, el impacto de la nutrición, la exposición a sustancias químicas y ambientales, exposición a genotoxinas del ADN (Holland *et al.* 2008, 93; Thomas *et al.*, 2009, 825; Martínez *et al.*, 2015, 397).

El objetivo de este trabajo fue determinar el daño genotóxico visto en muestras de células epiteliales de exfoliación bucal a través del ensayo de micronúcleos, así como evaluar el riesgo

para la salud en personas expuestas a los agroquímicos utilizados en invernaderos de alta y baja tecnología en Atlixco, Puebla, México.

Método

El monitoreo se realizó en el municipio de Atlixco, localizado en el centro Oeste del estado de Puebla, altitud promedio de 1840 msnm, 18 49 30 y 18 58 30 LN y 98 18 24 y 98 33 36 LO. El criterio para seleccionar los invernaderos, se basó en el inventario del estado de Puebla (SAGARPA, 2008, 1). Los invernaderos seleccionados representaban una superficie sembrada de 5.000 m² y 7.000 m² para la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) utilizando baja y alta tecnología respectivamente, clasificados de acuerdo a García *et al.* (2010, 509). Para el estudio, se seleccionaron 40 jornaleros que han laborado entre 3 y 4 años en los mismos, fueron informados sobre el objetivo del estudio y aceptaron participar voluntariamente mediante la firma de un consentimiento informado. A los participantes, se les aplicó un cuestionario de manera individual sobre sus condiciones laborales, socioculturales y biográficas. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla.

A los participantes, se les solicitó enjuagar la boca con agua, posteriormente mediante un raspado con una espátula estéril, se obtuvieron células epiteliales de descamación de la mucosa bucal. Las muestras se colocaron en laminillas previamente codificadas para evitar el sesgo durante el conteo y se dejaron secar al aire libre, se fijaron con metanol-ácido acético (3:1), para su posterior tinción mediante la reacción de Feulgen descrita por Stich y Rosin (1984, 241) y Stich (1987, 1). Las anormalidades nucleares, se evaluaron de acuerdo con el procedimiento de Stich y Rosin (1984, 241) y Martínez *et al.* (2009, 1155) observando en el microscopio de campo claro de 1000 células por participante con núcleos bien definidos en cada muestra, con el fin de determinar la frecuencia de micronúcleos (MN) y otras anormalidades nucleares como: picnosis, cromatina condensada, brotes nucleares, cariolisis, y células binucleadas. Las células degeneradas no se contaron para el estudio. El conteo y la clasificación se realizó de acuerdo a Tolbert *et al.* (1992, 840) y Thomas *et al.* (2009, 825), para determinar la frecuencia de MN y otras anormalidades nucleares. Para evitar el sesgo en el conteo de las laminillas, éste se realizó por dos personas entrenadas para este fin. Los criterios de clasificación, se realizaron de acuerdo a la forma típica y el tamaño de la célula con un núcleo celular y citoplasma claramente definidos

(Reali *et al.*, 1987, 145). Las identificaciones de anomalías nucleares, se basaron en la morfología y localización en la célula.

En los invernaderos participantes, se monitoreó durante 90 días la humedad relativa, la temperatura y radiación mediante un datalogger CEM DT-171® y un luxómetro Hanna HI97500®.

Los resultados obtenidos, se analizaron con el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Versión 19.0) para medir las variables cuantitativas. Se utilizaron medidas de tendencia central, para comparar la frecuencia de micronúcleos y otras anomalías entre el grupo no expuesto con los jornaleros expuestos en invernaderos de alta y baja tecnología. Se aplicó la prueba paramétrica t-Student para los grupos independientes. Además, se calculó la relación de variable por laborar en invernadero con tecnología y sin tecnología en la cantidad de micronúcleos, por medio de una medida del tamaño del efecto en razón de probabilidades (OR). Las variables elucidadas por el cuestionario, que podrían influir en la magnitud de anomalías nucleares, se sometieron a un análisis de correlación para determinar una relación explicativa o de predicción.

Resultados

En el estudio participaron 40 jornaleros que laboraron en los invernaderos de Atlixco, Puebla (19 mujeres y 21 hombres, con una edad promedio de 28.9 y 29.8 años respectivamente) expuestos ocupacionalmente a plaguicidas en el cultivo de tomate. El grupo control de 40 participantes (20 mujeres y 20 hombres con edad promedio de 28.1 y 30.2 años respectivamente), no expuestos a plaguicidas, dedicados a la administración y comercio. De los jornaleros expuestos a plaguicidas, 20 laboraron en invernaderos de baja tecnología, tipo para clima templado con ventana cenital, con nulos controles climáticos, sistema de producción en el suelo con acolchado plástico y sistema de riego por goteo. En el interior del invernadero de baja tecnología, se registraron las temperaturas de 22.3°C, 47% de humedad relativa (HR) y 750 watt/m² promedio. Los 20 jornaleros que laboraron en invernaderos de alta tecnología, fueron de tipo gótico, el cual permite mayor volumen de aire e iluminación interior, con sistema de producción hidropónico en sustrato perlita, con el riego por goteo programado, control automatizado de temperatura, humedad

relativa (HR) e inyección de CO₂. Las actividades agronómicas, se apegaron a los protocolos de manejo agroecológico e integrado de plagas. Las condiciones promedio de temperatura fueron 19.9°C, 55.9% (HR) y 640 watt/m².

