



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Evaluación del riesgo ecotoxicológico del
insecticida cetoenol Movento® 240SC
mediante el uso del organismo modelo
*Drosophila melanogaster***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciada en Ciencias de la Tierra

P R E S E N T A :

Ana Karen González Pérez



DIRECTORA DE TESIS:
M. en C. Berenycé González Marín

Ciudad Universitaria, CD.MX., 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS PROFESIONALES

Agradezco a las integrantes de mi jurado la **Dra. María Guadalupe Ponce Vélez**, **Dra. América Nitxin Castañeda Sortibrán**, **Dra. María Elena Calderón Segura** y la **Dra. Karen Suárez Larios** por sus valiosos comentarios y observaciones para la culminación de mi tesis.

Agradezco al Centro de Ciencias de la Atmósfera por proporcionarme la infraestructura y herramientas para el desarrollo experimental de mi proyecto de licenciatura.

Agradezco a la **Dra. María Elena Calderón Segura** por permitirme integrarme al Laboratorio de Toxicología Ambiental.

Agradezco a la **M. en C. Berenyce González Marín** por su apoyo, paciencia y comprensión. Por brindarme la oportunidad de colaborar y aprender de ella, por las asesorías y por sus valiosos comentarios para el desarrollo y escrito de la presente investigación.

Agradezco a la Universidad por todas las oportunidades que me ofreció para mi crecimiento profesional.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi familia, por apoyarme en cada decisión y proyecto académico. Especialmente a mi mamá Piedad, por brindarme su cariño y amor incondicional, por motivarme todos los días para alcanzar mis anhelos y por las enseñanzas a lo largo de todo este tiempo.

A mis hermanos Adriana y Carlos, por todo su apoyo y amor. Los quiero y admiro demasiado.

A David, por siempre cuidar de mi y estar ahí cuando más lo necesitaba.

A mi tía Magos, porque si ella estuviera aquí sería una de las más felices por este gran logro.

A mis amigas de la licenciatura, Judith, Diana y Susi, por compartir trayectos en el metro, noches de desvelo para concluir los proyectos, por todas esas risas y momentos especiales y divertidos en las prácticas de campo. ¡Las quiero mucho!

A Gerardo, mi compañero de laboratorio por compartir su conocimiento y experiencias conmigo.

A todos aquellos que directa e indirectamente me apoyaron durante mi formación profesional.

ÍNDICE

SIGLAS Y ACRÓNIMOS	1
RESUMEN.....	3
ABSTRACT	4
1 INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 Plaguicidas	7
1.2 Clasificación de los plaguicidas	7
1.3 Uso de plaguicidas	10
1.4 Impactos ecotoxicológicos de los plaguicidas.....	11
1.5 Plaguicidas en la atmósfera	13
1.6 Plaguicidas en el agua	13
1.7 Plaguicidas en el suelo	14
1.8 Plaguicidas en la biota.....	15
1.9 Factores climáticos que influyen en la toxicidad de los plaguicidas	17
1.10 Efectos tóxicos de los plaguicidas en biota	17
1.11 Efectos en poblaciones humanas expuestas	19
1.12 Mecanismos moleculares de toxicidad de plaguicidas	20
1.13 Biomarcadores.....	22
2. ANTECEDENTES	27
2.1 Insecticidas cetoenoles	27
2.2 Toxicidad de cetoenoles.....	28
2.3 Movento® 240SC	30
2.3.1 Movento® 240SC (Spirotetramat)	30
2.3.2 Rutas de exposición	31
2.3.3 Metabolismo de Movento® 240SC en animales y plantas	32
2.3.4 Persistencia de Movento® 240SC en el ambiente	36
2.3.5 Efectos tóxicos de Movento® 240SC	37
2.4 <i>Drosophila melanogaster</i> como organismo modelo	37
2.5 <i>Drosophila</i> como organismo modelo en estudios de ecotoxicidad	38
2.6 <i>Drosophila</i> como organismo modelo en estudios de reprotoxicidad	42
2.7 Descripción general de <i>Drosophila melanogaster</i>.....	44
2.8 Ciclo de vida de <i>Drosophila melanogaster</i>.....	44
2.9 Sistema reproductor de las hembras.....	45

2.10 Ovogénesis en <i>Drosophila melanogaster</i>	46
2.11 Ensayo Cometa Alcalino	50
3. JUSTIFICACIÓN	52
4. OBJETIVOS	53
4.1 Objetivo general	53
4.2 Objetivos particulares	53
5. HIPÓTESIS.....	53
6. METODOLOGÍA	53
6.1 Mantenimiento y reproducción de <i>Drosophila melanogaster</i>	53
6.2 Determinación de la Dosis Letal media (LD ₅₀)	53
6.3 Elaboración de la solución patrón del insecticida.....	54
6.4 Esquema de tratamiento del insecticida cetoenol Movento® 240SC	54
6.5 Disección de ovarios.....	54
6.6 Ensayo Cometa Alcalino.....	54
6.6.1 Mezcla celular.....	54
6.6.2 Lisis celular	55
6.6.3 Electroforesis celular alcalina	55
6.6.4 Neutralización y fijación.....	55
6.6.5 Tinción de ADN y análisis genotóxico	55
6.7 Análisis estadístico	56
7. RESULTADOS.....	56
7.1 Determinación de la LD ₅₀ de <i>Drosophila melanogaster</i> expuesta por 48 h al insecticida cetoenol Movento® 240SC	56
7.2 Daño en el ADN en células del ovario de <i>Drosophila melanogaster</i> inducido por el insecticida cetoenol Movento® 240SC	57
8. DISCUSIÓN.....	60
9. CONCLUSIÓN	67
10. PERSPECTIVAS.....	68
11. REFERENCIAS.....	69

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AC: Aberraciones cromosómicas

ALS*: Sitios álcali-lábiles

APVM*: Autoridad Australiana de Pesticidas y Medicamentos Veterinarios

bam*: proteína Bag or marbles

CAT: Catalasa

CCs: Células de la caperuza

CEVMA: Centro Europeo para la Validación de Modelos Alternativos

CITS*: Sensibilidad a los tóxicos inducida por el clima

DDT: Dicloro difenil tricloroetano

DSBs*: Rupturas de cadena doble

ECs*: Células acompañantes

EC₅₀: Concentración efectiva media que causa un determinado efecto en el 50% de los organismos

EFSA*: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

EPA*: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos

ERN: Especies Reactivas de Nitrógeno

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno

ESCs*: Células madre acompañantes

FAO*: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FCs*: Células foliculares

FSCs*: Células madre foliculares

FSHR*: Receptor de la hormona foliculoestimulante

GSCs*: Células madre germinal

GSH: Glutación reducido

GPx: Glutación peroxidasa

GR: Glutación reductasa

GST: Glutación-S-Transferasa

HAP: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

HCH: Hexaclorociclohexano

IARC*: Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer
IC: Intensidad de la cauda del cometa
ICH: Intercambio de Cromátidas hermanas
i.a: ingrediente activo
LC: Longitud de la cauda del cometa
LD₅₀*: Dosis Letal en la que el 50% de los organismos expuestos mueren
LHR: Hormona luteinizante
LMR: Límite Máximo de Residuos
LPO: Peroxidación lipídica
log Koc: Coeficiente de Partición Suelo/Agua
log Kow: Coeficiente de Partición Octanol/Agua
MC: Momento de la cauda del cometa
MDA: Malondialdehído
MN: Micronúcleos
MPO: Mieloperoxidasa
nc*: Células nodrizas
OMS: Organización Mundial de la Salud
OTM: Oliver Tail Moment
POD: Peroxidasa
SOD: Superóxido dismutasa
SSBs*: Rupturas de cadena sencilla
TF*: Filamento terminal
T-SOD*: Superóxido dismutasa total
O₂⁻: Ión superóxido
OH[•]: Radical hidroxilo
H₂O₂: Peróxido de hidrógeno
¹O₂: Oxígeno singlete
8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina

*Siglas por su nombre en inglés.

RESUMEN

El insecticida cetoenol Movento® 240SC es un derivado de los ácidos tetrámicos de primera generación, con spirotetramat como ingrediente activo, es un insecticida sistémico utilizado para erradicar plagas de importancia económica en cultivos de crucíferas y cucurbitáceas, entre otros. En el presente estudio se determinó la Dosis Letal 50 (LD₅₀) y se analizó el efecto genotóxico de este insecticida en los ovarios de *Drosophila melanogaster* mediante el ensayo cometa alcalino. La LD₅₀ obtenida fue de 0.079 mg/mL a las 48 h por exposición vía oral, debido a que se registró la muerte del 50% de los organismos expuestos en comparación con el grupo testigo negativo ($p < 0.001$) en tres experimentos independientes. En la evaluación genotóxica se expusieron 10 hembras vírgenes de *D. melanogaster*, vía oral a tres concentraciones sub-letales: 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC, durante 72 horas más un grupo testigo negativo (sin plaguicida) y un grupo testigo positivo (Bleomicina 17.5 mg/mL). El análisis de tres parámetros indicadores de daño al ADN: longitud, momento e intensidad de la cauda, revelaron que a la concentración de 0.011 mg/mL del insecticida cetoenol Movento® 240SC no se modifica la longitud y momento de la cauda del cometa en el ovario de *D. melanogaster* comparado con el grupo testigo negativo ($p < 0.001$). Sin embargo, el promedio de la intensidad de la cauda aumenta significativamente con relación a los valores del grupo testigo negativo ($p < 0.001$). A concentraciones de 0.022 y 0.037 mg/mL del insecticida cetoenol Movento® 240SC y la bleomicina, incrementan significativamente los valores promedios de los tres parámetros genotóxicos comparado con el grupo testigo negativo ($p < 0.001$). El análisis de regresión lineal mostró que el aumento del daño al ADN reflejado en el momento e intensidad de la cauda es dependiente de la dosis de exposición ($p < 0.001$). Estos resultados demuestran que el insecticida cetoenol Movento® 240SC, es un agente genotóxico en células del ovario de *D. melanogaster* y que la mosca de la fruta es un excelente modelo para evaluar el riesgo genotóxico de los plaguicidas.

ABSTRACT

Movento[®] 240SC is a keto-enol insecticide the first-generation derivative of tetramic acids, with spirotetramat as an active ingredient, it is a systemic insecticide used to eradicate pests of economic importance in cruciferous and cucurbit crops, among others. In the present study, we determined the lethal dose (LD₅₀) and the genotoxic effect of this insecticide in *Drosophila melanogaster* ovaries using the alkaline comet assay. The LD₅₀ obtained was 0.079 mg/mL at 48 h by oral exposure, due to the death of 50% of the exposed organisms was recorded compared to the negative control group (p<0.001) in three independent experiments. In the genotoxic analysis, 10 virgin *D. melanogaster* females were exposure orally at 3 sublethal concentrations: 0.011, 0.022 and 0.037 mg/mL of Movento[®] 240SC for 72 hours in three independent experiments, plus a negative control (without pesticide) and a positive control (Bleomycin, 17.5 mg/mL). The analysis of three indicator parameters of DNA damage: tail length, tail moment and tail intensity, revealed that at the concentration of 0.011mg/mL of the ketoenol insecticide Movento[®] 240SC, the tail length and tail moment is not modified in the ovary of *D. melanogaster* compared with the negative control group (p<0.001). However, the average intensity of the cauda, increases significantly in relation to the negative control group (p<0.001). At concentrations of 0.022 and 0.037 mg/mL of the ketoenol insecticide Movento[®] 240SC and bleomycin, the three genotoxic parameters are significantly increased compared to the negative control group (p<0.001). Linear regression analysis shows that the increase in DNA damage reflected at the tail moment and tail intensity is dependent on the exposure dose (p<0.001). These results showed that Movento[®] 240SC keto-enol insecticide, is a genotoxic agent in *D. melanogaster* ovary cells and the fruit fly is an excellent model for assessing the genotoxic risk of pesticides.

ECOSISTEMA	<ul style="list-style-type: none"> •ALTERACIONES EN SERVICIOS ECOSISTÉMICOS Y CICLOS BIOGEOQUÍMICOS, DESENCADENANDO IMPACTOS SOCIALES Y ECONÓMICOS.
COMUNIDAD	<ul style="list-style-type: none"> •MODIFICACIONES EN CADENAS TRÓFICAS E INTERACCIÓN ENTRE LOS ORGANISMOS, POR EJEMPLO, LA POLINIZACIÓN POR LOS INSECTOS.
POBLACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> •CAMBIOS EN PARÁMETROS POBLACIONALES (MORTALIDAD, FECUNDIDAD, LONGEVIDAD) Y DISMINUCIÓN DE LA DESCENDENCIA.
ORGANISMO	<ul style="list-style-type: none"> •ALTERACIONES EN FERTILIDAD Y FECUNDIDAD.
FISIOLOGÍA	<ul style="list-style-type: none"> •DISMINUCIÓN DEL TAMAÑO DE LOS ÓRGANOS COMO TESTÍCULOS U OVARIOS.
BIOQUÍMICA	<ul style="list-style-type: none"> •ACTIVACIÓN DE MECANISMOS DE REPARACIÓN, ARRESTO DEL CICLO CELULAR Y SUPRESIÓN O INICIACIÓN DE SEÑALIZACIÓN DE VÍAS DE APOPTOSIS.
GENOMA	<ul style="list-style-type: none"> •MUTACIONES Y ERRORES EN LA REPLICACIÓN DEL ADN, POR ENTRECruzAMIENTOS DE ADN-ADN, ADUCTOS, BASES OXIDADAS Y RUPTURAS EN LAS CADENAS.

Figura 1. Posibles implicaciones del daño al ADN en los diferentes niveles de organización.
Elaboración propia.

1 INTRODUCCIÓN

La superficie terrestre comprende 13 mil millones de hectáreas, de las cuales 1.6 mil millones son utilizadas para la producción agrícola (Dubois, 2011). En la actualidad, debido a la alta demanda de alimentos derivado del crecimiento de la población, se ha incrementado el uso de plaguicidas en las zonas de producción, aunado al Cambio Climático y a la resistencia de plagas (Popp *et al.*, 2013; Delcour *et al.*, 2015; ONU, 2019). Se ha estimado que a nivel mundial se pierde hasta el 40% de los cultivos por causa de las distintas plagas agrícolas, equivalente a 220 mil millones de dólares (FAO, 2019).

Aunque el uso de plaguicidas contribuye a la seguridad alimentaria, su presencia en el ambiente ha tenido graves repercusiones en la dinámica de los ecosistemas debido a su persistencia en el ambiente y capacidad de moverse de los campos agrícolas hacia la atmósfera, el agua y el suelo, provocando su contaminación (Popp, 2013; del Puerto Rodríguez *et al.*, 2014). Múltiples investigaciones han detectado diversos plaguicidas como organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, entre otros (Devine *et al.*, 2008; Köck, 2014; Rajmohan *et al.*, 2020) y/o sus metabolitos en compartimientos ambientales, y su exposición se ha relacionado con alteraciones en la reproducción, desarrollo y/o crecimiento de organismos no blanco, como polinizadores, peces, anfibios, aves, mamíferos y plantas, lo que ha causado variaciones en los parámetros poblacionales (Soare *et al.*, 2019). Además, algunos plaguicidas tienen la capacidad de bioacumularse en tejidos vegetales y animales (Buah-Kwofie *et al.*, 2018a; Al-Nasir *et al.*, 2020), por lo que pueden ingresar a la cadena trófica y biomagnificarse, representando gran riesgo a la salud de los humanos por la ingesta de alimentos contaminados (Gupta y Gupta, 2020). En los humanos, las exposiciones agudas o crónicas a estos compuestos están relacionadas con infertilidad, malformaciones congénitas y afectaciones al ADN que pueden estar implicados en el desarrollo de diversos tipos de cáncer (Salvagni *et al.*, 2010; Sabarwal *et al.*, 2018).

A pesar de los efectos de los plaguicidas en el ambiente y la salud de los humanos, a nivel mundial se liberan al ambiente 4.6 millones de toneladas al año (FAO, 2018). Se ha estimado que, sin uso de plaguicidas, el rendimiento de los cultivos disminuiría y existiría deficiencia en el suministro de alimentos para la población (Storck *et al.*, 2017).

La evaluación de los posibles impactos de los plaguicidas en el ambiente, resulta compleja por la variedad de las características estructurales, toxicológicas y funcionales de estos compuestos, ya que pueden alterar la dinámica de los compartimientos ambientales y organismos no blanco de diferentes maneras y con distintos niveles de intensidad (Kromann

et al., 2011; Kniss y Coburn, 2015), por lo que, la implementación de pruebas toxicológicas con organismos modelo tales como el pez cebra (*Danio rerio*), anfibios como la rana africana de uñas (*Xenopus laevis*) y la mosca de fruta (*Drosophila melanogaster*) (Al-Ghanim et al., 2020; Leeb y Theissinger, 2020; Mandi et al., 2020), resultan ser herramientas clave para elucidar posibles afectaciones por exposición a plaguicidas, además de permitir en algunos casos la extrapolación de la información a nivel de especies, poblaciones, comunidades y ecosistemas (Solomon, 2010).

1.1 Plaguicidas

El Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas (FAO, 2003) define a los plaguicidas como: “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies de plantas o animales indeseables que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte”.

1.2 Clasificación de los plaguicidas

Diversos autores clasifican a los plaguicidas con base en:

Composición química: Incluye a los organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides, neonicotinoides, biperidinas y cetoenoles (Tabla 1) (Díaz y Aguilar, 2018).

Tabla 1. Clasificación de plaguicidas según su composición química.

Grupo	Mecanismo de acción	Ejemplos
Organoclorados	Modulan los canales de sodio interrumpiendo la transmisión de impulsos nerviosos entre células nerviosas.	DDT, Aldrín, Endrín, Lindano, Clordano, Heptacloro.

Organofosforados	Inhiben la acción de la acetilcolinesterasa, bloqueando la transmisión de los impulsos nerviosos.	Malatión, Clorpirifos, Metamidofos, Metilparation.
Carbamatos	Inhiben la acción de la acetilcolinesterasa, interrumpiendo la transmisión de los impulsos nerviosos.	Aldicarb, Carbaril, Carbofuran, Benomil.
Piretroides	Modulan los canales de sodio interrumpiendo la transmisión de impulsos nerviosos entre células nerviosas.	Deltametrina, Cipermetrina, Permetrina.
Neonicotinoides	Agonista/Antagonista de los receptores de Acetilcolina bloqueándolos e interrumpiendo la transmisión del impulso entre células nerviosas.	Imidacloprid, Clotianidin.
Cetoenoles	Inhiben la síntesis de lípidos por el bloqueo de la Acetil-coenzima A carboxilasa (ACC).	Spirodiclofen, Spiromesifen, Spirotetramat.

Modificada de Devine *et al.*, 2008; Díaz y Aguilar (2018); SADER y SENASICA (2019).

Organismo blanco: Dependiendo de los organismos sobre los que tenga efecto el plaguicida (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de plaguicidas por organismos blanco.

Clasificación	Organismo blanco
Herbicidas	Malezas
Fungicidas	Hongos
Insecticidas	Insectos
Bactericida	Bacterias
Acaricida	Ácaros y garrapatas
Nematicida	Nematodos
Rodenticida	Roedores

Modificada de Díaz y Aguilar (2018); SADER y SENASICA (2019).

Mecanismo de acción: De acuerdo con la manera en la que el plaguicida va a tener contacto con los organismos (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de plaguicidas por su modo de acción.

Tipo	Acción
Por contacto	Organismos mueren cuando entran en contacto y/o el plaguicida es absorbido.
Selectivos	Tóxico solamente para los organismos blanco.
No selectivo	Tóxico tanto para los organismos blanco como para aquellos que no lo son.
Sistémico	El plaguicida es aplicado directamente en la planta y posteriormente absorbido por ellas, moviéndose hacia arriba, abajo o en ambos sentidos.
Ingestión	El plaguicida debe de ser ingerido por los organismos.
Fumigante	Son aplicados como líquidos y/o sólidos pero su estado físico cambia a gaseoso.
Defoliante	Causan la caída del follaje de las plantas.
Repelentes	Ocasionan que las plagas no se posen o dejen de alimentarse de las plantas a las que se les ha aplicado el plaguicida.

Fuente: SADER y SENASICA (2019).