Los jornaleros participantes realizaron actividades propias del sistema productivo de tomate (Tabla 1) y declararon estar expuestos a distintos agroquímicos Tablas 2 y 3. Todos los jornaleros de invernaderos de alta tecnología fueron capacitados para el manejo de los agroquímicos, 12/20 asperjaron plaguicidas, productos fitosanitarios y fertilizantes, sin embargo, todos los jornaleros participantes de baja tecnología no supieron distinguir entre los tipos de agroquímicos y su acción tóxica ya que no fueron capacitados para ello (Tabla 2).

Tabla 1. Capacitación de los jornaleros para labores de invernaderos.

Variable	Nivel tecnológico	
	Bajo	Alto
Expuesto a plaguicidas	20/20 = 100%	20/20 = 100%
Aplica plaguicidas	5/20 = 25%	12/20 = 60%
Utiliza equipo de protección completo	0/20 = 0%	20/20 = 100%
Ropa exclusiva para trabajo	0/20 = 0%	20/20 = 100%
Trabajo en labores agronómicas	20/20 = 100%	20/20 = 100%
Sabe que agroquímicos aplica	0/20 = 0%	20/20 = 100%
Capacitación para el uso y manejo de plaguicidas	0/20 = 0%	20/20 = 100%

La estructura de los invernaderos y la tecnología empleada generan diferentes condiciones ambientales, por lo que se desarrollan distintas plagas y enfermedades. Para su control, se emplea una variedad de plaguicidas Tablas 2 y 3. En su aplicación, los jornaleros de invernaderos de alta tecnología utilizan el equipo de protección, mientras tanto todos los jornaleros de invernaderos de baja tecnología aplican los agroquímicos sin equipo de protección.

Tabla 2. Principales plaguicidas utilizados durante el ciclo agrícola 2015-2016 en invernaderos de baja tecnología.

Nombre comercial [®]	Tipo	Ingrediente activo	Clasificación de peligrosidad
Ridomil	F	Metalaxil-M + Mancozeb	III
Prozycar. Derosal	F	Carbendazim: Metilbenzimidazol-2-il carbamato	IV
Nenz full	B/F	metilen bistiocianato + 2tiociantametiltio	II
Majesty. Gruindag	N	Polisacaridos y MOs. Extractos halogenados, polihidroxicarbonicos, quillaja, Paecilomyces lilacinus	IV
Quiyaplus Babsabio			
Vydate L	I/A/N	S-metil N',N'-dimetil-N-(metilcarbamoiloxi)-1-tio-oxamimidato	II
Admire. Profidor 350. Confol.	I	Imidacloprid	
Previcur. Helmfidor			II
Kelpak, Radix1000	RCV	Alga marina eklonia máxima, Ácido indol-3-butírico (4-(1 H-indol-3-yl) butyric acid)	IV

F = funguicida, B = bactericida, N = nematocida, I = insecticida, RCV = regulador de crecimiento vegetal A = acaricida. WHO (2009): I= extremadamente peligroso, II= altamente peligroso, III= moderadamente peligroso, IV=ligeramente peligroso.

Tabla 3. Principales plaguicidas utilizados durante el ciclo agrícola 2015-2016 en invernaderos de alta tecnología

Nombre comercial [®]	Tipo	Ingrediente activo	Clasificación de Peligrosidad
Azanim	I	Azaridactina	IV
Beleaf	I	Flonicamid	IV
Belt	I	Flubendiamide	III
Benevia	I	Ciantraniliprol	IV
Biodie	I	Argemonina, Berberina Ricinina, A-Terthienyl	IV
Btkrone	I	Bacillus thuringiensis	IV
Epa 90	I	Aceite vegetal de semilla de soya	IV
Movento	I	Spirotetramat	IV
Clorimex	F	Clorotalonil	IV
Coloid	F	Sulfato de cobre pentahidratado	IV
Cupravit hidro	F	Hidróxido cúprico	IV
Cuprimicin 17	F	Sulfato de estreptomicina	IV
Forum	F	Dimetoform	IV
K3	F	Cymoxanil+hidroxico cuprico*mancozeb	IV
PHC t-22	F	Trichoderma harzianum cepa t-22	IV
Serenade	F	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	IV
System max	F	Extracto alcohólico de mimosa + Quercus	IV

Biobacter	B	Aceites vegetales, terpenos, Ácidos grasos, <i>Bacillus</i> spp.	IV
Mega	B/F	Extracto de <i>Larrea tridentata</i> L.	IV
Fullkover	ID	Jasmonatos de origen vegetal	IV
Ajick 950	R	Extracto de ajo	IV
Striker	R	Aceite esencial de canela y de vegetales	IV
Di+A14:D25ox	D	Dióxido de cloro	IV
Spectra 12	B	Equinacea+tomillo+manzanilla	IV

F = funguicida, B = bactericida, N = nematocida, I = insecticida, RCV = regulador de crecimiento vegetal. ID = inductores de resistencia Repelente, Desinfectante. CP = clasificación de peligrosidad según WHO (2009): I= extremadamente peligroso, II= altamente peligroso, III= moderadamente peligroso, IV= ligeramente peligroso,

Los invernaderos de baja tecnología indicaron como principal plaga la presencia de *Bemisia tabaci* que impacta disminuyendo el rendimiento para eliminarla se utiliza principalmente imidacloprid en ocho diferentes formas comerciales. Por su parte, los jornaleros de alta tecnología mencionaron la presencia de *Pseudomona currugata*, el cual no representó una amenaza para el cultivo. No obstante, al presentarse niveles umbrales que pudieran poner en riesgo el cultivo, se utilizaron plaguicidas, pero previo su uso, se aplicaron trampas monocromáticas, extractos botánicos, repelentes e inductores de resistencia enlistados en la Tabla 3.

Estudio de micronúcleos

A todos los jornaleros de invernaderos, en las muestras tomadas del epitelio bucal, se les realizó un estudio de micronúcleos (MN), cuyos resultados se muestran en la Tabla 4. Los trabajadores de invernaderos de baja tecnología, mostraron diferencias significativamente más altas para todas las anomalías nucleares ($p < 0.05$) entre el grupo control y entre ambos grupos de jornaleros. Este resultado reveló que los jornaleros de invernaderos con baja tecnología están altamente contaminados y expuestos a las sustancias químicas aplicadas en los cultivos de tomate.

Tabla 4. MN y anomalías nucleares en jornaleros de invernaderos de alta y baja tecnología comparados con el grupo control.

Variable	CO	$\bar{x} \pm ES$			<i>p</i>	
		IAT	IBT	C-IAT	C-IBT	IAT-IBT
MN	1.7 \pm 0.3	2.5 \pm 0.3	6.8 \pm 0.9	0,07	0.00*	0.00*
Picnosis	12 \pm 1.1	41.9 \pm 6.7	139.5 \pm 28.7	0.00*	0.00*	0.00*
Cromatina condensada	68.4 \pm 75.9	47.4 \pm 9.8	242.1 \pm 32.5	0,28	0.00*	0.00*
Brotos nucleares	8.14 \pm 15.0	4.3 \pm 0.6	11.4 \pm 2.4	0,25	0,35	0.01*
Cariolisis	2.2 \pm 2.0	13.3 \pm 1.9	12.3 \pm 2.2	0.00*	0.00*	0.73

Binucleadas	83.3 ±72.8	125.8± 13.1	74.8 ±15.3	0,04	0,66	0.01*
Diferenciadas	824.0±130	764.9 ±12.1	508.9 ±46.8	0,06	0.00*	0.00*

$p < 0.05$, *Diferencias estadísticas significativas CO = control, IAT = invernaderos de alta tecnología, IBT = invernaderos de baja tecnología

Los resultados muestran una relación estadísticamente significativa entre MN y distintas anormalidades nucleares relacionadas con las condiciones ambientales al interior del invernadero tecnificado como es la temperatura y watt/m² (Tabla 5). Sin embargo, se presentan relaciones negativas con la humedad relativa, ya que conforme ésta aumenta, la temperatura disminuye, influyendo de este modo en la variación de las anormalidades nucleares.

Tabla 5. Correlaciones entre MN, anormalidades nucleares y condiciones ambientales al interior de los invernaderos

Variable	Temperatura	Humedad relativa	watt/m ²
MN	0.569**	-0.573**	0.584**
Picnosis	0.430**	-0.443**	0.430**
Cromatina condensada	0.711**	-0.701**	0.719**
Rompimiento de huevo	0.432**	-0.437**	0.424**
Binucleada	-0.368*	0.371*	-0.350*
Diferenciadas	-0.655**	0.654**	-0.663**
Temperatura	1	-0.999**	0.994**
Humedad relativa		1	-0.995**

** La correlación significativa al nivel 0,01 * La correlación significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Para calcular el riesgo laboral en los invernaderos, se calculó el tamaño del efecto en razón de probabilidades (OR) medido a través de las frecuencias de anormalidades nucleares presentes y expresadas por las frecuencias de micronúcleos (MN) en células epiteliales bucales. Se observaron diferencias significativas entre los trabajadores de invernaderos de baja tecnología comparando con los de alta tecnología con el OR = 17.06 (95% IC 3.4-83.7). Comparando las frecuencias de MN entre los jornaleros de baja tecnología con los controles el valor de OR = 50.66 (% IC 7.5-341.7). La comparación entre los jornaleros de alta tecnología comparado con el grupo control se obtuvo el valor de OR = 2.96 (95% IC 0.5 – 17.4) valor de diferencia no significativo (Tabla 6).

Tabla 6. Razón de probabilidades (OR) de micronúcleos en trabajadores de invernaderos comparados con el grupo control.