Persistencia: Las características fisicoquímicas de los plaguicidas determinan su comportamiento en el ambiente. De esta manera, el log Kow de un compuesto va a estar relacionado con la afinidad de este por la fracción lipídica o los sedimentos o bien, por el agua. Aunque también son importantes las características tanto físicas y químicas del sistema en el que se encuentre (Tabla 4) (Valderrama *et al.*, 2012).

Tabla 4. Clasificación de plaguicidas de acuerdo con su persistencia en el ambiente.

Persistencia	Vida media
No persistentes	0-12 semanas
Moderadamente persistentes	1-18 meses
Persistentes	De varios meses a 20 años
Permanentes	Indefinidamente

Fuente: Ramírez y Lacasaña (2001).

Por su toxicidad: La Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso un sistema de clasificación basado en la toxicidad aguda reportada como la LD₅₀ oral y dérmica para ratas. Cuando la LD₅₀ dérmica del compuesto es tal que lo sitúa en una clase más restrictiva que

la LD₅₀ oral, el compuesto se incluirá siempre en la clase más restrictiva (WHO y IPCS, 2010) (Tabla 5).

Tabla 5. Clasificación de la OMS con base en la toxicidad.

Clase	LD ₅₀ (mg/kg)	
	Oral	Dérmica
Ia. Extremadamente peligroso	<5	<50
Ib. Altamente peligroso	5-50	50-200
II. Moderadamente peligroso	50-2000	200-2000
III. Ligeramente peligroso	>2000	>2000
U. Poco probable que presente peligro agudo	5000 o más	

Fuente: WHO y IPCS, 2010.

1.3 Uso de plaguicidas

Los plaguicidas se han vuelto indispensables en la agricultura y el sector salud (Yadav y Devi, 2017). La aplicación en exceso de estas sustancias ha deteriorado las tierras de cultivo modificando sus propiedades fisicoquímicas (Arora *et al.*, 2019) y ha incrementado la resistencia de algunas plagas, por cambios en la acción de enzimas detoxificantes o en el punto de acción en los organismos (Harsimran y Harsh, 2014; Albert, 2015; García-Rojas *et al.*, 2017).

En México, el uso de plaguicidas comenzó con la Revolución Verde y con la introducción de DDT al país en 1948 para combatir el paludismo y proteger los cultivos de algodón (Cerutti, 2015). De acuerdo con García *et al.* (2018) el promedio anual de uso de plaguicidas asciende a las 35 mil toneladas dentro del territorio mexicano y los principales estados que reportan su uso son Campeche, Chiapas, Estado de México, Morelos, Nayarit, Puebla, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. Para el 2019, se produjeron 81 878 toneladas (ton) de plaguicidas, de las cuales, 28 430 ton correspondían a insecticidas, 28 616 ton a fungicidas y 24 832 ton a herbicidas y defoliantes (INEGI, 2020).

Bejarano (2017) reporta que en México están autorizados para su uso 183 ingredientes activos (i.a) de plaguicidas considerados altamente peligrosos y de estos, aproximadamente 140 i.a están prohibidos en otros países. Dentro de estos, se encuentran: imidacloprid, paraquat, endosulfán y glifosato, entre otros. En la Laguna Negra de Puerto Marqués en Acapulco, se han detectado plaguicidas organoclorados prohibidos desde 1991 (Leal *et al.*, 2014), sin embargo, debido a su persistencia en el ambiente aún están

presentes (Sierra-Cortés *et al.*, 2020). En las zonas rurales de Oaxaca, se identificaron 48 ingredientes activos de diferentes categorías toxicológicas y clases químicas, que son ampliamente utilizados en los cultivos de maíz (Bernardino *et al.*, 2019). En Sonora se cuantificaron plaguicidas en agua y sedimentos, evidenciando que las concentraciones eran superiores a los límites establecidos por México, otros países y a nivel mundial (Hernández-Antonio y Hansen, 2011), además, se ha estimado que la cantidad de plaguicidas identificados que se utilizan, tales como malatión, paratión metílico, diazinon, dimetoato, metil azinfos, clorpirifos, endosulfán y paraquat, entre otros, pueden afectar la salud de los habitantes de las localidades rurales de Sonora cercanas a las tierras de cultivo (Silveira-Gramont *et al.*, 2018).

A pesar de los esfuerzos para el control del uso de plaguicidas, en el territorio mexicano no se cuentan con estadísticas confiables de la cantidad y frecuencia de su aplicación, así como especificaciones de uso en los cultivos, forma de aplicación y dosis recomendadas (Silveira-Gramont *et al.*, 2018).

Actualmente, para disminuir el uso de plaguicidas y de esta manera, los impactos ecológicos y a la salud, se han propuesto soluciones sustentables basadas en el uso de bioplaguicidas y de nanoplaguicidas. Los bioplaguicidas se derivan de materiales naturales como animales, plantas y bacterias (AL-Ahmadi, 2019), de esta manera, son altamente específicos contra plagas objetivo y generalmente los residuos no representan un problema al ambiente o a la salud (Nava-Pérez *et al.*, 2012; González-Coloma, 2015). Mientras que los nanoplaguicidas, se consideran ambientalmente más seguros y menos tóxicos que los plaguicidas químicos (Chhipa, 2017), sin embargo, el impacto de los nanoplaguicidas en la biodiversidad aún no es conocido, a pesar de esto se sigue implementando su uso (Sun *et al.*, 2019b).

1.4 Impactos ecotoxicológicos de los plaguicidas

La ecotoxicología es una ciencia emergente que estudia los efectos por exposición a sustancias químicas en animales y plantas no blanco a diferentes niveles de organización: individuos, poblaciones, comunidades y ecosistemas (Hoffman, 2002; NPIC, 2013). Asimismo, estudia las transformaciones químicas del plaguicida cuando ingresa al ambiente. Integra aspectos de la Ecología, Toxicología, Fisiología, Química Analítica, Biología molecular y Matemáticas (NPIC, 2013).

El objetivo de las evaluaciones de riesgo ecológico es la protección de las funciones ambientales de las poblaciones y comunidades de organismos no blanco (Solomon, 2010). Estas investigaciones son importantes porque son la base para determinar si los compuestos que se encuentran en desarrollo representan un riesgo potencial al ambiente (Croft *et al.*, 1998). Los bioensayos con organismos de diferentes niveles tróficos como descomponedores (microorganismos), productores primarios (algas y plantas), productores secundarios y consumidores (invertebrados y vertebrados), son los procedimientos más habituales en Ecotoxicología para obtener información de los efectos producidos por una sustancia o mezcla de ellas (Sánchez, 2008; Solomon, 2010).

Aunque para aprobar el uso de plaguicidas en los países se requiere de un perfil toxicológico de las sustancias, estos estudios se enfocan en el efecto de los ingredientes activos y no en las formulaciones comerciales de los plaguicidas que representan el verdadero riesgo por ser las asperjadas en el ambiente, debido a que contienen coadyuvantes que se consideran inertes, pero no se descarta que puedan ser tóxicos (Fenner-Crisp, 2001; Mesnage y Antoniou, 2018).

Estudios recientes han detectado residuos de ingredientes activos o metabolitos de plaguicidas en suelo (Joseph *et al.*, 2020), mantos acuíferos y agua superficial (Dutttagupta *et al.*, 2020; de Souza *et al.*, 2020), organismos no blanco como las abejas (Moreno-González *et al.*, 2020) o peces (Ernst *et al.*, 2018), en polen (de Oliveira *et al.*, 2016) y en alimentos como la miel (Kasiotis *et al.*, 2014; Gawel *et al.*, 2019), vino (Čepo *et al.*, 2018; Dias *et al.*, 2019), vegetales y frutas (Montiel-León *et al.*, 2019; Al-Nasir *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2020).

La persistencia de agroquímicos en el ambiente puede desencadenar variaciones en la estructura y función de los ecosistemas. En organismos no blanco, tienen la capacidad de causar su muerte o algún tipo de alteración, generando cambios en los mecanismos de supervivencia, modificando su comportamiento o su capacidad de reproducirse, lo que con el paso del tiempo puede ocasionar que el tamaño de la población disminuya (NPIC, 2013). Todas estas perturbaciones, causan deterioro ambiental con efectos directos en la salud de los humanos y en el sector económico por lo que, resulta importante estudiar desde una perspectiva ecotoxicológica las sustancias presentes en el ambiente, para respaldar la toma de decisiones en temas de gestión ambiental (Tarazona, 2007).

1.5 Plaguicidas en la atmósfera

Se ha estimado, que entre el 15 y 40% de los plaguicidas que son aplicados en la agricultura ingresan a la atmósfera (Sinfort *et al.*, 2009; Yates *et al.*, 2015). Existen diferentes vías de entrada, ya sea por aerosol cuando se están aplicando los agroquímicos a los cultivos (Degrendele *et al.*, 2016) o indirectamente debido a sus características fisicoquímicas, tales como la presión de vapor que permite su volatilización del suelo, plantas o agua (Cabrerizo *et al.*, 2013; Bedos *et al.*, 2002), además de la erosión de las partículas del suelo (Voutsas *et al.*, 2005). En este compartimiento ambiental, los plaguicidas pueden degradarse por fotólisis (Socorro *et al.*, 2016; Borrás *et al.*, 2017) o estar presentes en forma gaseosa y/o particulada (Coscollà *et al.*, 2011; Degrendele *et al.*, 2016), teniendo la capacidad de adsorberse a las partículas atmosféricas (PM₁₀ o PM_{2.5}) (Coscollà *et al.*, 2013a; Coscollà *et al.*, 2013b; Nascimento *et al.*, 2017), incrementando la vida media de los plaguicidas (Socorro *et al.*, 2016). En consecuencia, son más persistentes en el ambiente (Nascimento *et al.*, 2017). Las concentraciones que se han registrado en el aire van de picogramos por metro cúbico (pg/m³) hasta microgramos por metro cúbico (µg/m³) (Nascimento *et al.*, 2017; Désert *et al.*, 2018) y su tiempo de permanencia varía desde días hasta meses (Coscollà *et al.*, 2017). Algunos estudios se han enfocado en detectar y cuantificar los plaguicidas presentes en aire (Climent *et al.*, 2019) (Figura 2).

Las partículas que contienen plaguicidas son removidas de la atmósfera por deposición húmeda o seca, aunque estos procesos son menos eficientes para partículas con un diámetro aerodinámico entre 0.05-2 y 0.1-1 micras (µm) (Seinfeld y Pandis, 2006). Por consiguiente, se ha documentado la presencia de residuos de plaguicidas en agua pluvial de ambientes urbanos y en las corrientes urbanas de agua (Stone *et al.*, 2014), debido a que estas sustancias son ocupadas indiscriminadamente en parques, jardines y hogares (Hoover, 2005), ocasionando que puedan llegar a los sedimentos de ecosistemas acuáticos (Kuivila *et al.*, 2012).

1.6 Plaguicidas en el agua

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por plaguicidas, ha tomado relevancia en las últimas décadas, debido a las repercusiones en el equilibrio de la flora y fauna, el reciclaje de nutrientes y la actividad biológica, entre otros (Ohura *et al.*, 2013). La presencia de estos compuestos químicos resulta en la disminución de la biodiversidad, toxicidad para ciertas algas y diatomeas, dando como resultado floraciones de algas nocivas y alteraciones en las cadenas tróficas (Debenest *et al.*, 2010; Malaj *et al.*, 2014). Muturi *et al.*

(2017) reportaron que la presencia de herbicidas (atrazina y glifosato) e insecticidas (malatión, carbaril y permetrina) generan la disminución de biodiversidad en comunidades microbianas.

Una vez que los agroquímicos se encuentran en este compartimiento, su dinámica es influenciada por el pH, la solubilidad del compuesto y por reacciones de fotólisis o hidrólisis que permiten que se degraden parcial o totalmente. Además, pueden adherirse a las partículas o sedimentos de ríos y lagos o quedar retenidos en los tejidos de los organismos acuáticos, para bioconcentrarse y posteriormente, ingresar a la cadena trófica (Gavrilescu, 2005; Ponce-Vélez & Botello, 2018). Por ejemplo, los organoclorados son adsorbidos por partículas en suspensión (materia orgánica y/o mineral) permaneciendo en la columna de agua o depositándose y acumulándose en los sedimentos (Leyva-Cardoso *et al.*, 2003). Las partículas sedimentadas pueden regresar al cuerpo de agua mediante resuspensión originada por la actividad del viento o por corrientes subacuáticas (Daskalakis y O'Conno, 1995). Con el paso del tiempo y la presencia de microorganismos, los compuestos clorados pueden degradarse en metabolitos secundarios, que suelen ser más tóxicos que los compuestos originales (Yang *et al.*, 2013). Cuando los compuestos clorados son consumidos por los organismos productores o consumidores primarios, éstos ingresan a la red trófica acuática (Lee *et al.*, 2001; Leyva-Cardoso *et al.*, 2003).

Diversos estudios se han enfocado en detectar plaguicidas en sistemas acuáticos. En el río Yangtze, en China se cuantificaron los niveles de algunos neonicotinoides y sus metabolitos (Mahai *et al.*, 2019); en un acuífero de Argentina que provee agua para uso doméstico y la agricultura, se detectaron plaguicidas organoclorados (Grondona *et al.*, 2019), al igual que en el Río Ñuble, en Chile (Montory *et al.*, 2017), en Turquía en el lago Manyas (Erkemen *et al.*, 2013) y en el Lago Edku, en Egipto, además se registraron plaguicidas organofosforados tanto en la columna de agua, sedimentos y en tilapias (Abbassy *et al.*, 2019), así como en sedimentos de la Laguna de Alvarado, en el Golfo de México (Ponce-Vélez & de la Lanza-Espino, 2019). Por lo tanto, representan un riesgo tanto para los organismos acuáticos, como para la salud de las personas que consumen el agua y alimentos contaminados por agroquímicos.

1.7 Plaguicidas en el suelo

En el suelo, los procesos más importantes que afectan la dinámica de los plaguicidas son: sorción/desorción, lixiviación, degradación, biotransformación por microorganismos (Fernandes *et al.*, 2003; Farha *et al.*, 2016); y las características fisicoquímicas del suelo:

contenido de humedad, contenido de materia orgánica y arcilla, carbono orgánico total y pH (Arias-Estévez *et al.*, 2008; Farha *et al.*, 2016; Qu *et al.*, 2019). De esta manera, los plaguicidas pueden ser mineralizados o convertirse en sustancias más complejas y tóxicas (Farha *et al.*, 2016), quedando retenidas en las partículas del suelo o la materia orgánica dependiendo de su log K_{oc} (Coeficiente de Partición Suelo/Agua) (Cycoń y Piotrowska-Seget, 2015), aunque también se pueden encontrar en las plantas o movilizarse y contaminar los cuerpos acuáticos mediante lixiviación o escorrentía superficial o subterránea (Singh *et al.*, 2004), representando un peligro para los organismos no blanco (Cycoń y Piotrowska-Seget, 2015) (Figura 2).

Diferentes investigaciones han documentado la persistencia de plaguicidas organoclorados como el Hexaclorobenceno (HCH), Heptacloro, Aldrín y los metabolitos del DDT, entre otros, en suelos dedicados a la agricultura en Benevento, Italia (Qu *et al.*, 2019). Mientras que, en la India (Yadav *et al.*, 2015), también se han detectado residuos de productos secundarios de DDT y HCH. En México Leal *et al.* (2014) estudiaron los suelos de las principales zonas agrícolas del estado de Sonora, cuantificando niveles de agroquímicos organoclorados que representan un riesgo para la salud humana. Por otra parte, en República Checa se analizaron 75 suelos agrícolas diferentes y se detectaron residuos de 30 herbicidas, 20 fungicidas, 3 insecticidas y 15 productos secundarios (Hvězdová *et al.*, 2018).

Se ha determinado que la presencia de plaguicidas en el suelo afecta el pH, la actividad microbiana y enzimática (Arora *et al.*, 2019) y la estructura de las comunidades edafológicas (Sun *et al.*, 2019a), las cuales son importantes para los ciclos biogeoquímicos, la fertilidad del suelo y la biotransformación de xenobióticos, componentes fundamentales para la estabilidad de los ecosistemas terrestres (Smith *et al.*, 2015; Lovecka *et al.*, 2015; Basu *et al.*, 2020).

1.8 Plaguicidas en la biota

Diferentes estudios han reportado la presencia de agroquímicos en organismos no blanco, desde plaguicidas organoclorados en especies marinas, como ballenas grises y morsas del occidente del mar de Bering (Tsygankov *et al.*, 2015), piretroides en tejidos de delfines del Mar Mediterráneo (Aznar-Aleman *et al.*, 2017) y en la Gran Barrera de Arrecifes de Coral de Australia (Brodie y Landos, 2019). En Queensland, Australia se cuantificaron residuos de carbamatos en sangre de tortugas marinas verdes (Heffernan *et al.*, 2019) y en tejido adiposo de cocodrilos del Nilo (*Crocodylus niloticus*) del parque de Humedales Simangasilo

en Sudáfrica, se identificaron elevadas concentraciones de organoclorados (Buah-Kwofie *et al.*, 2018b), al igual que en el escudo corneo y la sangre de cocodrilos Morelet que habitan en Campeche y Yucatán, en México (Jáuregui *et al.*, 2018). Por otra parte, en África se estudió la presencia de plaguicidas en huevos de aves acuáticas: pelicanos, cormoranes, cigüeñas y garcetas (Bouwman *et al.*, 2019).

En Irak y en Arabia Saudita se han encontrado plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides en tejido adiposo de animales domésticos como los bovinos, ovinos y caprinos (Meligy *et al.*, 2019; Hamadamin y Hassan, 2020) y se han cuantificado hasta 60 plaguicidas en huevos de gallinas (Song *et al.*, 2019).

Debido a que algunos plaguicidas tienen una alta persistencia en el ambiente y elevada afinidad por las grasas (lipofilicidad) (Borgå *et al.*, 2004), estos pueden bioacumularse en los tejidos de los organismos e ingresar a la cadena trófica, biomagnificándose a través de los diferentes eslabones (Daley *et al.*, 2014). De esta manera, al localizarse los humanos en la cima de la cadena trófica, los plaguicidas son consumidos mediante pescado, carnes, productos lácteos y huevo (Wang *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2013; Daley *et al.*, 2014), ocasionando problemas en el desarrollo y deterioro de la salud. Algunos estudios se han centrado en estudiar la bioacumulación principalmente de plaguicidas organoclorados en peces y evaluar el riesgo a la salud (Buah-Kwofie *et al.*, 2018a; Olisah *et al.*, 2019; Abbassy *et al.*, 2019).

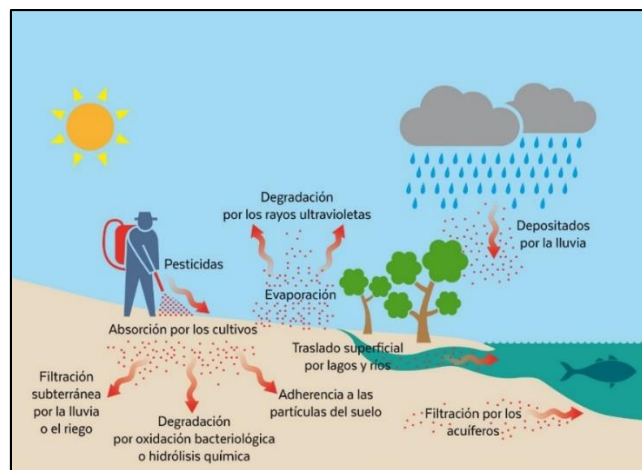


Figura 2. Dinámica de los plaguicidas en el ambiente. Una vez que son aplicados a los cultivos, pueden ingresar a la atmósfera por aerosol o volatilización, adherirse a las partículas del suelo, ser metabolizados por organismos o filtrarse hacia los mantos acuíferos y movilizarse hasta llegar a otros cuerpos de agua, para unirse a los sedimentos o bioacumularse en los tejidos de los organismos y biomagnificarse en la cadena trófica. (Fuente: Romano, 2018).

1.9 Factores climáticos que influyen en la toxicidad de los plaguicidas

En los últimos años el comportamiento de los plaguicidas en el ambiente se ha visto alterado por el Cambio Climático, principalmente por las precipitaciones y el incremento de la temperatura. Como consecuencia se modifica la tasa de transformación de los compuestos por reacciones de fotólisis, biodegradación, hidrólisis u oxidación, alterando la persistencia y movilidad por la atmósfera, agua, suelo, sedimentos y biota (MacDonald *et al.*, 2002).