Variable	Odds Ratios	95% I C	<i>p</i>
Invernaderos de baja tecnología * alta tecnología	17.06	3.4 – 83.7	0.000*
Invernaderos de baja tecnología * grupo control	50.66	7.5 – 341.7	0.000*
Invernaderos de alta tecnología * grupo control	2.96	0.5 – 17.4	0.240

Discusión

Por las discrepancias entre los tipos de invernaderos, el uso de tecnología, manejo de distintos agroquímicos y tipo de cultivo, se presentan en ellos diferentes plagas que obligan el uso de plaguicidas para el manejo de la producción. Como principales plaguicidas utilizados en los invernaderos para la protección del cultivo, Varona *et al.* (2006, 4000), Ortega *et al.* (2014, 3) reportaron mayor uso de hidróxido cúprico, Salcedo y Melo, (2005, 168), Uribe *et al.* (2012, 96), clorpirifos y metamidofos, González *et al.* (2010, 221) reportaron cipermetrina y carbofuran, Ruiz *et al.* (2011, 129) mencionaron endosulfan y amitraz, mientras que Catarino *et al.* (2015, 1), De Evert *et al.* (2015, 138) los extractos vegetales. El uso de los herbicidas fue nulo coincidiendo con Abell *et al.* (2000, 131) quienes descartan el uso de herbicidas en los invernaderos.

El uso de extractos vegetales en los invernaderos de alta tecnología fue mayor al de plaguicidas. Rodríguez, (2007, 200) considera éstos como plaguicidas estáticos debido a que su modo de acción no consiste en matar la plaga, sino a mantener las poblaciones de plagas por debajo del umbral económico y al aplicarlos de manera continua, se logra el efecto deseado como compuestos bioactivos.

El invernadero, al ser un espacio cerrado, con el uso intensivo de plaguicidas, ocasiona la exposición elevada y constante a los vapores y residuos de agroquímicos aplicados (Varona *et al.*, 2006, 400; Silva *et al.*, 2015, 373). Bogliani *et al.* (2005,1) mencionan que la falta de capacitación y conocimiento técnico de los jornaleros en el manejo de plaguicidas disminuye la efectividad de los mismos, impactando negativamente a la economía de la producción y contaminando innecesariamente el ambiente laboral.

Sammons *et al.* (2005, 1) indicaron, que el grado de exposición está condicionado por la variabilidad del tiempo laboral, la superficie y tipo de invernadero. Este último influye en la ventilación, mientras más alta es la ventilación, se reduce la concentración de plaguicidas volatilizados, se modifican las propiedades fisicoquímicas de los agroquímicos y las condiciones ambientales al interior (Bedos *et al.*, 2002, 21; Guth *et al.*, 2004, 871; Ruiz *et al.*, 2015, 187) disminuyendo así el riesgo para los trabajadores (Doan *et al.*, 2015, 670).

Se ha documentado que el cambio en las propiedades físicas y ópticas de las películas plásticas que cubren los invernaderos puede influir en la composición espectral lumínica transmitida. Este cambio impacta en la temperatura y humedad modificando el desarrollo de la planta, lo cual puede incrementar el rendimiento y la calidad de la producción agrícola, así como también puede conducir al desarrollo masivo de plagas (Li *et al.*, 2000, García *et al.*, 2015, 215).

El uso de la protección personal por parte de los trabajadores participantes en los invernaderos no tecnificados fue incompleta, lo que aumentó su exposición. Gil, *et al.* (2003, 27) señalan que, a pesar de que no todos los jornaleros asperjaron plaguicidas, ~~pero~~ todos ellos laboran dentro del invernadero donde inhalan sus vapores y tienen contacto con plantas y frutos de forma cutánea, absorbiendo los residuos de plaguicidas durante la jornada laboral (Jurewicz *et al.* 2009, 261).

Los resultados de nuestro estudio con los jornaleros agrícolas de invernaderos en Atlixco, Puebla, marcan un incremento significativo en frecuencias de células con anormalidades nucleares comparando con las de los controles. El incremento de éstas es el resultado de la inhalación continua de los vapores de plaguicidas rociados en invernaderos. Los estudios referidos de Martínez *et al.* (2009, 397), Bortoli *et al.* (2009, 1), Carbajal, (2010, 1), Larrea *et al.* (2010, 31), Kvitko *et al.* (2012, 1060), Benedetti *et al.* (2013, 28), muestran solo un moderado incremento de células con anormalidades nucleares, mientras que los resultados de nuestro estudio fueron pronunciados con significancia estadística mayor y relacionándose con la condiciones laborales, propias de un invernadero.

Micronúcleos (MN), es el biomarcador de genotoxicidad más frecuentemente empleado en mamíferos, y en la actualidad se utiliza para la evaluación de exposiciones ocupacionales o habitacionales a mutágenos (Vaglenov *et al.*, 2001, 295; Norppa y Falck, 2003, 221), se

caracteriza por ser una técnica no invasiva, sensible, de bajo costo y ha sido validada a nivel mundial. Los MN, son fragmentos cromosómicos que se forman durante la mitosis en la división celular y su presencia refleja daño cromosómico (Márquez *et al.*, 2005, 1).