A la capacidad que tiene un fenómeno relacionado con el Cambio Climático de alterar la toxicidad de los plaguicidas se conoce como sensibilidad a los tóxicos inducida por el clima (CITS- climate-induced toxicant sensitivity, por sus siglas en inglés) (Hooper *et al.*, 2013). Los mecanismos principales de CITS basados en el aumento de la temperatura, son el incremento de la actividad metabólica, la formación de metabolitos más tóxicos y un proceso de detoxificación deficiente (Harwood *et al.*, 2009; Hallman y Brooks, 2015; Noyes y Lema, 2015).

El incremento de temperatura aumenta la tasa de degradación o la transformación de agroquímicos, incrementando su transformación a compuestos secundarios que pueden ser más tóxicos que los originales (Bailey, 2004; Benitez *et al.*, 2006); mientras que las lluvias y tormentas promueven la deposición húmeda en sistemas acuáticos y terrestres (Dabrowski *et al.*, 2002; Presley *et al.*, 2006; Chiovarou y Siewicki, 2007). Debido a estos fenómenos, se ha registrado el aumento en la cantidad de plaguicidas aplicados a los cultivos (Reilly *et al.*, 2003; Reilly *et al.*, 2001; Chen y McCarl, 2010) y el desplazamiento de plagas a lugares donde nunca se habían presentado (Ju *et al.*, 2013; Delcour *et al.*, 2015), promoviendo la aplicación de nuevos compuestos en zonas donde su uso no se había reportado.

1.10 Efectos tóxicos de los plaguicidas en biota

El uso de plaguicidas es una de las principales causas de la disminución de la biodiversidad terrestre (Brühl y Zaller, 2019). Diversos autores han reportado los efectos tóxicos de plaguicidas en organismos no blanco, por ejemplo, en los arrecifes de ostras del Estuario Loxahatchee en Florida, EU, la presencia de agroquímicos genero impactos negativos en la dinámica poblacional reduciendo la abundancia de crustáceos (Swarzenski *et al.*, 2019). De Moraes y cols. (2018) identificaron que en abejas melipona (*Melipona scutellaris*) el insecticida Fipronil dificulta la actividad motora al disminuir el movimiento, además, incrementa el letargo, parálisis e hiperexcitación. El piretroide lambda-cihalotrina induce cambios en el comportamiento de natación de la pulga de agua (*Daphnia magna*), reflejado

en la velocidad y capacidad de giro; además de disminución en la frecuencia cardíaca y actividad de las extremidades torácicas (Bownik *et al.*, 2019). El organofosforado clorpirifos modifica el comportamiento antidepredatorio del pez cebra (*Danio rerio*), el linuron afecta la respuesta a la señal de alarma que es liberada cuando otros peces son heridos y, en presencia de cipermetrina, estos modifican su ruta de desplazamiento (Volz *et al.*, 2020). En lombrices de tierra (*Eudrilus eugeniae*) tanto clorpirifos y cipermetrina, así como la mezcla de ellos, indujo cambios en el comportamiento como el enrollamiento, producción de moco, fragmentación del cuerpo y en las concentraciones de marcadores de estrés oxidante (Tiwari *et al.*, 2019). Los neonicotinoides, como acetamiprid causaron en el gorrión común (*Passer domesticus*) disminución en la densidad de espermatozoides y en la enzima SOD (Superóxido dismutasa) (Humann-Guillemint *et al.*, 2019). Mientras que, en la lombriz roja (*Eisenia fetida*) el herbicida tribenuron metil y el fungicida tebuconazol, indujeron estrés oxidante y la inhibición de la celulasa (Chen *et al.*, 2018a). Asimismo, estudios en embriones de pez cebra (*Danio rerio*), han demostrado que fludioxonil y triadimefon alteran la actividad de Superóxido dismutasa total (T-SOD) y Catalasa (CAT), al igual que los genes involucrados en el estrés oxidante, la apoptosis celular y en los sistemas inmune y endocrino (Wang *et al.*, 2020). Por otra parte, en la sangre periférica de caimanes yacaré overo (*Caiman latirostris*) que fueron expuestos tanto individualmente como a mezclas de glifosato, clorpirifos y cipermetrina, se detectó daño al ADN e incremento en la frecuencia de micronúcleos (Odetti *et al.*, 2020).

A nivel reproductor, se han realizado estudios con el colémbolo *Folsomia candida*, que demuestran que la presencia de ECTIC (cipermetrina) en suelos repercute en la sobrevivencia, reproducción y distribución de estos organismos, aún en concentraciones correspondientes a las recomendadas para su uso en la agricultura y ganadería (Zortéa *et al.*, 2015). El insecticida Azamax (azaridactina), disminuyó la tasa de nacimiento de crisopas (*Ceraeochrysa claveri*) y aumentó el porcentaje de insectos no viables conforme a la dosis de exposición (Gastelbondo *et al.*, 2019). Para el mosquito del dengue o la fiebre amarilla, Tracer[®] (spinosad), provoca cambios en el estado físico (fitness), disminuye el número de huevos puestos por hembra y su viabilidad; además de, problemas de digestión sanguínea y absorción de nutrientes, que repercuten en el funcionamiento de los ovarios (Fernandes *et al.*, 2019). La exposición del pez cebra (*Danio rerio*) a butaclor, genera cambios en el sistema endocrino, modificando la tasa de fecundidad, frecuencia de ovoposición, así como en el promedio de número de huevos por desove y la calidad de los huevos durante la gametogénesis (Chang *et al.*, 2013). Mientras que, en caracoles de agua dulce (*Planorbella*

duryi) el organoclorado metoxicloro indujo disminución en el número de huevos, número de puestas y modificó el comportamiento locomotor, con decrementos en la velocidad promedio, distancia recorrida y eventos de congelamiento (Frankel *et al.*, 2020).

1.11 Efectos en poblaciones humanas expuestas

Los efectos de los plaguicidas en la salud humana es uno de los temas más estudiados, tanto en trabajadores expuestos como gente que reside cerca de campos agrícolas. Se ha documentado que el riesgo de desarrollar una enfermedad como asma, diabetes mellitus, cáncer, Parkinson, Alzheimer y desordenes reproductivos, se incrementa cuando las poblaciones están expuestas a estas sustancias (Kim *et al.*, 2017; Ye *et al.*, 2017).

Residuos de clorpirifos y sus metabolitos han sido detectados en leche materna, así como en orina de las madres y neonatos en lactancia (Brahmand *et al.*, 2019). Su exposición se ha asociado con alteraciones en el Sistema Nervioso Central, deterioro cognitivo, cambios en hormonas sexuales y tiroideas (Recio *et al.*, 2005; Lacasaña *et al.*, 2010; Aguilar-Garduño *et al.*, 2013), distensión pulmonar (Lee *et al.*, 2004; Beane *et al.*, 2005), cáncer de pulmón (Engel *et al.*, 2005) y leucemia (Beane *et al.*, 2005). Padhi y Pati (2016), identificaron residuos de plaguicidas organoclorados en sangre, tejido adiposo y leche materna. Los problemas asociados a la presencia de esta clase de agroquímicos son daño neurológico, disrupción del sistema endocrino y supresión del sistema inmune (Xiaofei *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011). Se ha determinado que el riesgo de desarrollar cáncer de mamá en la edad adulta incrementa con exposiciones repetidas a DDT durante la niñez (Chang *et al.*, 2018). También se ha reportado daño al material genético en trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas (Jacobsen-Pereira *et al.*, 2018; Sappamrer *et al.*, 2019), como en agricultores de Perú expuestos a organofosforados (Rosales, 2015) o de Bolivia, donde se reportó el incremento en la frecuencia de micronúcleos en sangre periférica (Cuenca *et al.*, 2019).

En el sistema reproductor masculino los plaguicidas pueden reducir el peso de los testículos, inhibir la espermatogénesis, afectar la calidad de semen, la motilidad, morfología, densidad, viabilidad de espermatozoides, inducir daño en al ADN; además de cambios en los niveles de testosterona, hormonas foliculoestimulante y luteinizante, entre otros (Mehrprour *et al.*, 2014). En Hamadan, Irán, se realizó un estudio de la calidad de semen de trabajadores agrícolas y su relación con la exposición a organofosforados. Los resultados indican que, en presencia de plaguicidas, el número de espermatozoides y la motilidad son más bajos que en aquellas personas que no se encuentran expuestas

(Ghafouri *et al.*, 2019). En mujeres, los plaguicidas se han asociado con los efectos en la fertilidad, abortos espontáneos, muerte fetal, parto prematuro, anomalías en el desarrollo, bajo peso al nacer, trastornos ováricos e interrupción de la función hormonal (Schettler *et al.*, 2003). El DDT y el hexaclorociclohexano, se relacionan con la reducción de peso y circunferencia de la cabeza del recién nacido (Anand *et al.*, 2020). En Argentina, se encontró una relación entre el uso de glifosato en campos de cultivo, el incremento en las tasas de aborto espontáneo y la presencia de anomalías congénitas (Avila-Vazquez *et al.*, 2018).

1.12 Mecanismos moleculares de toxicidad de plaguicidas

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) son un grupo de moléculas con capacidad oxidante conformadas por el ion superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH^\cdot), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singlete (1O_2), entre otros. Similar a las ERO, se encuentran las Especies Reactivas de Nitrógeno (ERN, por ejemplo, el óxido nítrico (NO^\cdot) y peroxinitrito ($ONOO^-$)). Las ERO son normalmente generadas mediante el metabolismo celular o como producto de la actividad de complejos enzimáticos, como NADPH oxidasa y citocromo P450. Son esenciales en la señalización celular, estimulación de la proliferación celular, defensa contra agentes infecciosos y síntesis de compuestos biológicamente esenciales (Marotte y Zeni, 2013; Carrillo *et al.*, 2016). Sin embargo, existen diferentes factores, como el estilo de vida, situaciones patológicas y exposición a contaminantes, que pueden incrementar la producción y acumulación de ERO alterando la homeostasis intracelular de óxido-reducción, desencadenando así el estrés oxidante (San-Miguel y Martín-Gil, 2009; Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez, 2013). Ante este desequilibrio, las células cuentan con mecanismos de defensa antioxidante, que incluyen enzimas como SOD, CAT y Glutatión peroxidasa (GPx), así como compuestos no enzimáticos (vitamina C y E, bilirrubina, albumina, glutatión, entre otros). Las ERO tienen la capacidad de dañar biomoléculas, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, modificando su estructura y funcionamiento (González y Prieto, 2001; Zorrilla *et al.*, 2004; Pedraza y Cárdenas, 2006; Carrillo *et al.*, 2016). Como consecuencia, se pueden desarrollar eventos de apoptosis, necrosis, carcinogénesis y enfermedades hereditarias (Zorrilla *et al.*, 2004; Pedraza y Cárdenas, 2006; San-Miguel y Martín-Gil, 2009) (figura 3).

La toxicidad de plaguicidas mediante estrés oxidante, puede estar asociada a diversos mecanismos: a) el xenobiótico en sí puede ser una especie reactiva; b) puede ser metabolizado a una especie reactiva o generar ERO cuando es biotransformado; c) pueden

estimular la generación endógena de ERO por la alteración del funcionamiento de las cadenas de transporte de electrones del retículo endoplásmico y mitocondria; d) pueden entrar en ciclos redox y e) algunos interfieren con la defensa antioxidante, por ejemplo, cuando se conjugan con enzimas antioxidantes (Halliwell y Gutteridge, 2007; Lushchak *et al.*, 2018).

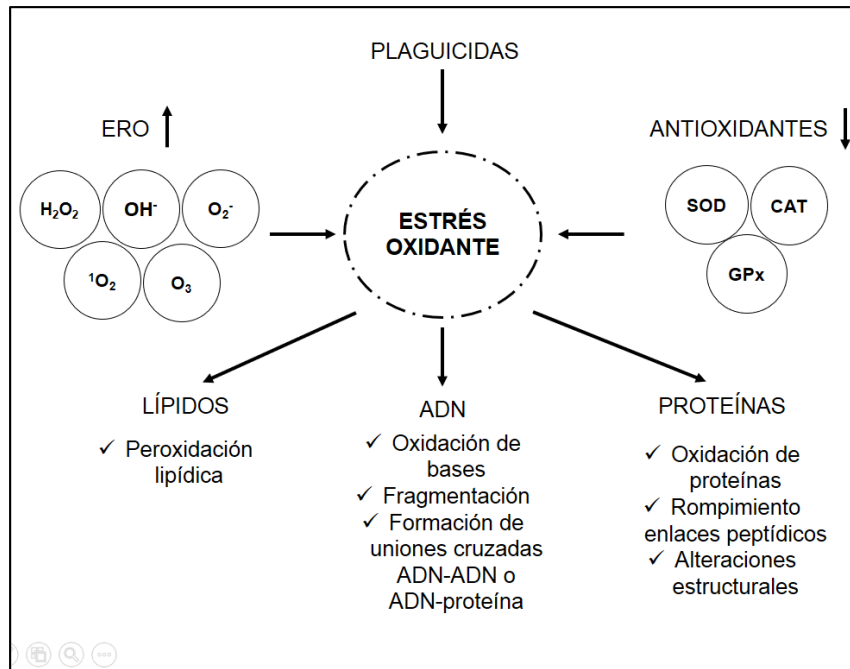


Figura 3. Implicaciones del estrés oxidante en biomoléculas. (Elaboración propia).

En cuanto se detecta daño en el ADN, la progresión del ciclo celular se detiene y se activan mecanismos de reparación. En caso de que la afectación sea muy severa, las células pueden entrar en un estado de senescencia, apoptosis o necrosis (De Zio *et al.*, 2013), como se ha reportado para células del hígado de *Danio rerio* (Jin *et al.*, 2011), linfocitos periféricos de ratas (Ojha y Gupta, 2017) y células germinales de *C. elegans* (Gartner *et al.*, 2000).

Otros efectos relacionados con plaguicidas que tienen como mecanismo secundario la generación de estrés oxidante, son reacciones inmunotóxicas, neurotóxicas y hepatotóxicas, entre otras (Cagnolo y Valladares, 2011; Hong *et al.*, 2020). Cerezer *et al.* (2020) reportaron que la mezcla de más de 20 ingredientes activos de plaguicidas (por ejemplo, clomazona, atrazina y propoxur) detectados en arroyos localizados al sur de Brasil inducen en crustáceos *Aegla aff. longirostri* incremento en la generación de ERO en músculos, branquias y hepatopáncreas. En ratones macho, imidacloprid causó estrés

oxidante, disminución del peso relativo y cambios histológicos en el hígado y deterioro de la función hepática (Yang *et al.*, 2020), mientras que en el cerebro de truchas arcoíris induce la formación de 8-OHdG (8-hidroxi-2'-desoxiguanosina), considerándose un potencial agente neurotóxico con la capacidad de afectar la locomoción de las especies (Topal *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2020). La exposición de embriones de *Danio rerio* a Oxidiazon-Butaclor, inhibió la actividad de las enzimas antioxidantes en el corazón y generó sobreproducción de ERO, MDA y apoptosis en cardiocitos (Huang *et al.*, 2020). El lindano ocasiona en *C. elegans* mayor permeabilidad de la barrera intestinal y alteraciones en locomoción, crecimiento y reproducción (Rera, 2012; Yu *et al.*, 2020). Mientras que, en abejas se reportó que los agroquímicos Sivanto™ (flupiradifurona) y Transform® (sulfoxaflor) inducen alta producción de ERO y de la proteína Caspasa-3, relacionada con el inicio de la apoptosis (Chakrabarti *et al.*, 2020). Para el caso de las plantas, también se ha registrado generación excesiva de ERO, daño a la membrana celular y disminución de la viabilidad de las células por exposición a imidacloprid, alfa-cipermetrina y benzoato de emamectina en plantas de tomate (Shakir *et al.*, 2018), potencialmente los plaguicidas pueden interferir en procesos de crecimiento celular, fotosíntesis y reacciones de biosíntesis (Shakir *et al.*, 2016).

1.13 Biomarcadores

Los biomarcadores son cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos medibles en un sistema biológico, originados cuando se encuentran expuestos a un agente tóxico de naturaleza química, física o biológica (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007; Toro-Restrepo, 2011; Arango y Sandra, 2012). Son útiles para evaluar el estado de salud y el riesgo potencial de enfermedades por exposición a contaminantes ambientales (Martínez-Valenzuela *et al.*, 2009), además permiten identificar las interacciones entre el contaminante y el organismo, así como medir efectos sub-letales a bajas concentraciones y por períodos cortos de exposición (Palacio, 2007). Se clasifican en tres tipos: de exposición, de efecto y de susceptibilidad (Gil y Pla, 2001).

Biomarcadores de exposición: Se emplean para evaluar en el organismo sustancias exógenas, metabolitos o productos generados por la interacción entre una célula o molécula blanco y el xenobiótico. Se pueden medir en sangre, orina, cabello, uñas o en ADN, ARN, lípidos y proteínas (Van Cauteren *et al.*, 1996). Se distinguen en dos tipos:

a) Los marcadores de dosis interna, cuantifican directamente la concentración del xenobiótico o sus metabolitos en tejidos, órganos o en el organismo completo (Timbrell, 1998), por ejemplo, los niveles de insecticidas neonicotinoides en orina (Ichikawa *et al.*,

2019) o piretroides, organofosforados y neonicotinoides en suero para estimar la exposición individual a estas sustancias (Li *et al.*, 2020a). Aunque este tipo de biomarcadores son una herramienta valiosa para evaluar las exposiciones a xenobióticos, no indican en qué medida un compuesto ha interactuado con objetivos moleculares y celulares (Perera y Weinstein, 2000).

b) Los biomarcadores de dosis biológicamente efectiva, indican que el agente tóxico ha interactuado con los órganos o células blanco, por lo que permiten cuantificar el producto de esa interacción (Timbrell, 1998). Por ejemplo, los aductos de ADN son moléculas sencillas o complejas que forma el agente tóxico o sus metabolitos con los ácidos nucleicos, proteínas o lípidos, mediante enlaces covalentes. De esta forma, la cuantificación de los aductos proporciona información sobre que el xenobiótico ha sido absorbido por el organismo, sometido a activación metabólica, unido al ADN celular y no ha sido reparado (Rundle *et al.*, 2002; Gallo *et al.*, 2008).

Biomarcadores de efecto: indican cambios bioquímicos o fisiológicos dentro de un organismo, como resultado de la exposición al xenobiótico. No identifican al xenobiótico, solo miden la respuesta tóxica en el organismo (Gil y Pla 2001), la cual puede ser asociada con el desarrollo de una enfermedad (Timbrell, 1998). Las lesiones en el ADN, una vez establecidas, pueden convertirse en cambios permanentes en las células dando lugar a una mutación, que finalmente desencadene en cáncer (Lodish *et al.*, 2000).

Biomarcadores de susceptibilidad: indican la sensibilidad del individuo a los efectos de un compuesto o un grupo de ellos. Se engloban a los factores genéticos, como polimorfismos, que son variaciones en la secuencia de ADN de genes entre individuos de la misma especie y que se presentan con una frecuencia superior al 1% (Van Cauwelaere *et al.*, 1996; Caratachea, 2007; Suárez-Larios, 2008).

Schlenk *et al.* (2008) propone que los usos potenciales de los biomarcadores en estudios de campo son:

*Para evaluar el efecto de un químico desconocido o una mezcla de productos químicos.

*Para demostrar biodisponibilidad o ausencia.

*Proporcionar oportunidades *in vitro* de comprensión de mecanismos.

*Priorizar sitios, contaminantes o muestras que requieran futuros análisis.

*Para evaluar el curso temporal o éxito de remediación.

*Para llevar a cabo vigilancia de los contaminantes presentes.

Debido a que algunos contaminantes ambientales como metales pesados, Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS) y plaguicidas, entre otros, tienen la capacidad de dañar el material genético, se ha implementado el uso de biomarcadores para la evaluación de genotoxicidad y el biomonitoreo de especies no blanco expuestas a estas sustancias (González-Mille *et al.*, 2010; de Lapuente *et al.*, 2015), incluyendo a los humanos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013; Suárez-Larios, 2019):

a) Aberraciones Cromosómicas (AC): es un biomarcador de efecto utilizado para detectar cambios en el número de cromosomas de una especie o alteraciones en su estructura, ya sea por reordenamientos, ganancia o pérdida de un segmento en el mismo o entre diferentes cromosomas (Luaces *et al.*, 2017; Zepeda *et al.*, 2019). Las aberraciones cromosómicas se asocian con enfermedades genéticas (Çelik *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2007) y son consideradas como un biomarcador de efecto temprano en la predicción de cáncer (Bonassi *et al.*, 2008; Minina *et al.*, 2018).

b) Micronúcleos (MN): es uno de los biomarcadores de efecto que se ha empleado aproximadamente durante 40 años (Zepeda *et al.*, 2019; Sommer *et al.*, 2020). Los MN se forman durante la transición metafase-anafase de la mitosis y pueden ser cromosomas completos rezagados por daño al huso mitótico, o fragmentos de cromosomas sin centrómero. En ambos casos, no se logran integrar al núcleo de las células hijas (Schmi, 1975), por lo que se rodean de membrana celular y se observan como pequeños núcleos (Miller *et al.*, 1998). Es ampliamente utilizado como indicador de daño cromosómico y de inestabilidad del genoma, porque evidencia alteraciones en el huso cromático o en la estructura de los cromosomas (Terradas *et al.*, 2016). Es frecuentemente empleado para el biomonitoreo en mamíferos (Iarmarcovai *et al.*, 2008; Dong *et al.*, 2019).

c) Intercambio de cromátidas Hermanas (ICH): son cambios recíprocos que ocurren en el ADN durante el periodo de síntesis del ciclo celular entre loci homólogos sin que se lleve a cabo pérdida de material genético ni modificaciones en la morfología de los cromosomas. Es un biomarcador de efecto muy sensible y es posible detectarlos en metafase (Calderón-Segura *et al.*, 2004; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013; Zepeda *et al.*, 2019). Es utilizado en monitoreo biológico de especies expuestas a agentes potencialmente genotóxicos debido a que en dosis muy bajas se observa un aumento de ICH por encima de la frecuencia

normal de incidencia poblacional, por lo que el análisis de estos intercambios ofrece una posibilidad útil y cuantitativa para medir el daño genético (Tucker y Preston, 1996; Luaces *et al.*, 2017; Azab *et al.*, 2019).

d) Ensayo cometa: es un biomarcador de efecto, rápido, simple, visual y sensible (Møller, 2006a). También es conocido como electroforesis en gel de células individuales (Single Cell Gel Electrophoresis) y es utilizado para medir rupturas en el ADN en células individuales, sitios álcali-lábiles, entrecruzamientos ADN-ADN y ADN-proteínas, así como la eficiencia en procesos de reparación de células (Speit y Hartmann, 2006; Shah *et al.*, 2016). Se fundamenta en que el ADN fragmentado adquiere una carga neta negativa que le permite migrar hacia el ánodo de un campo eléctrico y dependiendo del tamaño de los fragmentos su velocidad de desplazamiento será diferente. De esta manera, se pueden observar los núcleos no dañados como un círculo brillante, mientras que los fragmentos de ADN forman la figura de la cola de un cometa; de igual manera se pueden apreciar núcleos con apoptosis los cuales se observaran con forma de nubes donde todo el núcleo se encuentra completamente fragmentado (Rojas *et al.*, 1999; Moneef *et al.*, 2003). Se ha aplicado a diferentes organismos expuestos a plaguicidas (Calderón-Segura *et al.*, 1999; de Lapuente *et al.*, 2015; Calderón-Segura *et al.*, 2015; Calderón-Segura *et al.*, 2018) y a poblaciones humanas (Calderón-Segura *et al.*, 2012).

Existen una amplia gama de estudios que demuestran que distintos tipos de plaguicidas inducen daño al ADN, por ejemplo, Jayashree *et al.* (1994) reportaron que la exposición de ratones al fungicida Hinosan (edifenfos 50%) durante 24, 48, 72 y 96 horas, incrementa el porcentaje de aberraciones cromosómicas y la frecuencia de micronúcleos. Los fungicidas Pestanal® (zineb) y Azzuro (zineb 70%), aumentaron la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas y daño primario del ADN detectado mediante el ensayo cometa en células del ovario de hámster chinos (Soloneski *et al.*, 2002). En plantas *Tradescantia pallida* tratadas durante 8 horas con diferentes agroquímicos como, tiametoxam, acetamiprid, imidacloprid y fipronil, se originó aumento en la presencia de micronúcleos (de Morais *et al.*, 2019). La mezcla de cipermitrina con clorpirifos y de glifosato con clorpirifos, indujeron incremento en la presencia de micronúcleos y otras anomalías nucleares en eritrocitos de sangre periférica de crías de caimanes (*Caiman latirostris*) (González *et al.*, 2019). Otras investigaciones, se han enfocado en detectar la generación de estrés oxidante y daño al ADN (González *et al.*, 2003; Agrawal y Sharma, 2010; Han *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020a), entre ellos, Song *et al.* (2009) reportan que lombrices

expuestas durante 7, 14, 21 y 28 días al herbicida atrazina, presentan incremento en la actividad de peroxidasa (POD) e inhibición de SOD y CAT durante el tratamiento, mientras que, el ensayo cometa muestra que el *Oliver Tail Moment (OTM)*, aumenta conforme lo hace la concentración de atrazina. El insecticida Phoskill® (monocrotofós 36%) induce en branquias, pie, manto y músculos del bivalvo *Lamellidens marginali* expuestos durante 7 días, el incremento en las actividades de CAT, SOD, Glutación reductasa (GR) y Glutación-S-Transferasa (GST), así como aumento en la frecuencia de micronúcleos y los parámetros del ensayo cometa (longitud, intensidad y momento de la cauda); sin embargo, después de 4 días de recuperación, disminuyeron los valores de las enzimas, la frecuencia de micronúcleos y los parámetros del ensayo cometa (Mundhe *et al.*, 2016). En peces de agua dulce *Labeo rohita* expuestos durante 7, 14 y 21 días al insecticida profenofos, las actividades de GSH y peroxidación lipídica (LPO) aumentaron durante todo el periodo de estudio, mientras que SOD y CAT incrementaron en el día 7, posteriormente en los días 14 y 21 se registra un descenso en sus valores. Además, mediante el ensayo cometa, se detectó que el daño al ADN aumenta conforme la concentración y tiempo de exposición (Nataraj *et al.*, 2017). Cuando el fungicida piraclostrobina se encuentra en el suelo durante 7, 14, 21 y 28 días, la generación de ERO en lombrices de tierra como *Eisenia fetida* aumenta acorde lo hace la concentración del plaguicida. Los niveles de SOD se inhibieron después del día 14; la actividad de CAT aumentó desde el día 7 hasta el 21, mientras que en el día 28 disminuyó hasta los niveles registrados por el grupo testigo. Este mismo comportamiento se registró para GSH y POD, con la diferencia de que el día 28, se inhibió su actividad. Los resultados del daño al ADN evidencian que el *OTM* aumenta de manera dependiente de la dosis de exposición (Ma *et al.*, 2019). El herbicida tebuconazol ocasionó en ratas macho adultas estrés oxidante en el riñón, aumento en niveles de MDA, SOD, CAT y GPx, y oxidación de proteínas. Por último, el daño al ADN inducido por tebuconazol fue dependiente de la concentración de exposición (Othmène *et al.*, 2020). En truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) expuestas durante 4 días, el insecticida Fipronil® (fenilpirilazo) inhibe la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx e incrementa los niveles de parámetros de estrés oxidante, MDA, Mieloperoxidasa (MPO), 8-OHdG y la actividad de Caspasa-3 en branquias e hígado (Uçar *et al.*, 2020).

2. ANTECEDENTES

2.1 Insecticidas cetoenoles

Los insecticidas cetoenoles son un nuevo grupo de plaguicidas desarrollados por Bayer CropScience. Su formulación química deriva de ácidos tetrónicos y tetrámicos (Athanasellis *et al.*, 2010).

Los ácidos tetrónicos y tetrámicos se caracterizan por ser compuestos que presentan tautomería cetoenol, por lo que pueden encontrarse tanto en la forma ceto como en la enol (Abdou *et al.*, 2019). Los compuestos tautoméricos, son isómeros que se van a ver modificados por la migración de un átomo de hidrógeno o protón y de los enlaces simples y dobles adyacentes. La tautomería heterocíclica más conocida es la forma cetoenol, en la cual los hidrógenos unidos a los carbonos alfa de la cetona van a migrar hacia el oxígeno del grupo carbonilo y formaran un enol, que se caracteriza por la presencia de un grupo hidroxilo unido a un átomo de carbono que tiene un doble enlace con el carbono alfa (Robledo, 2015).

El grupo de insecticidas y acaricidas cetoenoles está conformado por tres principios activos: spiroadiclofen, spiromesifen y spirotetramat (figura 4), que ofrecen una nueva alternativa en la protección de los cultivos por su novedoso mecanismo de acción, basado en la inhibición de la síntesis de lípidos por su interacción con la enzima Acetil-CoA carboxilasa (Bretschneider *et al.*, 2012). Lo anterior ocasiona que no se lleve a cabo la carboxilación de la Acetil CoA por lo que, la IARC los clasifica dentro del grupo 23: Inhibidores de la síntesis de lípidos (Lümmen *et al.*, 2014). A continuación, se realiza una pequeña descripción de cada ingrediente activo:

Envidor[®] 240SC (spiroadiclofen) es el primer miembro del grupo de los cetoenoles y fue lanzado al mercado en 2002. Es un acaricida foliar no sistémico y selectivo que actúa en todas las etapas de desarrollo de los ácaros (Marčić *et al.*, 2011; Bretschneider *et al.*, 2012), por ejemplo, *Tetranychus sp.*, *Panonychus sp.*, *Brevipalpus sp.*, *Phyllocoptruta sp.* y *Aculus sp.* (Rauch *et al.*, 2002). Es utilizado en cultivos de cítricos, manzanas, peras, cerezas, ciruelas, plátanos, almendras y avellanas (Marčić *et al.*, 2011).

Oberon[®] 240SC (spiromesifen) es un acaricida e insecticida de contacto foliar no sistémico que controla a las poblaciones de ácaros, arañas rojas y moscas blancas, especialmente en estadios juveniles, de ninfas y pupas (Kodandaram *et al.*, 2016). Es utilizado en

vegetales, frutas, algodón, maíz y algunas plantas ornamentales (Cantoni *et al.*, 2008 Bretschneider *et al.*, 2012).

Movento® 240SC (spirotetramat) es el tercer miembro de la familia de los cetoenoles, sintetizado en 2008 (Nauen *et al.*, 2008). Es un insecticida sistémico que actúa por ingestión causando la muerte de los organismos dentro de los 2 a 10 días posteriores de su aplicación. Tiene la capacidad de penetrar los tejidos de la planta, hidrolizarse y moverse mediante el xilema y floema, otorgando protección a la raíz y las hojas que aparezcan después de la aplicación (Marčić *et al.*, 2011; Bretschneider *et al.*, 2012).

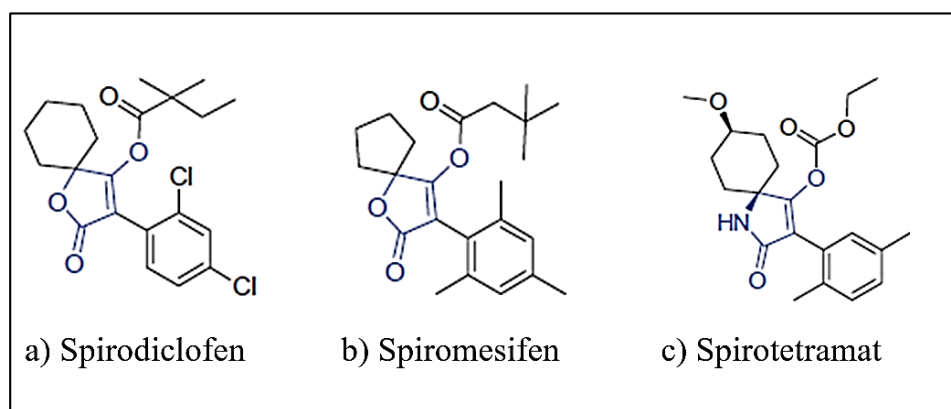


Figura 4. Estructura química de los tres principios activos de los insecticidas cetoenoles a) Spirodiclofen (Envidor® 240SC), b) Spiromesifen (Oberon® 240SC) y c) Spirotetramat (Movento® 240SC) (Modificada de Ke *et al.*, 2010).

En 2013, los agroquímicos cetoenoles tenían un valor en el mercado de 456 millones de dólares (Sparks y Nauen, 2015) y en 2015 representaban el 3% de los insecticidas que se vendían con un valor de más de 500 millones de dólares (Nauen *et al.*, 2019).

2.2 Toxicidad de cetoenoles

Envidor® 240SC actúa en todas las etapas de desarrollo de los ácaros, incluyendo los huevos. Ha mostrado tener poca o nula toxicidad por exposición oral, dérmica o por inhalación; no es irritante para los ojos, pero sí para la piel. No se considera un agente mutagénico, genotóxico o neurotóxico; sin embargo, es considerado como agente carcinogénico porque induce adenocarcinomas en el útero de ratas y tumores en el hígado de ratones (Sverdrup *et al.*, 2011). Afecta la fecundidad de hembras, impidiendo que depositen huevos y posteriormente, mueran por la acumulación de estos en su cuerpo. Además, aquellos huevos que son puestos por hembras tratadas con dosis sub-letales, no son fértiles (Wachendorff *et al.*, 2002; Nauen, 2005). En ácaros *Oligota*

flavicornis, se modificaron diferentes parámetros de las tablas de vida, las etapas pre-adultas de estos organismos se alargaron significativamente, mientras que en los adultos disminuyó la longevidad y fecundidad (Lin *et al.*, 2019). Para *Tetranychus urticae* también resultaron afectados parámetros como la tasa de reproducción y de crecimiento (Saber *et al.*, 2018). En 2013, una Evaluación de Riesgo del i.a spirodiclofen, reportó que su uso en cítricos es seguro para los humanos, debido a que los residuos encontrados se localizan por debajo del Límite Máximo de Residuos (LMR) propuestos por la FAO y la OMS (LMR=0.5 mg/kg) y tiene una vida media de 6.5 a 13.6 días (Sun *et al.*, 2013).

Oberon[®] 240SC presenta toxicidad aguda, oral, dérmica e inhalatoria en ratas. No es considerado un agente mutagénico, ni carcinógeno, sin embargo, es muy tóxico para organismos acuáticos (Bayer, 2020). Cuando Oberon[®] 240SC fue aplicado tópicamente a larvas de *Drosophila melanogaster*, se detectaron alteraciones en parámetros reproductivos y bioquímicos, inhibición del crecimiento y desarrollo de ovarios, reducción de su peso y el número de ovocitos. También, los niveles de carbohidratos y glicógeno se alteraron durante la maduración sexual. Se registró la disminución de la fecundidad, fertilidad y número de descendientes y una mayor susceptibilidad para machos que hembras (Kissoum *et al.*, 2020). Aunado a lo anterior, en pupas de *D. melanogaster*, disminuyó el peso corporal y la cantidad de lípidos en todo el cuerpo, aumentó el MDA y la actividad de la lactata deshidrogenasa (Kissoum y Soltani, 2016). Mientras que, un comportamiento similar se observó para el mosquito *Culiseta longiareolata*, cuando se expuso en el estadio larval, ocasionando la disminución del peso y volumen corporal y el incremento de biomarcadores de estrés oxidante (MDA y CAT), así como reducción de niveles de proteínas, lípidos y carbohidratos (Bouabida *et al.*, 2017). Por otra parte, fue estudiada la disipación del i.a spiromesifen en suelo y repollo. Los niveles de residuos detectados fueron menores que los establecidos a nivel internacional (LMR= 0.02 mg/kg) y después de 30 días no se encontraron residuos de spiromesifen en suelo (Siddamallaiah y Mohapatra, 2016). Otros estudios se han enfocado en la detección de los cetoenoles en el ambiente (Zhang *et al.*, 2019) (Tabla 6).

Tabla 6. Niveles de insecticidas cetoenoles en el ambiente.

Compuesto	Medio	Referencias
Spirodiclofen	Cítricos 0.060 ± 0.020 mg/kg Cáscara de cítricos 0.307 ± 0.069 mg/kg Cítricos (Yuzu) 0.11-1.89 μ g/g Té de Yuzu 0.13-0.29 μ g/g Sedimentos de río 0.0881 μ g/g	Lee <i>et al.</i> , 2012; Sun <i>et al.</i> , 2013; Babić <i>et al.</i> , 2018
Spiromesifen	Polen almacenado 63 μ g/kg Suelo franco arenoso 0.04 μ g/mL Tomate 0.855-1.545 mg/kg Hojas de tomate 5.54-8.226 mg/kg Suelo 0.532-1.032 mg/kg Sedimentos de río 0.431-11.982 μ g/g	Bernal <i>et al.</i> , 2010; Mate <i>et al.</i> , 2014; Siddamallaiah <i>et al.</i> , 2017; Babić <i>et al.</i> , 2018.
Spirotetramat	Mango 0.0327-0.483 mg/kg Pepinos, manzanas y tomates <0.08 μ g/kg Pimienta 0.08-0.12 mg/kg Sedimentos de río 1.750 μ g/g	Mohapatra <i>et al.</i> , 2012; Zhu <i>et al.</i> , 2013; Li <i>et al.</i> , 2016; Babić <i>et al.</i> , 2018

2.3 Movento® 240SC

2.3.1 Movento® 240SC (Spirotetramat)

Movento® 240SC es un nuevo insecticida que pertenece al grupo de los cetoenoles. Contiene a spirotetramat como ingrediente activo. Su nombre y estructura química es (cis-3-(2, 5-dimetilfenil)-8-metoxi-2-oxo-1-azaespiro-dec-3-en-4-il-etil carbonato) (figura 4) (Nauen *et al.*, 2008). Es de color blanco a beige, de olor débil y su log Kow=2.5 (pH=7) (Bayer, 2021). Se utiliza en cultivos de Estados Unidos, Brasil, México, Australia, Canadá y Nueva Zelanda (APVMA, 2009). En 2013 en el mercado global tenía un valor de 172.5 millones de dólares y se ha proyectado que entre 2014 y 2020 las ganancias se incrementen en un 4.4% cada año hasta alcanzar los 233.1 millones de dólares, además, es posible que en los próximos años sea uno de los insecticidas más utilizados en Medio Oriente, África y América Latina (Transparency, 2019).

Es un insecticida sistémico, que se hidroliza cuando ingresa a la planta, permitiendo que se distribuya a través del xilema y el floema. Es aplicado a cultivos de solanáceas (chile,

tomate, papa y berenjena), cucurbitáceas (calabaza, calabacita, melón, pepino y sandía) y crucíferas (brócoli, col, coliflor y col de Bruselas) (Nauen *et al.*, 2008; Marčić *et al.*, 2011; Bretschneider *et al.*, 2012). Actúa por contacto e ingestión, resultando más efectivo cuando ingresa por vía oral que si es por contacto directo con los organismos (Nauen *et al.*, 2008; Vermeer y Baur, 2008). Es utilizado para el control de afidos (*Aphis gossypii*, *Myzus persicae*), moscas blancas (*Bemisia tabaci*), psílidos (*Paratrioza cockerelli*), trips (*Frankliniella occidentalis*) y cochinillas blancas (*Pseudococcus longispinus*), principalmente en los estadios juveniles o inmaduros, impidiendo la eliminación completa de su exoesqueleto y su crecimiento, además de alterar su movilidad. También afecta la fecundidad con disminución en el número de huevos depositados, la fertilidad con la factibilidad de huevos producidos y la viabilidad de los organismos, aunado a esto, genera la acumulación de huevos en las hembras, conllevando a su muerte (Nauen *et al.*, 2008; Kühnhold *et al.*, 2008; Marčić *et al.*, 2011; Kodandaram *et al.*, 2016).

En México, Movento® 240SC fue registrado para su uso ante la Comisión Federal para la Protección de Riesgo Sanitario desde noviembre de 2010 hasta junio del 2015, sin embargo, no aparece en el Catálogo de Plaguicidas, ni se reportan los límites máximo de residuos (LMR), recomendaciones o condiciones de uso (COFEPRIS, 2009). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) publicó en 2011 los LMR en diferentes vegetales y frutas (EPA, 2011) y tanto esta autoridad como la Autoridad Australiana de Pesticidas y Medicamentos Veterinarios (APVM, por sus siglas en inglés) han dado recomendaciones de uso para este agroquímico (APVMA, 2015; EPA, 2017). En 2019 la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) actualizó los LMR para frutas y bayas (EFSA, 2019).