También diversos cambios nucleares degenerativos han sido sugeridos como marcadores de genotoxicidad y apoptosis tal es el caso de otras anormalidades nucleares, como picnosis, condensación de cromatina y cariorrexis, que están relacionados con citotoxicidad (necrosis y queratinización), mientras que la cariólisis está asociada con toxicidad celular (Jen *et al.*, 2002).

El análisis de frecuencias de micronúcleos y otras anormalidades nucleares considerando el factor de uso de tecnología aplicada en los invernaderos y el grado de educación de los jornaleros para laborar en condiciones insalubres y manejar el agroquímico con mayor precaución, indica aumentos significativos de éstas comparando con el grupo control. El aumento de frecuencias de micronúcleos y otras anormalidades nucleares en la mucosa normal, observado en las lesiones precancerosas y en el carcinoma, sugirió un vínculo de éste biomarcador con la progresión neoplásica causada por múltiples factores que incluyen la exposición a los vapores de plaguicidas inhalados durante la jornada laboral (Casartelli *et al.*, 2000, 486). La presencia de micronúcleos en células de exfoliación bucal, es un evento relativamente raro, cuya frecuencia es de una célula con micronúcleos por cada 1000 células de descamación con una variabilidad individual específica (Ceppi *et al.*, 2010, 11). Se han reportado las frecuencias desde 0.5 a 2.5 MN/1000 células (Kashyap *et al.*, 2012, 184). En nuestro estudio, el valor promedio del grupo control no expuesto a los plaguicidas fue de 1.7 MN/1000 células, valor que se encuentra dentro de los reportados. Para cuantificar el riesgo para la salud de los jornaleros, relacionado con las frecuencias de micronúcleos, se calculó la razón de probabilidades (OR) de micronúcleos en trabajadores de invernaderos comparados con el grupo control. Los valores de OR fueron muy altos, para los jornaleros de los invernaderos con tecnología baja OR fue de 50.66 (95 % IC 7.5 – 341.7) siendo un riesgo altamente significativo. Para los jornaleros que laboraron en invernaderos tecnificados el valor de OR fue de 2.96 (95 % IC 0.5-17.4) siendo éste no significativo. El valor de riesgo calculado claramente muestra el grado de exposición de los jornaleros y su posible alto riesgo para desarrollar enfermedades relacionadas con la exposición laboral a los agroquímicos. Los datos obtenidos sugieren, que los efectos genotóxicos incrementan en los tejidos epiteliales

de los participantes, por exposición al mutágeno, conduciendo al desarrollo de enfermedades degenerativas. Los plaguicidas considerados como carcinógenos del tracto aerodigestivo aumentan la frecuencia de anomalías nucleares en las células bucales y llegan a la corriente sanguínea, presentando un efecto sistémico en otros tejidos. Finalmente, en las células bucales, las anomalías nucleares, se expresan en las células basales en división de las capas profundas de la mucosa bucal (Ceppi *et al.* 2010, 11). Otros factores que valora el ensayo de micronúcleos, son las condiciones tecnológicas de los invernaderos, como indicadores de riesgo laboral con consecuencias de afectaciones para la salud.

En casos de la exposición laboral crónica, las diferencias entre la cinética de replicación y la vida media de las células epiteliales bucales puede contribuir a la aparición de micronúcleos y otras anomalías nucleares. La exposición crónica conduce a una expresión elevada en estado estacionario de estas anomalías, independientemente de la tasa de división celular, si el periodo de exposición excede el tiempo necesario para la división nuclear (Ceppi *et al.*, 2010, 11). En nuestro estudio al comparar los jornaleros con el grupo control, el daño al ADN se nota a consecuencia de la inhalación de los vapores de plaguicidas que persisten en los invernaderos, cuya magnitud depende de la tecnificación de la producción agrícola y las condiciones de humedad, temperatura y ventilación.

Conclusiones

Los estudios de biomarcadores nucleares, en células bucales y las frecuencias de anomalías nucleares, muestran alteraciones en la cinética celular, el metabolismo, el perfil estructural de la mucosa bucal y los eventos de inestabilidad genómica. Nuestros resultados proporcionan información sobre las frecuencias de micronúcleos y otras anomalías nucleares y citotoxicidad, originada por el uso de plaguicidas en los invernaderos y el trabajo en condiciones de tecnificación que influyen en el grado de exposición a sus vapores. La combinación del monitoreo del grado de alteraciones nucleares específicas en las células bucales con el uso de tecnologías en la producción agrícola, puede jugar un papel importante en la identificación de personas con un alto riesgo de desarrollar enfermedades laborales. Nuestros resultados ponen de manifiesto que los jornaleros que laboran en los invernaderos de baja tecnología mostraron una mayor frecuencia de células con anomalías nucleares, debido al efecto de las condiciones

laborales de exposición a los plaguicidas. La investigación evalúa la calidad del ambiente laboral, así como también transmite el mensaje para educar a los trabajadores en el manejo de plaguicidas y prevenir el desarrollo de enfermedades graves.

Referencias

Abell, A., Juul, S., Bonde, J. (2000). Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 26: 131-136.

Acaccia, G., Michelini, R., Molfino R. M., Razzoli, R. P. (2003). Mobile robots in greenhouse cultivation: inspection and treatment of plants. *Memories*. Paper presented in 1st International Workshop on Advances in Services Robotics. Bardolino, Italia.