2.3.2 Rutas de exposición

Cuando Movento® 240SC es aplicado en cultivos mediante pulverización aérea o terrestre, sufre diferentes modificaciones fisicoquímicas que dependen de las características ambientales del lugar, presentando un comportamiento diferente cuando se encuentra en el suelo, agua, atmósfera o biota. Movento® 240SC puede entrar en contacto con los seres humanos u otros organismos por inhalación, absorción cutánea (del 1 al 10% del producto aplicado) o ingesta, por medio de alimentos contaminados con residuos del plaguicida (Sverdrup, 2012; Bayer, 2021). Las estimaciones realizadas de exposición de los operadores no superan los 0.05 mg/kg/día. Una vez que ingresa al organismo,

se distribuye mediante la sangre, presentando alta afinidad por el hígado y los riñones. Se metaboliza completamente a su principal metabolito: spirotetramat-enol. La principal vía de eliminación es la orina, mientras que, la vía fecal contribuye con un 2-11%. La excreción de los compuestos es casi completa, por lo que, la acumulación de spirotetramat es poco probable, pero no se descarta que a dosis altas pueda bioacumularse en los organismos (Sverdrup, 2012).

2.3.3 Metabolismo de Movento® 240SC en animales y plantas

Se ha estudiado el metabolismo de Movento® 240SC en cultivos de: manzanas, lechuga, algodón, papas y espinacas. Se aplicaron foliarmente 576, 167, 264, 308 y 201.6 g i.a/ha respectivamente, lo que representa 2.5, 1.8, 1.1 y 2 veces la dosis recomendada para su uso en manzana, lechuga, algodón, papas y espinacas (Salazar *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2016). En general, la hidrólisis es la reacción que predomina para la degradación del compuesto, dando paso a spirotetramat-enol, el cual se hidroxila formando spirotetramat-enol-cetohidroxi o conjugados con glucosa, para producir spirotetramat-enol-glucosidado (figura 5). A pesar de que se utilizaron dosis más altas que las recomendadas, los niveles de residuos cuantificados no rebasaron los LMR establecidos por la EPA (2011). Los cultivos con las concentraciones más altas de residuos fueron las hojas de manzanas, hojas de papas, lechugas, manzana, papa y la semilla de algodón (APVMA, 2009; Salazar *et al.*, 2016). En la tabla 7, se resumen los niveles de residuos de Movento® 240SC en los diferentes cultivos.

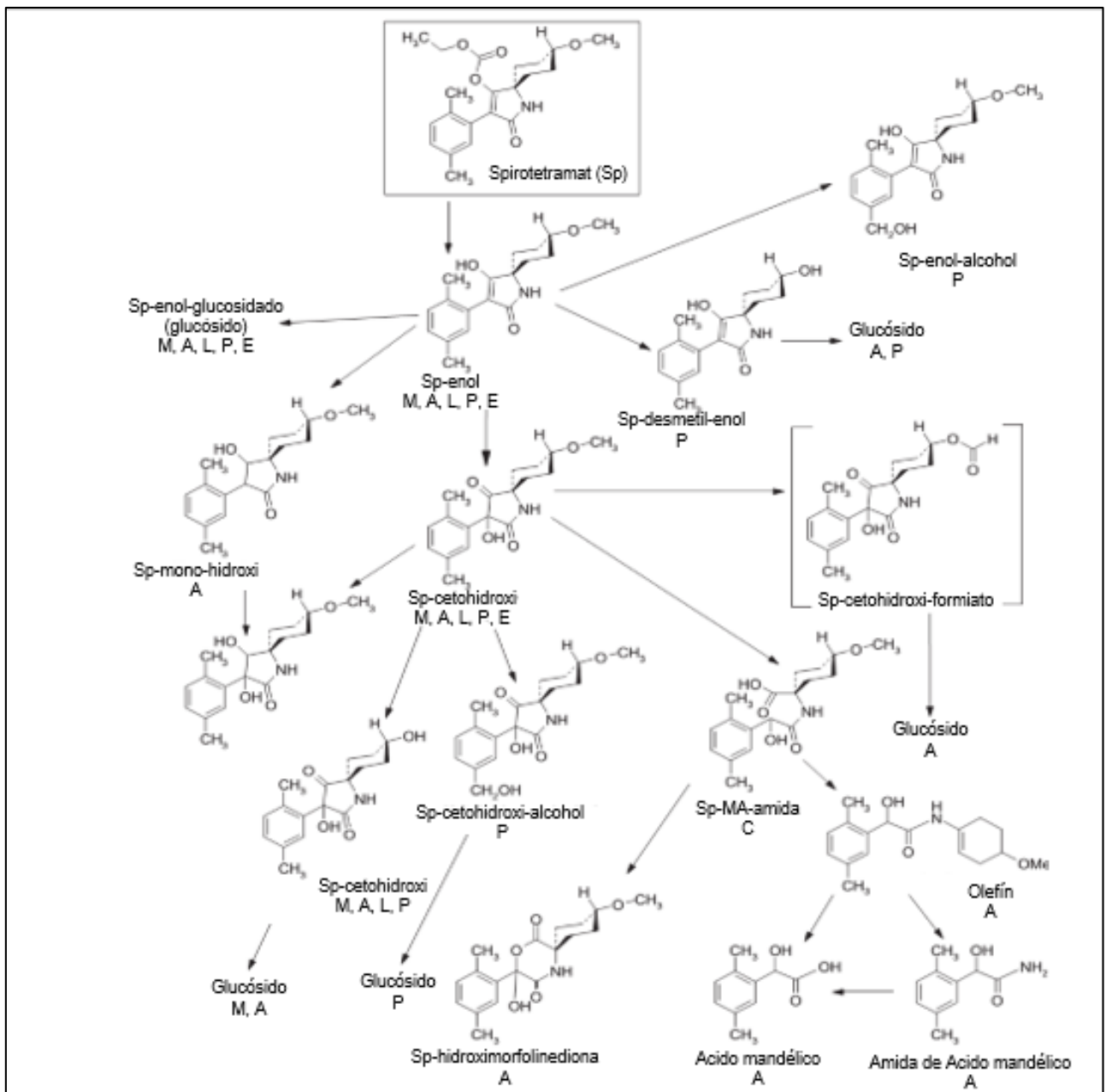


Figura 5. Metabolismo de Movento® 240SC en plantas. Sp: Spirotetramat, M: Manzanas, A: Algodón, L: Lechuga, P: Papas. (Modificado de Sur, 2008; Chen *et al.*, 2016).

Tabla 7. Niveles de residuos de Movento® 240SC (spirotetramat) en los diferentes cultivos.

Compuesto (mg kg ⁻¹)	Manzana (fruto)	Manzana (Hojas)	Lechuga	Algodón (Semilla)	Papa (Tubérculo)	Papa (Hoja)	Espinaca (hoja)	Espinaca (tallo)	Espinaca (raíz)
Spirotetramat	0.32	26.37	1.75	<0.001	-	5.455	--	--	--
Spirotetramat-enol	0.01	4.26	0.56	0.047	0.168	0.870	0.0423- 0.1043	0.0062- 0.0115	0.0030- 0.0336
Spirotetramat-enol-glucosidado	0.03	-	0.36	0.004	0.006	0.395	<0.0021	0.0025- 0.0075	--
Spirotetramat-enol-cetohidroxi	0.05	1.09	0.20	0.011	0.018	2.745	0.0054- 0.0748	--	--
Spirotetramat-mono-hidroxi	0.10	-	-	-	-	-	--	--	--
Residuos totales	0.61	36.63	3.13	0.119	0.225	11.057	--	--	--
LMR ^a	0.7	NP	8	0.3	1.6	NP	NP	NP	NP

^a: Límite Máximo de residuos. EPA (2011).

NP: No publicado

Modificado de Salazar *et al.*, 2016; Sur, 2008, y Chen *et al.*, 2016.

El metabolismo en animales se estudió en ratas, las cuales fueron expuestas por vía oral a diferentes dosis de Movento® 240SC (una única dosis de 2 o 100 mg/kg peso corporal o dosis repetidas de 2 mg/kg peso corporal durante 14 días). En todos los casos, la tasa de absorción fue entre 89 y 98% (APVMA, 2009; Zhu *et al.*, 2013). En mamíferos, el hígado y el riñón son los principales órganos blanco de Movento® 240SC. Se ha propuesto que en ratas la vía metabólica principal es la escisión del grupo éster del principio activo Spirotetramat que resulta en la formación de Spirotetramat-enol como metabolito primario (53-87% de la dosis) a partir del cual se derivan los otros metabolitos secundarios: Spirotetramat-desmetil-enol y Spirotetramat-cetohidroxi, entre otros (figura 6) (APVMA, 2009; Zhu *et al.*, 2013). En ratas macho, el metabolismo de Spirotetramat es mayor (25-37%) en comparación con las hembras (5-10%). La eliminación de Spirotetramat ocurre principalmente a través de la orina (89-98%) a partir de las 24 horas (APVM, 2009). Por otra parte, en el pulgón del algodón (*Aphis gossypii*), se ha propuesto la participación de la familia de citocromos P450, específicamente de la isoforma CYP6A2, para la detoxificación y resistencia de estos organismos a Movento® 240SC (Peng *et al.*, 2016). Asimismo, en otro estudio realizado se determinó que la glicosilación mediante las UDP-Glicosiltransferasas (UGT344M2) también contribuyen a la resistencia del pulgón de algodón (Pan *et al.*, 2020).

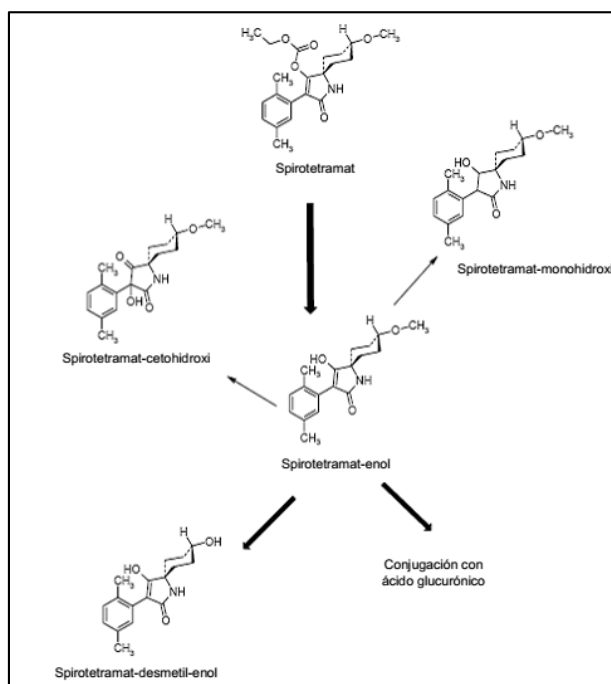


Figura 6. Estructura química de los principales compuestos metabólicos de Spirotetramat en ratas. (Modificado de APVMA, 2009).

2.3.4 Persistencia de Movento® 240SC en el ambiente

La tasa de disipación de los plaguicidas y sus metabolitos es uno de los parámetros más importantes cuando se evalúa la seguridad de los compuestos químicos (Boesten *et al.*, 2005; Lewis y Tzilivakis, 2017). Sverdrup *et al.* (2012) reportaron que cuando spirotetramat se encuentra en el suelo, el proceso más importante es la degradación aeróbica por microorganismos (>90%). La vida media del compuesto es de 0.10-0.30 días, hidrolizándose totalmente a su principal metabolito: spirotetramat-enol y posteriormente, se forman otros sub-productos hasta llegar a spirotetramat-MA-amida (5.2%), culminando esta ruta primaria con su mineralización. La adsorción a las partículas del suelo se considera como moderada, por lo que la capacidad de contaminar agua subterránea es reducida. Los principales parámetros relacionados con la retención de spirotetramat en el suelo son elevadas temperaturas, valores de pH relativamente altos, bajo contenido de ácidos húmicos, así como la adición de algunos surfactantes (Sverdrup *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2018b). En el agua, la hidrólisis depende del pH y de la temperatura; a 25°C y pH=4 la vida media es de 32.5 días; a pH=7 es de 8.6 días y a pH=9 es de 0.32 días; cuando la temperatura disminuye, también lo hace la tasa de degradación. La fotólisis en agua también es un mecanismo importante para la disipación de spirotetramat en este compartimiento (Sverdrup *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2018c). Se considera que el compuesto no es un contaminante potencial para el suelo o el agua. En cuanto a la atmósfera, el compuesto tiene una presión de vapor de 5.6×10^{-9} Pa a 20 °C, lo que indica, que tiene una baja volatilidad, por lo tanto, no se espera una transferencia significativa a la atmósfera (figura 7) (Sverdrup *et al.*, 2012). Por otra parte, la manzana, durazno, repollo, tomates, papas y pepinos han sido otras frutas y vegetales en las que se ha cuantificado spirotetramat y sus cuatro principales metabolitos (Zhu *et al.*, 2013).

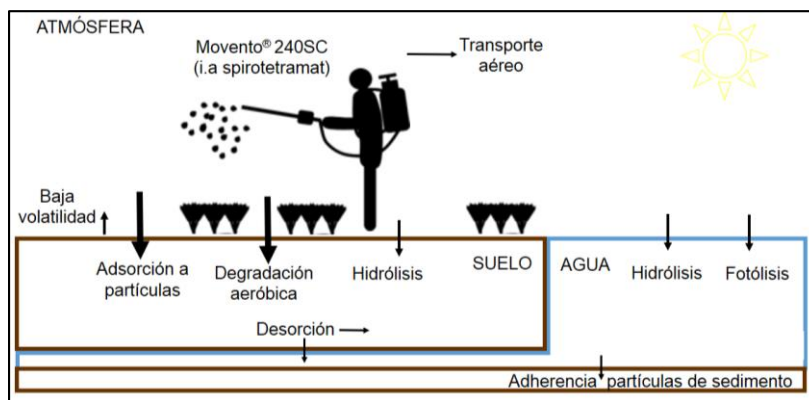


Figura 7. Dinámica de Movento® 240SC en los diferentes compartimientos ambientales. (Elaboración propia).

2.3.5 Efectos tóxicos de Movento® 240SC

Movento® 240SC presenta baja toxicidad aguda. La LD₅₀ oral y dérmica en ratas es >2000 mg/kg. En seres humanos puede causar dermatitis por contacto (Bayer, 2021). Los estudios con el ingrediente activo de Movento® 240SC han evidencia que no es un potencial genotóxico ni carcinógeno para ratas debido a resultados negativos en los ensayos de mutaciones puntuales y aberraciones cromosómicas; sin embargo, se considera neurotóxico, además, degenera y reduce el peso de los testículos en rata y produce alteraciones en espermatozoides, afectando el rendimiento reproductivo y la descendencia (Sverdrup *et al.*, 2012). Se ha reportado que en perros disminuye el peso corporal y tamaño del timo y la cantidad de hormonas tiroideas en el torrente sanguíneo, que se relacionan con el desarrollo temprano de hipotiroidismo, además de producir dilatación cerebral (Sverdrup *et al.*, 2012).

Investigaciones más recientes han informado que el ingrediente activo de Movento® 240SC, tiene efectos tóxicos en el sistema reproductor de organismos no blanco, como ratas (Kafshgiri *et al.*, 2016) y peces (*Danio rerio*) (Wu *et al.*, 2018), ocasionando retraso en la ovogénesis y maduración del ovocito, disminución del tamaño de las cámaras ováricas y peso de los ovarios, alteraciones en la foliculogénesis, expresión de genes como FoxO1 y Vnn1, estrés oxidante y peroxidación lipídica (Kafshgiri *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2018). Además, en el sapo *Bufo bufo gargarizans* se considera potencialmente tóxico a concentraciones sub-letales, induciendo estrés oxidante y peroxidación lipídica (Yin *et al.*, 2014), mientras que en el nematodo *Eisenia fetida* se detectó daño al ADN en celomocitos (Zhang *et al.*, 2015) al igual que en linfocitos humanos *in vitro* (Zaldivar, 2016).

2.4 *Drosophila melanogaster* como organismo modelo

Las Evaluaciones de Riesgo Ecológicas, son una herramienta fundamental para la gestión de sustancias químicas. Para realizarlas, se utilizan los resultados de pruebas toxicológicas en organismos modelo como el pez cebra (*Danio rerio*), la pulga de agua (*Daphnia magna*) y roedores, en las que se evalúan efectos adversos en el desarrollo, alteraciones en la fisiología y comportamiento (Altshuler *et al.*, 2011; Farraj *et al.*, 2011; Dai *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2015; Chamanza y Wright, 2015). Recientemente ha surgido el término Drosophotoxicología (*Drosophotoxicology*) por la implementación de *Drosophila melanogaster* en toxicología en diferentes estadios (embrión, larvas, pupas y adultos) (Affleck y Walker, 2019), para evaluar los contaminantes ambientales, como la polución del aire (de Santana *et al.*, 2018), el mercurio (González-Marín, 2018),

plomo (Hirsch *et al.*, 2003), arsénico (Ortiz *et al.*, 2009), nanopartículas de metales (Alaraby *et al.*, 2019) y plaguicidas (Misra *et al.*, 2014; Castañeda-Sortibrán *et al.*, 2019), y establecer los mecanismos genéticos y moleculares de los xenobióticos (Rand *et al.*, 2014).

Drosophila se introdujo como organismo modelo en el siglo XX para estudiar enfermedades humanas y entender procesos celulares básicos. Actualmente es empleada como modelo para el estudio de cáncer, comportamiento, biología del desarrollo, tratamientos con fármacos, genética, daño genotóxico, entre otros. La idea central de esta elección es que la complejidad de cualquier proceso biológico en moscas es mucho más asequible que en vertebrados, ayudando por lo tanto a entender las complejas relaciones causa-efecto en un proceso biológico (Beckingham *et al.*, 2007).

Uno de los avances más importantes respecto a *Drosophila* se produjo a inicios del siglo XXI, cuando la secuencia completa de su genoma fue publicada (Adams *et al.*, 2000). De esta manera, se establece que cada gen de *Drosophila* está representado normalmente por cuatro homólogos en vertebrados y es una versión simplificada del genoma humano. Debido a la conservación fundamental de genes y 31 procesos entre moscas y seres humanos, estos estudios son relevantes y se pueden extrapolar a los vertebrados (Roote y Prokop, 2013). Además, las moscas y los mamíferos pueden compartir aproximadamente el 40% de las secuencias de nucleótidos y proteínas en sus homólogos (Ye *et al.*, 2007; Pandey y Nichols, 2011).

El Centro Europeo para la Validación de Modelos Alternativos (CEVMA) ha recomendado el uso de *Drosophila* como organismo modelo en estudios de toxicidad por cumplir con las 3Rs: reducir, refinar y reemplazar el uso de otros animales en laboratorio (Sharma *et al.*, 2012). Otras ventajas que posee *D. melanogaster* como organismo modelo incluyen un ciclo de vida corto, una reproducción rápida, se obtiene una abundante descendencia, es de fácil manejo, bajo costo de mantenimiento y pueden llevarse a cabo experimentos *in vivo* (Roote y Prokop, 2013).

2.5 *Drosophila* como organismo modelo en estudios de ecotoxicidad

La Ecotoxicología es una ciencia moderna que contribuye a generar conocimiento sobre los impactos de los contaminantes ambientales en los ecosistemas. Por consiguiente, los bioensayos son una herramienta importante para evaluar las

respuestas de los organismos a concentraciones sub-letales en el comportamiento, crecimiento, desarrollo, fertilidad y fecundidad, por la presencia de estresores ambientales y su relación con el mantenimiento y supervivencia de las poblaciones a diferentes niveles de organización y la dinámica de los ecosistemas (Jha, 2008).

Drosophila melanogaster ha sido utilizada en diferentes investigaciones de ecotoxicidad, para determinar los posibles riesgos y consecuencias de los contaminantes en organismos no blanco (Tabla 8). Cuando larvas de *D. melanogaster* fueron expuestas al plaguicida Palace[®], se observaron alteraciones en el desarrollo, sobrevivencia, comportamiento y función de la mitocondria (Leão *et al.*, 2019); con Atrazina, se aceleró el tiempo de desarrollo y disminuyó la proporción de pupas y de adultos que emergieron y sobrevivieron (Marcus *et al.*, 2016). Imidacloprid modificó la actividad locomotora y el comportamiento de cortejo y apareamiento (Young *et al.*, 2019). El Paraquat, indujo deterioro locomotor y neurodegeneración (Nivedhita *et al.*, 2017). La Azadiractina afectó la dinámica de las poblaciones de moscas, por cambios en la supervivencia, retrasa el desarrollo de larvas y pupas y modificó la proporción hembras:machos (Ferdenache *et al.*, 2019). El insecticida fluorado, criolita, incrementó la duración de los estadios de larvas a pupa y disminuyó el porcentaje de nacimiento de moscas conforme la dosis aumenta (Podder *et al.*, 2005).