Bedos, C., Cellier, P., Calvet, R., Barriuso, E., Gabrielle, B. (2002). Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soil and plants: overview. *Agronomie* 22: 21-33.

Benedetti, D., Nunez, E., Sarmiento, M., Porto, C., Iochims dos Santos, C.E., Ferraz Dias, J. da Silva, J. (2013). Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutat. Res.* 752: 28-33.

Benítez-Leite, S., Macchi, M.L., Fernández, V., Franco, D., Ferro, E., Mojoli, A., Cuevas, F., Alfonso, J., Sales, L. (2010). Daño celular en una población infantil potencialmente expuesta a pesticidas. *Pediatr. (Asunción)* 37: 97-106.

Bogliani, M., Masiá, G., Onorato, A. (2005). Aspectos teóricos y prácticos en las aplicaciones de agroquímicos. Trabajo presentado en la Primera jornada regional de fungicidas y tecnología de aplicación del Cono Sur. Bolsa de Comercio de Rosario, Santa Fe.

Bojaca, C. R., Arias, L.A., Ahumada, D.A., Casilimas, H.A., Schrevens, E. (2013). Evaluation of pesticide residues in open field and greenhouse tomatoes from Colombia. *Food Control* 30: 400-403.

Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 543: 251-272.

Bolognesi, C., Landini, E., Perrone, E., Roggieri, P. (2004). Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) with an all-chromosome centromeric probe. *Mutat. Res.* 557: 109-107.

Bolognesi, C., Perrone, E., Landini, E. (2002). Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. *Mutagenesis* 17: 391-397.

Bortoli, G.M., Azevedo, M.B., Silva, L.B. (2009). Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat. Res.* 675(1-2): 1-4.

Carbajal, López, Y. (2010). Biomonitorio citogenético en personas expuestas a plaguicidas en la región de Tierra Caliente en el estado de Guerrero. Tesis de Doctorado en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de Guerrero. Acapulco, Guerrero, México.

Casartelli, G., Bonatti, S., De Ferrari, M., Scala, M., Mereu, P., Margarino, G., Abbondandolo, A. (2000). Micronucleus frequencies in exfoliated buccal cells in normal mucosa, precancerous lesions and squamous cell carcinoma. *Analytical and quantitative cytology and histology/the International Academy of Cytology. American Society of Cytology* 22(6): 486-492.

Castañeda, M., Rodrigo, V., Ramos, E., Peniche, V., Peniche-Vera, R. (2007). Análisis y simulación del modelo físico de un invernadero bajo condiciones climáticas de la región central de México. *Agrociencia* 3: 317-335.

Castillo-Cadena, J., Tenorio-Vieyra, L. E., Quintana-Carabia, A. I., García-Fabila, M. M., Ramírez-San Juan, E., Madrigal-Bujaidar, E. (2006). Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *J. Biomed. Biotechnol.* Article ID 97896: pp.1-12.

Catarino, P. S., García, J. B., Rodríguez, J. C. C., Servía, J. L. C., Espino, H. S., Ojeda, L. A., Rangel, F. T. (2015). Efecto de extractos vegetales en mosquita blanca bajo dos esquemas de aplicación. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 2(1): 1-7.

Ceppi M., Biasotti B., Fenech M., Bonassi S. (2010). Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutat. Res. Rev. Mutat.* 705(1): 11-19.

Costa, C., Teixeira, J.P, Silva, S., Roma-Torres, J., Coelho, P., Gaspar, J., Alves, M., Laffon, B., Rueff, J., Mayan, O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis* 21: 343- 350.

De Evert, M. B. T., López, V. A. G., de López, M. B. R. (2015). Evaluación de extractos vegetales para el control de la palomilla del tomate Tuta absoluta (Meyrick) en condiciones de invernadero. *Investigación Agraria* 17(2): 138-142.

Doan Ngoc, K., van den Berg, F., Houbraken, M., Spanoghe, P. (2015). Volatilisation of pesticides after application in vegetable greenhouses. *Sci. Total Environ.* 505: 670-679

Falck, M., Hirvonen, A., Scarpato, R., Saarikoski, S. T., Migliore, L., Norppa H. (1999). Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism for GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide exposed greenhouse workers. *Mutation Research* 441(2): 225 237.

García Sánchez, E. I., Aguilar Ávila, J., Bernal Muñoz, R. (2011). La agricultura protegida en Tlaxcala, Méjico: La adopción de innovaciones y el nivel de equipamiento como factores para su categorización. *Teuken Bidikay 02* (Argentina, Colombia, Méjico) 193 – 212.

García, E, De La Rosa Ibarra, Quezada Martin y Arellano García (2015). Efecto de una película plástica modificada en aspectos agronómicos del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 11 p. 2105-2113*

García, M. C., Balasch, S. F., Alcon, M. A., Fernández, Z. (2010). Characterization of technological levels in Mediterranean horticultural greenhouses. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(3): 509-525.