Otro tipo de contaminantes que han sido estudiados, son los metales. Peterson *et al.* (2020), reportaron que hembras adultas con exposición a plomo (Pb) (desde que eran huevos), ovipositaron en promedio más huevos que el grupo testigo, además de que presentaron una preferencia por los sustratos que contenían Pb. Esto se puede deber a que bajas concentraciones de Pb se estimula la ovoposición, mientras que a altas concentraciones ocurre lo contrario (Peterson *et al.*, 2020). Además, se propone que las moscas ya no son capaces de detectar los sitios contaminados con este metal, resultando en un impacto negativo en la tasa de supervivencia de larvas y el número de moscas que llegan a la edad adulta, debido a que el Pb se acumula en los tejidos de los organismos (Peterson *et al.*, 2020). En otra investigación con nanopartículas de plata (AgNP), la exposición aguda provocó que las pupas no eclosionaran, mientras que la toxicidad crónica resultó en problemas transgeneracionales (Panacek *et al.*, 2011). Las AgNP son capaces de atravesar la barrera intestinal y tanto las AgNP y el nitrato de plata producen daño al ADN en hemocitos (Alaraby *et al.*, 2019).

Tabla 8. Descripción de diferentes investigaciones en ecotoxicidad realizadas con *Drosophila melanogaster* como organismo modelo.

Compuesto químico	Características de la exposición	Efecto observado	Referencia
Criolita	5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 150 y 200 ppm.	Se observó incremento en la duración del ciclo de vida principalmente de los estadios larvarios y de pupa, así como disminución de la tasa de eclosión.	Podder y Roy, 2005
Nanopartículas de plata (AgNPs)	Exposición aguda: 10, 20, 40, 60, 80 y 100 mg/L Exposición crónica: 5 mg/L	A 40, 60 80 y 100 mg/L se altera el desarrollo larvario y disminución de la tasa de eclosión. En las moscas eclosionadas se afecta la pigmentación y la tasa de fertilidad.	Panacek <i>et al.</i> , 2011
Atrazina	2 y 20 ppb, 2 y 20 ppm.	Disminuyo la tasa de eclosión y sobrevivencia de los organismos.	Marcus <i>et al.</i> , 2016
Paraquat	5, 10, 15, 20, 25, 30 y 40 mM.	Se detectó daño mitocondrial en el cerebro, neurodegeneración y cambios en la locomoción de los individuos expuestos.	Niveditha <i>et al.</i> , 2017
AgNPs y Nitrato de Plata (AgNO ₃)	0.016, 0.08, 0.4, 1 y 2 mM de AgNPs o AgNO ₃	El AgNO ₃ disminuye la sobrevivencia de las moscas adultas. El AgNO ₃ yAgNPs produjeron estrés oxidante y daño al ADN en hemocitos.	Alaraby <i>et al.</i> , 2019
Neem Azal®-T/S (Azadiractina 1%)	0.28 y 0.67 µg	La descendencia de las larvas expuestas, presentaron disminución en la tasa de fecundidad y fertilidad, con disminución del número de huevos ovipositados. El compuesto retrasó en el desarrollo de larvario y pupal, alteraciones en la morfología y aumentó en la proporción de nacimiento de machos.	Ferdenache <i>et al.</i> , 2019

Palace® (2,4-D y picloram)	Larvas: 0.011, 0.022, 0.112, 0.224 y 1.12% de Palace®. Moscas adultas: 0.224, 1.12, 2.24, 11.2 y 22.4% de Palace®.	Se redujo la tasa de eclosión de los organismos expuestos. Incremento la tasa de mortalidad, y se presentó déficit de la capacidad motora y alteraciones en la función mitocondrial, se observó mayor sensibilidad a los efectos en machos que en hembras.	Leão <i>et al.</i> , 2019
Ciprofloxacino	0.95, 1.90 y 3.2 mg/mL	Se afectó la viabilidad de las células adiposas y peso de las larvas, así como la tasa de eclosión. Además, aumento la expresión de marcadores de estrés oxidante (SOD y CAT).	Liu <i>et al.</i> , 2019
Imidacloprid	0.04, 0.08, 0.12 y 0.2 ppm.	Se presentaron afectaciones en la actividad locomotora, los ciclos circadianos, el comportamiento de cortejo y apareamiento.	Young <i>et al.</i> , 2019
Pb ²⁺	250, 500 y 1000 µM.	Se observó la bioacumulación de plomo en los organismos expuestos. Además, se incrementó la tasa de oviposición de las hembras	Peterson <i>et al.</i> , 2020

2.6 *Drosophila* como organismo modelo en estudios de reprotoxicidad

Debido a que la reproducción (fertilidad y fecundidad) es considerada el principal parámetro ecotoxicológico, es importante comprender los factores físicos, químicos y biológicos que afectan el patrón reproductivo de las especies, por la importancia que tienen en el funcionamiento de los ecosistemas (Jha, 2008).

Drosophila melanogaster tiene una alta homología anatómica en órganos con funciones equivalentes a la de los mamíferos, incluidos el cerebro, el sistema nervioso periférico, el corazón, el sistema de tráquea (similar al pulmón), el esófago, los túbulos de Malpighi (similares a los riñones), intestino y gónadas (Ugur *et al.*, 2016). En el ovario de *D. melanogaster* se puede estudiar el ciclo celular, muerte, vías de señalización, diferenciación y desarrollo (Velentzas *et al.*, 2015), por lo que, la ovogénesis es una valiosa herramienta para elucidar una amplia gama de procesos genéticos y morfológicos (Horne-Badovinac y Bilder, 2005; Bilder y Haigo, 2012).

Por su corto período generacional y abundante descendencia que se obtiene de *Drosophila melanogaster*, este organismo se ha usado en pruebas de reprotoxicidad, para obtener información acerca de los impactos en el aparato reproductor de hembras y machos por las similitudes que presentan con los mamíferos (Tiwari *et al.*, 2011), así como de las implicaciones transgeneracionales a largo plazo originados por estresores ambientales (Roote y Prokop, 2013; Peterson y Long, 2018).

Una variedad de estudios se han enfocado en evaluar las alteraciones de larvas de *Drosophila melanogaster* y su progenie cuando estas son expuestas a contaminantes ambientales (tabla 9), especialmente plaguicidas (Ferdenache *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020b); así como los cambios bioquímicos, morfológicos e histológicos de los ovarios (Vimal *et al.*, 2019) y los testículos, además de alteraciones en la calidad del esperma (Misra *et al.*, 2014; Mandi *et al.*, 2020). Cuando los organismos fueron expuestos a diferentes concentraciones de Cloruro de mercurio (HgCl_2), se registró disminución en el tamaño de los ovarios, daño al ADN y la interrupción de la organización de las células germinales y somáticas del germario (González-Marín, 2018; Mójica-Vázquez *et al.*, 2019). La exposición crónica a Fluoruro sódico (NaF), causó reducción en la fecundidad, alteraciones morfológicas de ovarios en las hembras, daño al ADN en células ováricas y aumento en la apoptosis (Khatun *et al.*, 2017).

Tabla 9. Descripción de investigaciones realizadas con *Drosophila melanogaster* como organismo modelo en reprotoxicidad.

Compuesto químico	Características de la exposición	Resultados	Referencia
Endosulfan	0.02, 0.2 y 2 µg/mL	Se detectaron metabolitos del plaguicida en los organismos. Además, de reducción de huevos fecundados de hembras apareadas con machos expuestos.	Misra <i>et al.</i> , 2014
Fluoruro sódico (NaF)	10, 20, 40, 80 y 100 µg/mL	Se presentó disminución del peso de larvas y de la viabilidad de células adiposas. Daño en el ADN, reducción en la fecundidad, alteración en la morfología de los ovarios y aumento de apoptosis.	Khatun <i>et al.</i> , 2017
Cloruro de mercurio (HgCl ₂)	0.1, 0.3, 3 y 30 mM	Se indujeron cambios en el tamaño de los ovarios, alteraciones en la ovogénesis y afectaciones en la tasa de fertilidad de hembras expuestas.	González-Marín, 2018
Cloruro de mercurio (HgCl ₂)	0.1, 0.3, 3 y 30 mM	Se indujo daño al ADN, alteraciones en el tamaño de los ovarios y afectaciones en la tasa de fertilidad de hembras expuestas.	Mójica-Vázquez <i>et al.</i> , 2019
Atrazina y Bisphenol A (BPA)	Atrazina: 0.2, 2 y 20 mg/L BPA: 0.1, 1 y 10 mg/L	Se redujo el tamaño de los ovarios y el número de ovocitos maduros. Las cámaras ováricas presentaron apoptosis y morfología anormal en los núcleos de las células nodrizas. Además, se afectó la tasa de fecundidad, fertilidad y capacidad de eclosión.	Vimal <i>et al.</i> , 2019
Tiametaxom	Larvas: 10.94, 21.86, 43.75, 87.50 y 175.00 µg/mL Adultos: 2, 4, 8 y 16 µg/mL	Se observó disminución de la tasa de fecundidad y eclosión. Además, se detectó daño al ADN en hemocitos y reducción de la viabilidad de las células adiposas del cuerpo.	Li <i>et al.</i> , 2020b
Acefate	1, 2, 3, 4, 5 y 6 µg/mL	En machos se indujeron alteraciones en la estructura de los testículos, en la viabilidad de células germinales, disminución del peso corporal, aumento en la actividad de marcadores de estrés oxidante (LPO y CAT) y cambios en la expresión de proteínas como mitoferrin.	Mandi <i>et al.</i> , 2020

2.7 Descripción general de *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster, también conocida como la mosca de la fruta o del vinagre, pertenece al orden Diptera (Demerec, 1994) y a la familia Drosophilidae (O'Grady y Markow, 2009). Tiene cuatro pares de cromosomas, tres autosómicos y un par sexual (Rodríguez-Arnaiz, 2003). Es un insecto, cosmopolita, que presenta tres tagmas: cabeza, tórax y abdomen; además de un par de alas funcionales y un segundo par, denominados halterios o balancines que le permite mantener el equilibrio, tres pares de patas y un par de antenas, las moscas adultas del fenotipo silvestre tienen ojos rojos y cuerpo amarillo o marrón (figura 8) (Tyler, 2000).

Los adultos miden entre 2 y 3 mm, presentan dimorfismo sexual, lo que facilita su identificación, debido a que las hembras son de un tamaño un poco mayor que los machos (Sobels y Vogel, 1976; Vogel, 1987; Ferreira y Allard 2015). La terminación del abdomen de las hembras tiene forma puntiaguda debido a que los segmentos no se encuentran fusionados, mientras que en los machos se presenta una terminación redondeada con melanización y la presencia de peines sexuales, que son una serie de cerdas cortas de color negro en el primer par de patas (figura 8) (Demerec y Kaufmann, 2005).

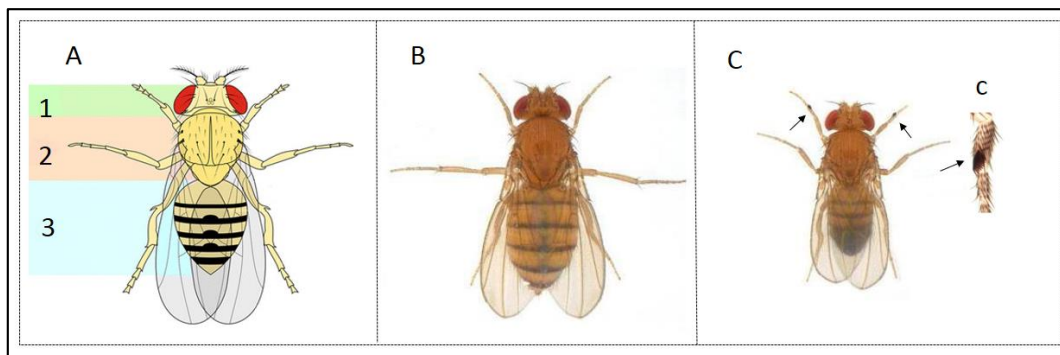


Figura 8. Representación de *D. melanogaster*: A) Componentes de *Drosophila*, 1) cabeza, 2) tórax y 3) abdomen. B) Hembra. C) Macho, c) peines sexuales (Modificada de Teleman *et al.*, 2017).

2.8 Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*

Drosophila es un insecto holometábolo, por lo que pasa por una metamorfosis completa que incluye cuatro estadios de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto o imago. Su ciclo de vida es de alrededor de 9 a 10 días y el promedio de supervivencia de una mosca adulta es de 70 días, bajo condiciones de laboratorio, en un medio nutritivo y a 25 °C (Campos y Hartenstein, 1985; Roote y Prokop, 2013; Santalla *et al.*, 2016).

El ciclo inicia con la fecundación del huevo, el cual es ovipositado pocas horas después del apareamiento (Sokal *et al.*, 1960). El desarrollo del embrión dura aproximadamente de 18 a 24 h. Posteriormente, inicia el estadio larvario, el cual es la etapa principal de alimentación y consta de 3 subestadios (L1, L2, L3), que duran 24, 24 y 48 horas respectivamente, en conjunto 4 días. En la fase de pupa, la larva deja de alimentarse y comienza el proceso de metamorfosis. Esta etapa dura aproximadamente 5 días, finalizando con una mosca adulta o imago que emerge y alcanza la madurez sexual a las 3 horas los machos y a las 7 horas las hembras (Bate, 1993) (figura 9). Una hembra adulta puede llegar a ovipositar hasta 100 huevos por día (Ashbuner *et al.*, 2005), por lo que la cantidad de progenie que se obtiene es elevada (Vogel, 1987).

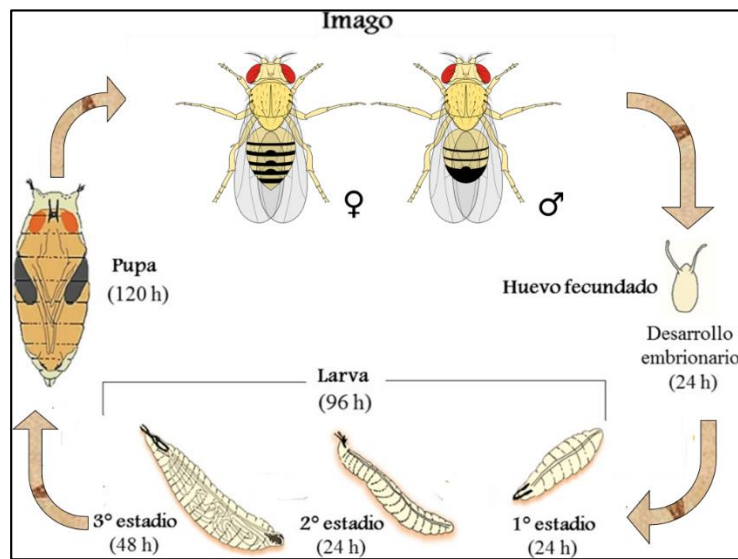


Figura 9. Ciclo de vida de *D. melanogaster*. A 25°C el ciclo se completa en 10 días.
(Tomada y modificada de Rodríguez, 2019; Giraldez Ramón)

2.9 Sistema reproductor de las hembras

D. melanogaster posee un sistema reproductor femenino muy similar al del ser humano. Está constituido por dos ovarios y dos oviductos laterales, unidos a un conducto común que desemboca en el útero, el cual se comunica con la vagina y se abre al exterior a través de la vulva. Además, cuenta con un receptáculo seminal, un par de espermatecas y dos glándulas accesorias (Mahowald, 1980). El ovario está constituido por 16-20 unidades denominadas ovariolas, las cuales están compuestas de cámaras progresivas en desarrollo y es el lugar donde ocurre la ovogénesis (Henderson, 2004). En la parte anterior de cada ovariola se encuentra el germario, que contiene las células madre de la línea germinal y de la línea somática, las cuales están en contacto con el

filamento terminal, además, es el sitio donde se genera el ovocito (Bastock y St Johnston, 2008). Después del germario se encuentra el vitelario en donde seguirá desarrollándose la cámara de huevo hasta ser un huevo maduro (figura 10).

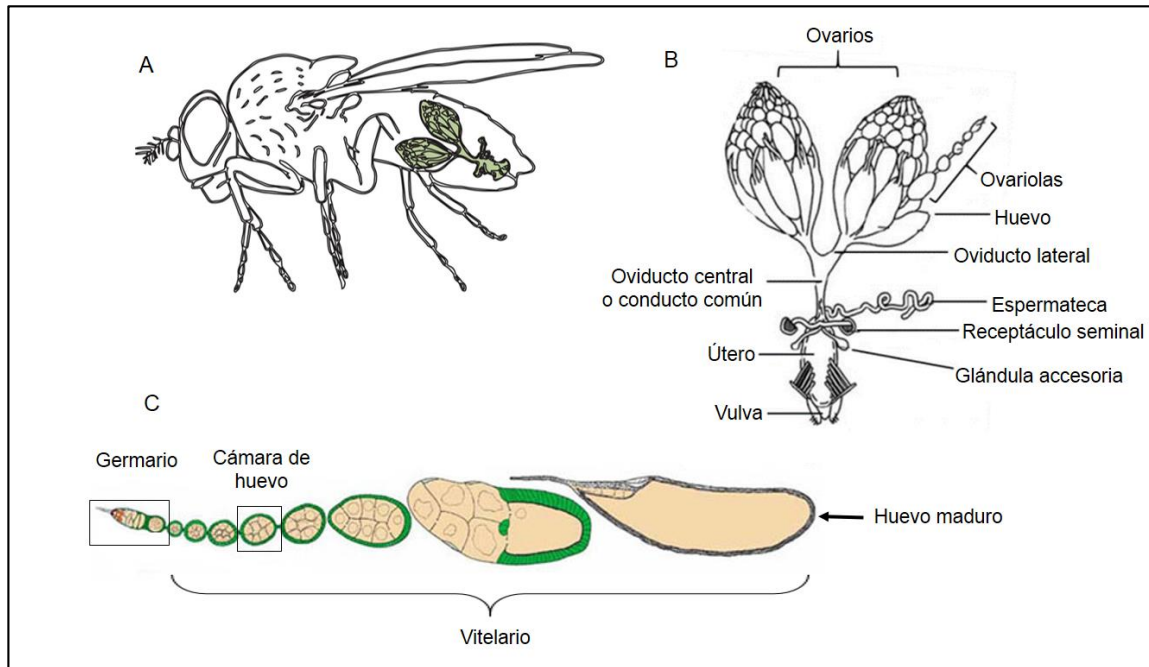


Figura 10. Sistema reproductor de *Drosophila*. (A) Cada hembra tiene un par de ovarios (verde). (B) Cada ovario está formado por 15-20 ovariolas; además, cuenta con dos oviductos laterales, un oviducto central o conducto común, útero, vulva, receptáculo seminal, espermateca y glándulas accesorias. (C) Cada ovariola está compuesta por el germario y el vitelario, donde se seguirá desarrollando la cámara de huevo hasta ser un huevo maduro (Modificada de Swevers *et al.*, 2005; Zhukova y Kiseleva, 2012; Hinnant *et al.*, 2020).

2.10 Ovogénesis en *Drosophila melanogaster*

El proceso de ovogénesis en *D. melanogaster* está dividida en 14 etapas con base en criterios morfológicos (Bastock y St Johnston, 2008) (figura 11).

En el extremo anterior de la ovariola se encuentra el germario, que contiene células madre somáticas y de línea germinal. El germario es el sitio en donde ocurre la división, diferenciación y formación de quistes a partir de células madre germinal (Germline Stem Cells, GSCs por sus siglas en inglés). Para su estudio se ha dividido en 4 regiones: 1, 2a, 2b y 3 (Swevers *et al.*, 2005). En la región 1, se localizan entre dos a tres células germinales, unidas tanto a células somáticas denominadas células madre acompañantes (Escort Stem Cells, ESCs por sus siglas en inglés) y a células de la caperuza “cap” (Cap Cells, CCs por sus siglas en inglés). A su vez, las CCs están en

contacto con el filamento terminal (Terminal Filament, *TF* por sus siglas en inglés), que en conjunto conforman las células apicales. Estos tres tipos de células (CCs, TF y ESCs), generan un nicho o microambiente para la auto-renovación y diferenciación de las células germinales, originado a través de moléculas de señalización (Swevers *et al.*, 2005).

En esta misma región inicia la ovogénesis, con la producción de la proteína Bag or marbles (*bam*) que es requerida para la diferenciación de las células germinales. De esta manera, las células germinales hijas que no tienen contacto con las células cap y no reciben esta señal, producen la proteína *bam*, lo que provoca su diferenciación a cistoblastos. El cistoblasto se divide mitóticamente cuatro veces para dar lugar a un cistoquiste, un grupo de 16 células conectadas por medio de canales con anillo de actina (Bastock y St Johnston, 2008). A este grupo germinal se le denomina quiste (Wolpert, 2009). Cuando los cistoblastos se dividen, dentro de estos, se forma una estructura ramificada rica en espectrina, llamada fusoma. El fusoma controla la orientación de las divisiones, provocando que el quiste contenga 8 células con un solo anillo, 4 células con dos anillos, 2 células con tres anillos y 2 células con 4 anillos (Bastock y St Johnston, 2008). La célula del quiste que contenga la mayor cantidad del fusoma se diferenciará en ovocito (Drummond-Barbosa y Spradling, 2001; Tootle y Spradling, 2008; Gilbert, 2005). Las 15 células restantes del quiste germinal se diferenciarán en células nodrizas (nurse cells, *nc* por sus siglas en inglés) encargadas de sintetizar principalmente ARNs, tanto ribosómicos como mensajeros y proteínas que posteriormente se transportarán hacia el ovocito, por lo que, son células con núcleos gigantes (Cuevas, 2006).

La región 2a, se caracteriza por el desarrollo y división del quiste germinal. Este, es envuelto por células acompañantes (Escort Cells, *ECs* por sus siglas en inglés). En la región 2b, las células madre foliculares (Follicle Stem Cells, *FSCs* por sus siglas en inglés), generarán a las células precursoras de las células foliculares (FCs). El quiste pierde la unión con las *ECs*, para ser recubierto y aislado por las *FCs* e iniciar la formación de la primera cámara ovárica, que concluye en la región siguiente (Drummond-Barbosa y Spradling, 2001; Mahowald *et al.*, 1983). Por último, la región 3 es conocida por ser el primer estadio de la ovogénesis (Spradling, 1993; Spradling *et al.*, 1997; Drummond-Barbosa y Spradling, 2001).

En los estados pre-vitelogénicos, que comprenden las etapas 2-7, la cámara ovárica que ha salido del germario, comienza a aumentar de volumen antes de que inicie la vitelogénesis (acumulación de proteínas en el ovocito). Además, el citoplasma aumenta considerablemente tanto en el ovocito como en las células nodrizas (Spradling, 1993). Por el incremento en el tamaño de la cámara ovárica, las células foliculares que la recubren siguen dividiéndose hasta el estadio 7, pasando de 80 a 1000 células para rodear la cámara (Spradling, 1993; Drummond-Barbosa y Spradling, 2001).

Las etapas 8-14 se lleva a cabo la vitelogénesis y la formación del corion, concluyendo así la ovogénesis. La ovogénesis es altamente regulada. Durante la etapa 8, se encuentra un punto de control metabólico que permite que siga el desarrollo de la cámara ovárica o provoca su destrucción por medio de apoptosis. Esto dependerá si la cámara ovárica presenta alteraciones morfológicas o si existen malas condiciones ambientales para las hembras como la falta de alimento (Drummond-Barbosa y Spradling, 2001; Mazzalupo y Cooley, 2006; Jenkins *et al.*, 2013). Si las cámaras ováricas se encuentran sanas y en condiciones ambientales favorables iniciarán la vitelogénesis. La entrada del vitelo al ovocito comienza a finales de la etapa 8 y en la etapa 10A este ocupa la mitad del volumen de la cámara ovárica (Hudson y Cooley, 2014). Posteriormente, en la etapa 10B, las células nodrizas se preparan para llevar a cabo la transferencia de su citoplasma al ovocito (Tootle y Spradling, 2008; Huelsmann *et al.*, 2013), para posteriormente morir por apoptosis (Jenkins *et al.*, 2013).

En la etapa 9, un grupo de 6 a 10 células polares del epitelio folicular conocidas como células del borde, migran de la parte anterior de la cámara ovárica a la parte anterior del ovocito (González y St Johnston, 1998). En la etapa 10, las células del borde se encontrarán en la parte anterior del ovocito (Silver *et al.*, 2005), mientras las células que se localizan en las partes dorsal y ventral de la cámara inician a migrar de forma centripeta para cubrir al ovocito y separarlo de las células nodrizas en la etapa 11 (Hudson y Cooley, 2014). Las células del borde, posteriormente, forman el micrópilo, el cual permite la entrada de los espermatozoides para la fecundación del ovocito (Silver *et al.*, 2005) y un grupo de 65 a 80 células foliculares de la parte anterior de la cámara ovárica forman los apéndices dorsales (Peters *et al.*, 2013).

Después de la vitelogénesis, se tiene un último proceso denominado coriogénesis. Desde el estadio 1 hasta el 14, se sintetiza la proteína coriónica, la cual forma el corión,

la capa que cubre y da protección al ovocito maduro que está listo para ovipositarse (Orr-Weaver, 1991).

El tiempo que tarda una célula madre germinal para convertirse en un ovocito maduro es aproximadamente diez días. La etapa previtelogénica dura aproximadamente siete días (Wieschaus y Szabad, 1979) y 3 de ellos son necesarios para que el cistoblasto se convierta en un quiste de 16 células (Spradling, 1993). Los estadios vitelogénicos (8-14), donde ocurre la maduración del ovocito, duran cerca de tres días (Wieschaus y Szabad, 1979).

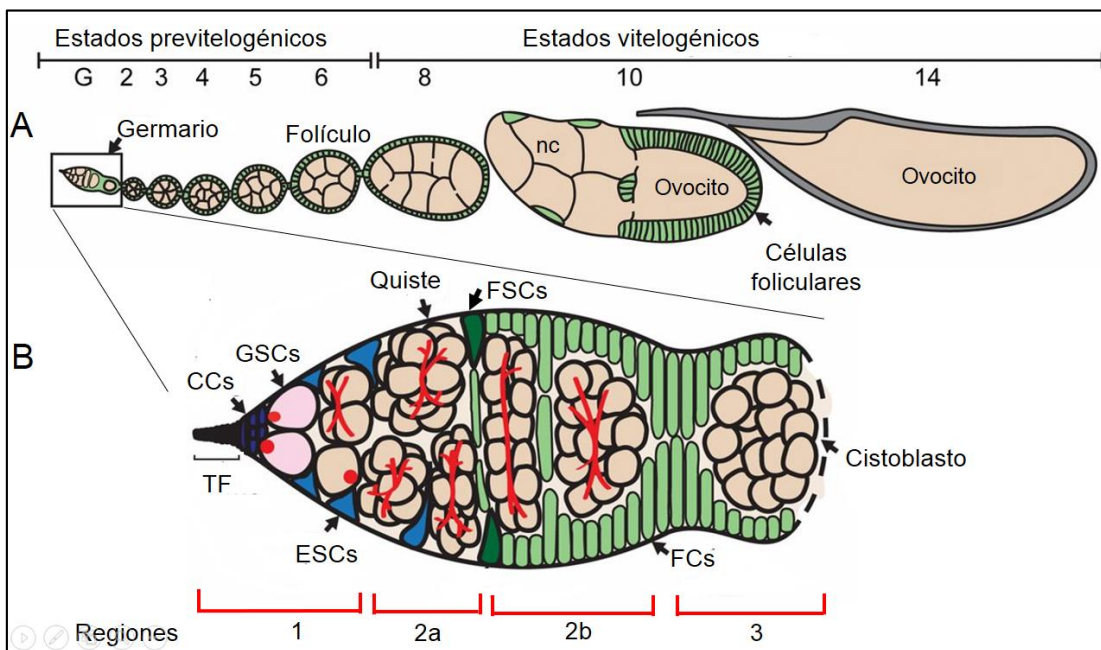


Figura 11. Representación de la ovogénesis de *Drosophila*. A) Cada ovariola cuenta con germario y folículos que progresan a través de 14 etapas distintas de desarrollo. B) El Germario está conformado por 4 regiones: 1) se localiza el filamento terminal (TF) y células de la caperuza (CCs), células madre acompañantes (ESCs) y células madre germinales (GSCs). Las GSCs se dividen para formar células hijas (cistoblastos), que proliferan cuatro veces más para formar quistes germinales de 16 células compuestos por células nodrizas (nc) y un ovocito. 2a) El quiste germinal es envuelto por células acompañantes (ECs). 2b) Las células madre foliculares (FSCs) originan células prefoliculares, que rodean el quiste germinal de 16 células, y se separan del germario, formando un folículo. Posteriormente, el quiste es recubierto por las FCs y se forma la primera cámara ovárica. 3) Se encuentra la primera cámara ovárica (primer estadio de ovogénesis), constituida por células nodrizas y el ovocito rodeado por células foliculares. (Modificada de Ables *et al.*, 2016).

2.11 Ensayo Cometa Alcalino

La electroforesis alcalina de células individuales (Single Cell Gel Electrophoresis), también conocida como Ensayo Cometa Alcalino, es un método ampliamente utilizado para estudiar daño al ADN en células eucariotas (Neri *et al.*, 2015), específicamente rupturas de cadena doble (DSB, por sus siglas en inglés) y sencilla (SSB, por sus siglas en inglés) en el ADN, así como sitios álcali-lábiles (ALS, por sus siglas en inglés), ocasionadas por exposición a xenobióticos (Tice *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2016), por lo que ha sido aplicado en bacterias, humanos (Jha, 2008) y organismos modelo como los roedores, pez cebra (Calderón-Segura *et al.*, 1999; Calderón-Segura *et al.*, 2018) y la mosca de la fruta (Tiwari *et al.*, 2011), donde fue utilizado por primera vez en 1999 (Gaivão y Sierra, 2014), para obtener información sobre el daño al ADN, sus repercusiones en el sistema reproductor y poder extrapolar los resultados a otras especies (Calderón-Segura *et al.*, 1999; Calderón-Segura *et al.*, 2015).

El ensayo cometa fue introducido en 1984 por Östling y Johanson, y se caracterizó por una lisis y electroforesis neutra (pH=9.5) que solamente permitía visualizar rupturas de doble cadena. Posteriormente, Singh *et al.* (1988) introdujeron la versión alcalina, modificando el pH de la lisis (pH~10) y electroforesis (pH>13), lo que permitió un mejor desenrollamiento del ADN, el incremento en la movilidad y visualización de los fragmentos de ADN originados por DSB, SSB y ALS.

Los parámetros que se utilizan en el ensayo cometa son (figura 12) (Tice *et al.*, 2000; Burlison *et al.*, 2007):

- Longitud de la cauda (*Tail length*): es una medida de la migración del ADN. Está relacionada con los tamaños de fragmentos del ADN y será proporcional al nivel de rompimientos de cadena sencilla y de doble cadena. Se mide la distancia desde el perímetro de la cabeza del cometa, hasta la última señal visible de la cauda y se expresa en unidades absolutas (μm o píxeles). La desventaja que presenta es que se ha evidenciado que, a dosis altas de exposición, la cola no aumenta, pero se sigue saturando de fragmentos de ADN (Møller *et al.*, 2014).
- Intensidad de la cauda (*tail intensity* or *Tail DNA%*): Se calcula con base en la proporción entre la intensidad de luz emitida por la cola y la intensidad total del cometa (cabeza y cola), indicando la cantidad de ADN presente en la cauda (Zuñiga, 2009). Facilita la interpretación del daño genético, al establecer valores relativos porcentuales (0 a

100%) que conceptualizan mejor la idea del daño. Este parámetro ha sido empleado frecuentemente en estudios de monitoreo biológico (Møller, 2006a) y en estudios interlaboratorios puesto que es más fácil de comparar y evidenciar condiciones de ensayo similares (Møller, 2006b).

- Momento de la cauda (*Tail moment*): el *Tail moment* es una referencia de la medida de la longitud de la cola multiplicado por la cantidad de ADN en la cauda (Zuñiga, 2009). Mientras que, el *Oliver tail moment (OTM)* es el producto de la intensidad de la cauda y la distancia desde el centro de masa de la cabeza y de la cola. Los centros de masa son el punto que deja la mitad de la intensidad a la derecha y la otra a la izquierda. Se expresa en micrómetros o porcentaje y se considera útil para describir la heterogeneidad dentro de una población celular, debido a que se pueden detectar variaciones en la distribución de ADN dentro de la cola (Olive *et al.*, 1990) (figura 12).

Aunque el momento de la cauda es el mejor parámetro para evaluar el daño al ADN (Kumaravel y Jha, 2006), resulta difícil que sea utilizado para comparaciones entre laboratorios (Rosenberger *et al.*, 2011) debido a que los centros de masa dependen de las condiciones de electroforesis (por ejemplo: el tiempo de electroforesis), de los algoritmos utilizados por los softwares para su definición y de la calibración de los equipos (Burlison *et al.*, 2007; Collins *et al.*, 2008). Bajo estas consideraciones y además de que tiene un comportamiento lineal con la dosis, se ha sugerido el uso de la intensidad de la cauda como medida estadística para evaluar el daño al ADN (Burlison *et al.*, 2007; OECD, 2016).

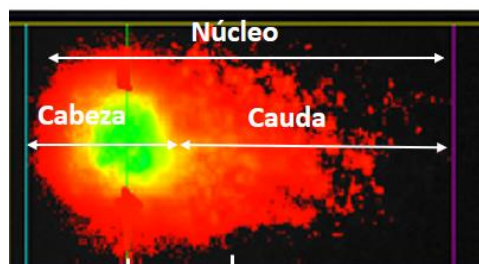


Figura 12. Ejemplificación de un núcleo de células del ovario de *Drosophila melanogaster* con daño al ADN y los diferentes parámetros genotóxicos que se utilizan en el ensayo cometa. Elaboración propia.

Dentro de las ventajas que ofrece el ensayo cometa alcalino, se encuentran su gran capacidad de detectar daño a bajas concentraciones de exposición al xenobiótico, el uso de un tamaño pequeño de muestra, la rápida realización del estudio, el análisis de

datos a nivel de células individuales que permite observar respuestas mixtas de las células en la población y un costo relativamente bajo (Tice *et al.*, 2000; Zeljezic y Garak, 2001).

Desde su introducción, el ensayo cometa ha sido utilizado en modelos *in vitro* e *in vivo*, pero en los últimos años, se ha implementado en *Drosophila melanogaster* para evaluar la genotoxicidad de productos químicos (Gaivão y Sierra, 2014) y los mecanismos de reparación del ADN (Augustyniak *et al.*, 2016). También, es un método aplicado en plantas, organismos terrestres y acuáticos, para evaluar riesgo ambiental (Gajski *et al.*, 2019a; Gajski *et al.*, 2019b).

3. JUSTIFICACIÓN

Desde la década de 1940 se ha incrementado el uso intensivo de insecticidas sintéticos para controlar insectos y ácaros, que causan pérdidas de cultivos y que representan una amenaza a la salud pública y animal. Esto ha causado resistencia de más de 500 especies de artrópodos a, por lo menos, una clase de insecticidas como organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Devine y Denholm, 2009; Nazar *et al.*, 2020; Rodríguez *et al.*, 2020), además de contaminar el aire, suelo, agua superficial y subterránea y producir efectos adversos en organismos no blanco (Aktar *et al.*, 2009). Los insecticidas cetoenoles son una nueva clase de plaguicidas con tres sustancias activas: spiromesifen, spirotetramat y spirodiclofen. Movento 240SC® es un plaguicida sistémico que se aplica de manera foliar, efectivo para controlar insectos como *Bemisia tabaci* y *Aphis gossypii* en cultivos de solanáceas, cucurbitáceas y brasicáceas (Nauen *et al.*, 2008; Marčić *et al.*, 2011; Bretschneider *et al.*, 2012). Recientemente se ha cuantificado tanto el ingrediente activo como sus metabolitos en sedimentos (Babić *et al.*, 2018), en suelo (Chen *et al.*, 2018a), agua (Chen *et al.*, 2018b) y en plantas comestibles (Zhu *et al.*, 2013). Además, se ha evidenciado que el ingrediente activo de Movento® 240SC, tiene efectos tóxicos en los ovarios de organismos modelo como ratas (Kafshgiri *et al.*, 2016) y peces (*Danio rerio*) (Wu *et al.*, 2018) y en el ADN de linfocitos humanos (Zaldivar, 2016) e invertebrados como *Eisenia fetida* (Zhang *et al.*, 2015). En consecuencia, resulta importante evaluar el daño en el genoma que pueden inducir nuevos agroquímicos, especialmente en células germinales, ya que se pueden desencadenar modificaciones de la capacidad reproductora, desarrollo y supervivencia de los organismos (Vimal *et al.*, 2019; Ferdénache *et al.*, 2019; Kissoum *et al.*, 2020). Con tales antecedentes y en vista de que existen pocos estudios genotóxicos del insecticida cetoenol, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el daño en el ADN en

ovarios de *Drosophila melanogaster* expuestas oralmente a diferentes dosis sub-letales del agroquímico comercial Movento® 240SC y su impacto ecotoxicológico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el riesgo ecotoxicológico del insecticida cetoenol Movento® 240SC mediante el uso de *Drosophila melanogaster*.

4.2 Objetivos particulares

- 1) Identificar la LD₅₀ para Movento® 240SC en hembras de *Drosophila melanogaster*.
- 2) Analizar mediante el ensayo cometa alcalino el daño al ADN en ovarios de *Drosophila melanogaster* silvestre (Oregón-R), expuesta por vía oral a tres concentraciones subletales de Movento® 240SC.
- 3) Comparar los tres parámetros de genotoxicidad: longitud, momento e intensidad de la cauda del cometa, entre las tres concentraciones del insecticida cetoenol Movento® 240SC en hembras de *Drosophila melanogaster* de la cepa silvestre (Oregón-R).

5. HIPÓTESIS

Sí los ensayos realizados con diversos organismos modelo y con el insecticida cetoenol Movento® 240SC han demostrado que es un agente genotóxico e induce alteraciones en los ovarios, entonces estos mismos efectos se observarán en los ovarios de *D. melanogaster* expuestas a Movento® 240SC.

6. METODOLOGÍA

6.1 Mantenimiento y reproducción de *Drosophila melanogaster*

Los ensayos se realizaron con moscas de *Drosophila melanogaster* de la cepa silvestre Oregon-R, que fueron donadas por el Dr. Andreas Prokop de la Universidad de Manchester del Reino Unido. Las moscas fueron mantenidas en viales con alimento preparado con 1 L de agua, 8 gramos (g) de agar, 42.67 g de sacarosa, 66.67 g de harina de trigo, 30.67 g de levadura, 2.67 mL de tegosept (nipagin) y 2.67 mL de ácido propiónico a 25°C con fotoperiodos de 12 horas de luz y oscuridad.

6.2 Determinación de la Dosis Letal media (LD₅₀)

Para la determinación de la Dosis Letal 50 (LD₅₀) se realizaron varios experimentos preliminares (datos no mostrados) con base a lo reportado por (Maus, 2008) para *Daphnia*

magna. A partir de este valor, se expusieron vía oral 10 hembras vírgenes de *Drosophila melanogaster* a 0.079, 0.158 y 0.317 mg/mL de Movento® 240SC mezclado con levadura, más un grupo testigo negativo (alimento sin plaguicida) durante 24, 48 y 72 h. Se realizaron tres experimentos independientes.

6.3 Elaboración de la solución patrón del insecticida

Para los ensayos genotóxicos, se realizaron tres disoluciones del insecticida cetoenol Movento® 240SC. Las concentraciones finales fueron: 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC. El insecticida Movento® 240SC con spirotetramat como sustancia activa, (cis-3- (2, 5-dimetilfenil) -8-metoxi-2-oxo-1-azaespiro dec-3-en-4-il-etil carbonato), fue donado por Bayer CropScience México, con número de catálogo RSCO-INAC-0103Z-301-409-015.