Gil, R., Pérez, A., Díaz, M. (2003). Seguridad en la aplicación de productos fitosanitarios en los cultivos protegidos de la provincia de Almería. *Junta de Andalucía. Consejería de Empleo y Desarrollo Tecnológico*, 3: 27.

Gómez-Arroyo, S., Díaz-Sánchez, Y., Meneses-Pérez, M.A., Villalobos-Pietrini, R., De León-Rodríguez, J. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture workers group exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 466: 17-124.

González, A., Robledo, M., Medina, M., Velázquez, B., Girón P., Quintanilla, B., Ostrosky, P., Pérez, H., Rojas, G. (2010). Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 26(3): 221-228.

Guth JA, Reischmann FJ, Allen R, Arnold D, Hassink J, Leake CR. (2004). Volatilisation of crop protection chemicals from crop and soil surfaces under controlled conditions-prediction of volatile losses from physico-chemical properties. *Chemosphere.* 57: 871–87.

Haro, L., Chaín, T., Barrón, R., Bohórquez, L. (2002). Efectos de plaguicidas agroquímicos: Perfil epidemiológico-ocupacional de trabajadores expuestos. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 40(1): 19-24.

Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat. Res. Rev. Mutat.* 659(1): 93-108.

Jen M., Hwang J., Yang J., Nabyvanets Y., Hsieh W., Tsai M., Guo S. y Chang W. (2002). Micronuclei and nuclear anomalies in urinary exfoliated cells of subjects in radionuclide-contaminated regions. *Mutat. Res.* 520, 39-46.

Jurewicz, J., Hanke, W., Sobala, W., Ligocka, D. (2009). Assessment of the dermal exposure to azoxystrobin among women tending cucumbers in selected polish greenhouses after restricted

entry intervals expired — the role of the protective gloves. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 22(3):261–267.

Kashyap, B., Reddy P. S. (2012). Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. *J. Canc. Res. Ther.* 8(2): 184.

Kvitko, K., Bandinelli, E., Henriquez, J. A. P., Heuser, V. D., Rohr, P., da Silva, F. R., Balzan, Schneider, N., Fernandes, S., Ancines, C., da Silva, J. (2012). Susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides, to tannery chemicals and to coal dust during mining. *Gen. Mol. Biol.* 35: 1060-1068.

Lamadrid Boada, A. I., Romero Aguilera, I., González Mesa, J. E., Mandina Cardoso, T. (2011). Biomonitoring de trabajadores expuestos a plaguicidas. *Rev. Cubana Inv. Biomed.* 30: 235-244.

Larrea Poma, M., Tirado Bustillos, N., Ascarrunz, G. M. E. (2010). Daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del Municipio de Luribay. *BIOFARBO* 18: 31-43.

Li, S.; Rajapakse, N. C.; Young, R. E. and Oi, R. 2000: Growth responses of chrysanthemum and bell pepper transplants to photoselective plastic films. *Sci. Hort.* 84:215-225.

Lucero, L., Pastor, S., Suárez, S., Durban, R., Gómez, C., Parron, T., Creus, A., Marcos, R. (2000). Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat. Res.* 464: 255-262.

Marquez C, Villalobos C, Poblete S, Villalobos E, De los Angeles M. y Duk S. (2005). Cytogenetic Damage in Female Chilean Agricultural Workers Exposed to Mixtures of Pesticides. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 45, 1-7

Martínez-Valenzuela, C., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Waliszewski, S., Calderón-Segura, M.E., Félix-Gastélum, R., Álvarez-Torres, A. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environ. Int.* 35(8): 1155-1159.

Martínez-Valenzuela, C., Rodríguez-Quintana, A.R., Meza, E., Waliszewski, S.M., Amador-Muñoz, O., Mora-Romero, A., Calderón-Segura, M.E., Félix-Gastélum, R., Rodríguez-Romero, I., Caba, M. (2015). Cytogenetic biomonitoring of occupationally exposed workers to ashes from burning of sugar cane in Ahome, Sinaloa, México. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 40: 397–401.

Matallana, A., Montero, J. I. (2001). *Invernaderos, diseño, construcción y ambientación.* Ediciones Multi-Prensa, Bilbao p.209

Muiño, E., Botta, E., Pérez, A., Ballester, D., Moreno, F., Rodríguez, E., Fernández R. (2007). Sistemas de manejo integrado de plagas como alternativa al uso del bromuro de metilo en la producción de cultivos protegidos, flores y ornamentales. *Boletín Fitosanitario* 12(1): 1-71.

Muñoz, Q. (2011). Aspectos bioéticos en el control y aplicación de plaguicidas en Chile. *Acta Bioethica* 17(1): 95-104.

Norppa H. y Falck G. (2003). What do human micronuclei contain? *Mutagenesis*. 18, 221-233.

Ortega-Martínez, L.D., Martínez-Valenzuela, C., Huerta de la Peña, A., Ocampo-Mendoza, J., Sandoval-Castro, E., Jaramillo-Villanueva, J. L. (2014). Uso y manejo de plaguicidas en invernaderos de la región norte del estado de Puebla, México. *Revista Universitaria* 24(3): 3-12.

Pastor, S., Gutiérrez, S., Creus, A., Xamena, N., Piperakis, S., Marcos R. (2001). Cytogenetic analysis of Greek farmers by using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and in buccal cells. *Mutagenesis* 16: 539-545.

Peralta, L., Mañas, F., Gentile, N., Bosch, B., Méndez, A., Aiassa, D. (2011). Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Diálogos. Revista Científica de Psicología, Ciencias Sociales, Humanidades y Ciencias de la Salud* 2: 7-26.

Pieter de, Rijk. (2008). Evolución del sector de agricultura protegida en México: <http://www.amhpac.org/contenido/plan>, (30 de enero de 2010).

Piperakis, S.M., Kontogianni, K., Siffel, C., Piperakis, M.M. (2006). Measuring the effects of pesticides on occupationally exposed humans with the comet assay. *Environ. Toxicol.* 21(4): 355-359.

Piperakis, S.M., Petrakou, E., Tsilimigaki, S., Sagnou, M., Monogiudis, E., Haniotakis, G., Karkaseli, H., Sarikaki, E. (2003). Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 41(2): 104-110.

Reali, D., Di Marino, F., Bahramandpour, S., Carducci, A., Barale, R., Loprieno, N., (1987). Micronucleic in exfoliated urothelial cells and urine mutagenicity in smokers. *Mutat. Res.* 192: 145-149.

Reinoso, J. (2015). Diagnóstico del uso de plaguicidas en el cultivo de tomate riñón en el Cantón Paute. *Maskana*, 6(2), 147-154.

Rodríguez, H. C. (2007). Propiedades plaguicidas del eucalipto. En: *Agricultura Sostenible Vol. 3: Substancias naturales contra plagas*. López Olguín J.F. A. Aragón G., C. Rodríguez H. y M. Vázquez García (Eds.). Editado por: Universidad de Guadalajara, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y Colegio de Postgraduados. Guadalajara, México p. 200

Ruiz, E., Ruiz, A., Guzmán, S., Pérez, L. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2): 129-137.

Ruiz-García, Agustín, López-Cruz, Irineo L., Arteaga-Ramírez, Ramón, & Ramírez-Arias, J. Armand. (2015). Tasas de ventilación natural de un invernadero del centro de México estimadas mediante balance de energía. *Agrociencia*, 49(1), 87-100.

Salcedo, M., Melo, T. (2005). Evaluación del uso de plaguicidas en la actividad agrícola del departamento de Putumayo. *Revista de Ciencias de la Salud*, 3(2): 168-185.

Sammons, P. J., Furukawa, T., Bulgin, A. (2005). Autonomous Pesticide Spraying Robot for use in a Greenhouse. Paper presented in Australasian Congress Robotics and Automation Sydney, Australia.

Silva, A., Arancibia, M., Pulgar, C., Astorga, L., Castillo, A., Adasme, V., Cavieres, M. F. (2015). Exposición a plaguicidas y prácticas de uso y protección en embarazadas de zona rurales en control de atención primaria en la región de Valparaíso, Chile. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 80(5): 373-380.

Sonneveld, C., Voogt, W. (2009). *Plant nutrition of greenhouse crops*. Springer Dordrecht Heidelberg, London, New York. ISBN: 978-90-481-2531-9

Stich, H.F. (1987). Micronucleated cells as indicators for genotoxic damage and as markers in chemoprevention trials. *J. Nutr. Growth Cancer* 4: 9-18.

Stich, H. F., Rosin M. P. (1984). Micronuclei in exfoliated human cells as tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer Lett.* 22: 241-53.

Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 4(6): 825-837.

Tinoco, O., Halperin, F. (2001). Investigación sobre plaguicidas y salud en Chiapas: Lecciones para compartir. En O. Rivero, P. Rizo, G. Ponciano, G. Oláiz (Eds.), *Daños a la salud por plaguicidas*. México-Bogotá: Manual Moderno pp. 93-105.

Tolbert, P. E., Shy, C. M., Allen, J. W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epidemiol.* 134(8): 840-850.

Uribe, M. V., Castro, R. A., Paéz, I., Carvajal, N., Barbosa, E., León, L. M., Díaz, S. M. (2012). Impacto en la salud y el medio ambiente por exposición a plaguicidas e implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo de tomate, Colombia, 2011. *Revista Chilena de Salud Pública* 16(2): 96-106.

Vaglenov A., Laltchev S., Petkova V., Pavlova S. y Marcos R. (2001) Occupational exposure to lead and induction of genetic damage. *Environ. Health Perspect.* 109, 295-298.

Varona, M., Henao, G., Lancheros, A., Murcia, A., Díaz, S., Morato, R., Morales, L., Revelo, D., Segurado, P. (2006). Factores de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en el departamento del Putumayo. *Biomédica* 27(3): 400-409.

World Health Organization (WHO) (2009). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009. Stuttgart, Alemania: World Health Organization.

Wu, C. W., Sun, J. Q., Zhang, A. P., Liu, W. P. (2013). Dissipation and enantioselective degradation of plant growth retardants paclobutrazol and uniconazole in open field, greenhouse, and laboratory soils. *Environ. Sci. Technol.* 47: 843-849.