6.4 Esquema de tratamiento del insecticida cetoenol Movento® 240SC

Se seleccionaron 50 hembras vírgenes de *D. melanogaster*, las cuales fueron colocadas en 5 grupos de 10 hembras y alimentadas con una mezcla de levadura más 200 µL de 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL del insecticida Movento® 240SC durante 72 horas, más un grupo testigo negativo (alimento sin plaguicida) y un grupo testigo positivo con Bleomicina (17.5 mg/mL) bajo las mismas condiciones que los grupos experimentales. Se realizaron 3 experimentos independientes para cada tratamiento.

6.5 Disección de ovarios

Después de 72 horas de exposición al insecticida Movento® 240SC las hembras de cada tratamiento se sacrificaron para la disección de ovarios. Se obtuvieron 20 ovarios (2 por organismo), por cada grupo experimental y testigo los cuales fueron colocados en tubos con 50 µL de PBS 1X frío para evitar la degradación del tejido.

6.6 Ensayo Cometa Alcalino

Con la finalidad de analizar el daño en el ADN en los ovarios de las hembras vírgenes de los grupos experimentales y los testigos, se realizó el ensayo cometa alcalino (Calderón-Segura *et al.*, 2015) con algunas modificaciones a la técnica respecto a la solución de lisis.

6.6.1 Mezcla celular

Los ovarios disectados se suspendieron en 50 µL de PBS 1X y se mezclaron con 150 µL de agarosa de bajo punto de fusión (LMPA 0.5% Gibco) a 37°C, hasta obtener una mezcla homogénea. Se realizaron dos laminillas por tratamiento, por lo que se tomaron 100 µL de

la mezcla y se colocaron sobre portaobjetos esmerilados (Fisher, EUA) -que contenían previamente una monocapa de agarosa normal (1%, Gibco)- y se cubrieron con un cubreobjetos. Posteriormente, los portaobjetos se dejaron a temperatura ambiente durante 1 minuto para después dejarlos solidificar a 4°C durante 5 minutos. Por último, se dispuso nuevamente una capa de agarosa de bajo punto de fusión (LMPA 0.5% Gibco), se dejaron solidificar en frío y se retiró el cubreobjetos para inmediatamente introducirlos en solución de lisis final.

6.6.2 Lisis celular

Los portaobjetos se sumergieron durante 1 h a 4°C, en una solución recién preparada de lisis final fría (NaCl 2.5 M, EDTA 100 mM, Trizma base 10 mM, 1% Tritón X-100 y NaOH 10 mM, pH=10).

6.6.3 Electroforesis celular alcalina

Transcurrido el tiempo de la lisis celular, los portaobjetos se colocaron en una cámara de electroforesis con amortiguador alcalino frío (NaOH 300 mM y EDTA 1mM, pH=13), por 20 minutos para el desenrollamiento del ADN. Enseguida, con el mismo amortiguador frío se realizó la electroforesis con un voltaje de 25 V y una corriente de 300 mA durante 20 minutos para la migración de los fragmentos de ADN. El procedimiento se realizó en completa oscuridad.

6.6.4 Neutralización y fijación

Al término de la electroforesis, los portaobjetos fueron retirados de la cámara para ser lavados tres veces (5 minutos cada uno) con amortiguador neutralizante frío (0.4 M Tris, pH=7.5). Posteriormente, se fijaron en metanol absoluto frío durante 3 minutos y se dejaron secar a temperatura ambiente en absoluta oscuridad.

6.6.5 Tinción de ADN y análisis genotóxico

Una vez retirados del metanol y después de dejarlos secar, los portaobjetos fueron teñidos con 70 µl de Gel Red (4 mg/ml) y observados con un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse NI), equipado con un filtro de excitación de 515-560 nm y filtro de barrera de 590 nm, con el objetivo 40X. Se contabilizaron 75 núcleos por laminilla (150 en total por tratamiento y experimento) y utilizando el Software Comet Assay IV, se registró la longitud,

momento e intensidad de la cauda. Estos tres parámetros son importantes debido a que la longitud de la cauda se utiliza para analizar el daño del ADN mediante la distancia de migración (Fairbairn y O'Neill, 1995); la intensidad de la cauda (% de ADN en la cauda) se relaciona con el número de rupturas del ADN (Collins, 2004) y el momento constituye el producto del porcentaje de ADN total en la cauda y la longitud de la cauda (Mozaffarieh *et al.*, 2008).

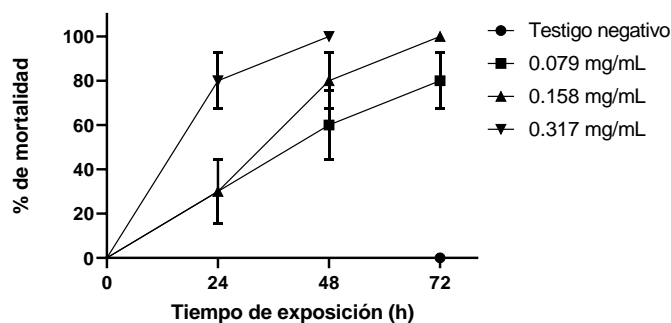
6.7 Análisis estadístico

Para determinar la LD₅₀ se realizó una prueba Gehan-Breslow-Wilcoxon utilizando el software GraphPad Prism versión 8. Los valores promedio de la longitud, intensidad y momento de la cauda de los núcleos de las células ováricas de los grupos experimentales, el grupo testigo negativo y positivo fueron obtenidos de tres experimentos y fueron expresados como promedios ± desviación estándar (SD), a los cuales se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba post-hoc de comparación múltiple de Tukey para determinar las diferencias significativas entre los grupos experimentales y el grupo testigo negativo de cada parámetro evaluado, utilizando el software R versión 3.4.1 y un nivel de significancia para todas las pruebas de $p < 0.001$.

7. RESULTADOS

7.1 Determinación de la LD₅₀ de *Drosophila melanogaster* expuesta por 48 h al insecticida cetoenol Movento® 240SC

A partir de resultados obtenidos de experimentos preliminares a diferentes dosis (0.079, 0.158 y 0.317 mg/mL de Movento® 240SC), se registró que a 48 h de exposición a 0.079 mg/mL de Movento® 240SC el porcentaje de mortalidad de *D. melanogaster* fue del 50% comparado con el grupo testigo negativo de acuerdo con la prueba estadística Gehan-Breslow-Wilcoxon ($p < 0.001$).



Gráfica 1. Porcentaje de mortalidad de organismos expuestos a 0.079, 0.158 y 0.317 mg/mL de Movento® 240SC por 24, 48 y 72 horas.

Las barras representan las medias + SD

** Diferencias significativas $p < 0.001$ con respecto al grupo testigo negativo. Prueba Gehan-Breslow-Wilcoxon.

7.2 Daño en el ADN en células del ovario de *Drosophila melanogaster* inducido por el insecticida cetoenol Movento® 240SC

En la tabla 10 se muestran los promedios de los tres parámetros de genotoxicidad: longitud de la cauda (LC), intensidad de la cauda (IC) y el momento de la cauda del cometa (MC), analizados en las células de los ovarios de *D. melanogaster* expuestas a 0, 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL del insecticida Movento® 240SC y el grupo testigo positivo expuesto a 17.5 mg/mL de Bleomicina. Los resultados indican que a una concentración de 0.011 mg/mL de Movento® 240SC, el promedio de la intensidad de la cauda aumenta significativamente respecto al valor del grupo testigo negativo ($p < 0.001$); sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la longitud y momento de la cauda con respecto al grupo testigo negativo ($p < 0.001$). En las concentraciones de 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC y la Bleomicina (17.5 mg/mL) se observó incremento significativo en los valores obtenidos en: la intensidad, longitud y momento de la cauda comparados con los valores del grupo testigo negativo ($p < 0.001$) (gráficas 2-4). Finalmente, el análisis de regresión lineal muestra la relación positiva entre los datos obtenidos para los parámetros genotóxicos intensidad ($r^2 = 0.987$) y momento ($r^2 = 0.933$) de la cauda por lo que hay una relación de dosis-respuesta en 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC ($p < 0.001$). Sin embargo, este comportamiento no se presenta en la longitud de la cauda ($r^2 = 0.574$) ($p < 0.001$) (gráficas 5-7).

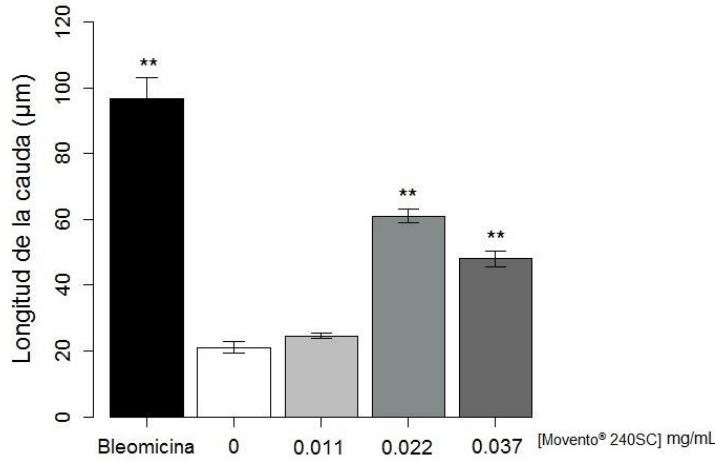
Tabla 10. Promedios de los tres parámetros genotóxicos (longitud, intensidad y momento de la cauda), después de 72 h de exposición a 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL del insecticida Movento® 240SC.

Movento® 240SC mg/mL	Longitud de la cauda (μm) ^a	Intensidad de la cauda (%) ^a	Momento de la cauda (%) ^a
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
0 ^b	20.98 \pm 1.75	7.74 \pm 0.18	1.99 \pm 0.22
0.011 ^b	24.55 \pm 0.77	14.39 \pm 1.28**	2.69 \pm 0.16
0.022 ^b	61.08 \pm 1.99**	25.17 \pm 1.70**	3.82 \pm 0.14**
0.037 ^b	48.11 \pm 2.38**	40.54 \pm 0.25**	5.13 \pm 0.37**
Bleomicina (17.5 mg/mL)	96.81 \pm 6.19**	39.89 \pm 4.40**	5.83 \pm 0.61**

^aPromedio de 3 experimentos independientes n=150 células

^bn= 10 hembras vírgenes de *D. melanogaster* (cepa Oregón-R)

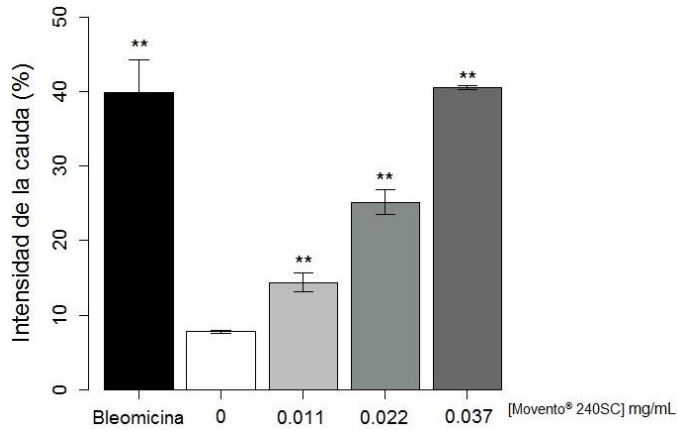
**Diferencias significativas entre grupos experimentales y grupo testigo negativo mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba post-hoc Tukey ($p < 0.001$).



Gráfica 2. Promedios de longitud de la cauda del cometa (μm) en núcleos de células ováricas de *D. melanogaster* con y sin exposición al insecticida cetoenol Movento® 240SC.

Las barras representan las medias + SD

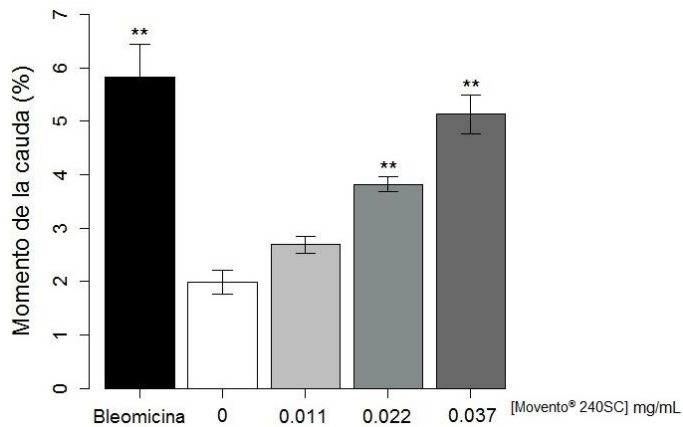
** Diferencias significativas $p < 0.001$ con respecto al grupo testigo negativo ANOVA de una vía prueba post-hoc Tukey.



Gráfica 3. Promedios de la intensidad de la cauda (%) del cometa en núcleos de células ováricas de *D. melanogaster* con y sin exposición al insecticida cetoenol Movento® 240SC

Las barras representan las medias + SD

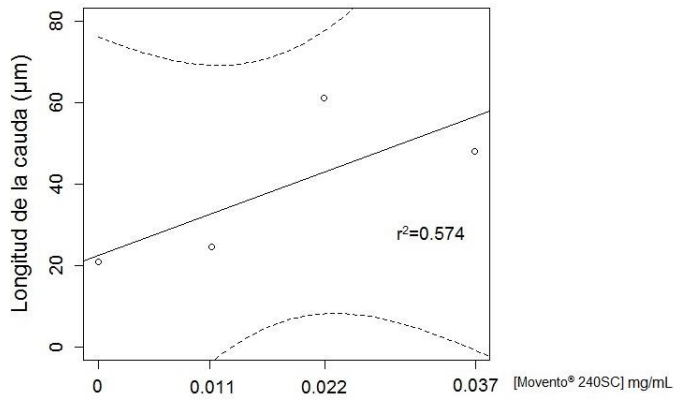
** Diferencias significativas $p < 0.001$ con respecto al grupo testigo negativo ANOVA de una vía prueba post-hoc Tukey.



Gráfica 4. Promedios del momento de la cauda (%) del cometa en núcleos de células ováricas de *D. melanogaster* con y sin exposición al insecticida cetoenol Movento® 240SC

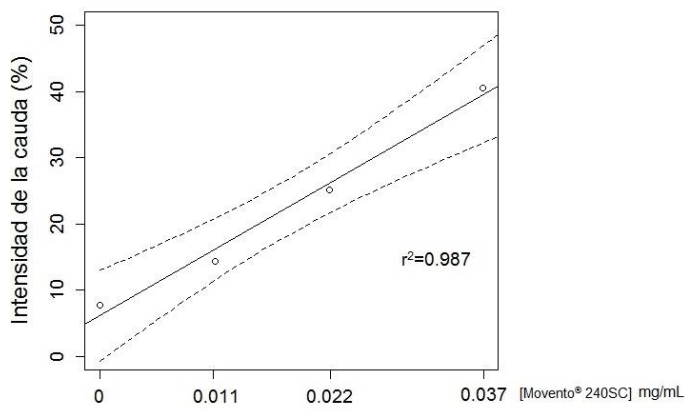
Las barras representan las medias + SD

** Diferencias significativas $p < 0.001$ con respecto al grupo testigo negativo ANOVA de una vía prueba post-hoc Tukey.



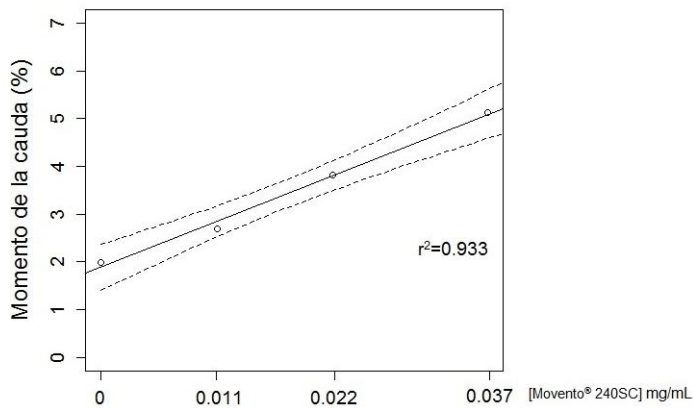
Gráfica 5. Regresión lineal de la longitud de la cauda (μm) del cometa de células ováricas de *D. melanogaster* expuestas al insecticida cetoenol Movento® 240SC.

$p < 0.001$



Gráfica 6. Regresión lineal de la intensidad de la cauda del cometa (%) de células ováricas de *D. melanogaster* expuestas al insecticida cetoenol Movento® 240SC.

$p < 0.001$



Gráfica 7. Regresión lineal del momento de la cauda del cometa (%) de células ováricas de *D. melanogaster* expuestas al insecticida cetoenol Movento® 240SC.

$p < 0.001$

8. DISCUSIÓN

A nivel mundial los insecticidas, herbicidas, fungicidas y rodenticidas, son las clases de plaguicidas más utilizadas (Yadav y Devi, 2017). Específicamente en México el insecticida cetoenol Movento® 240SC ha sido recomendado para ser utilizado en el cultivo de algodón y cucurbitáceas contra la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii*) en la Región de San Luis Río Colorado, Sonora (SAGARPA, 2014) y para el manejo del pulgón amarillo del sorgo (*Melanaphis sacchari*) en Guanajuato (CESAGEV, 2015; Rodríguez & Terán, 2015). Potencialmente, Movento® 240SC puede ser ocupado en cultivos de aguacate Hass en el estado de Michoacán contra el psílido *Trioza aguacate* Hollis & Martin (Hemiptera: Triozidae) (Lemús & Santos 2015).

Diversos estudios han reportado el efecto nocivo que los plaguicidas pueden tener en organismos no blanco (Tiwari *et al.*, 2019; Humann-Guilleminot *et al.*, 2019; Volz *et al.*, 2020), por lo que, en el presente trabajo, se determinó la LD₅₀ del insecticida cetoenol Movento® 240SC en hembras de *Drosophila melanogaster*, obteniendo una LD_{50oral} de 0.079 mg/mL a las 48 h. La LD₅₀ se relaciona con la exposición aguda a un compuesto, es decir por un período corto de tiempo (Benitez, 2012); cuando el valor de la LD₅₀ es muy pequeño, la toxicidad del plaguicida es mayor (WHO y IPCS, 2010). En el caso de *Drosophila melanogaster* se requiere una dosis baja (0.079 mg/mL de Movento® 240SC) para causar la muerte del 50% de la población de los organismos. Otros organismos en los que se han realizado pruebas de toxicidad aguda son abejas (*Apis mellifera*), LD_{50dérmica}>162 µg/abeja y LD_{50oral}> 91.7 µg/abeja (Maus, 2008), lombrices de tierra (*Eisenia fetida*), reportando una LD₅₀>500 mg/kg de peso seco (EFSA, 2013) y en organismos acuáticos como *Daphnia magna* con Concentración Efectiva (EC) EC₅₀>42.7 mg/L (Maus, 2008), *Danio rerio* con Concentración Letal (LC) LC₅₀>9.61 y 7.21 mg/L a 72 y 96 horas respectivamente (Wu *et al.*, 2018), y anfibios LC₅₀ 6.98 y 6.45 mg/L a las 72 y 96 horas respectivamente, en estos últimos se considera que spirotetramat es moderadamente tóxico (Yin *et al.*, 2014). Los resultados de las pruebas de la LD₅₀ además de ser utilizados para el registro de plaguicidas también pueden ser una herramienta para estudiar los efectos a concentraciones sub-letales y la susceptibilidad de diferentes organismos no blanco ante la presencia de xenobióticos (Espinoza-Navarro *et al.*, 2013; Jiménez & Cure, 2016; Reza, 2017).

Es por lo descrito anteriormente que se aplicó el ensayo cometa alcalino para evaluar el efecto genotóxico del insecticida cetoenol Movento® 240SC en células de los ovarios de *Drosophila melanogaster* silvestre (Oregon-R). Los resultados genotóxicos obtenidos

muestran que la exposición oral a 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC por 72 h incrementan significativamente los promedios de la longitud y momento de la cauda del cometa en células del ovario, comparados con el grupo testigo negativo ($p < 0.001$), y que a 0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC se incrementa significativamente la intensidad de la cauda del cometa, lo que demuestra que este agroquímico es un agente inductor de daño al ADN *in vivo*. Tomando en consideración que la intensidad de la cauda es el mejor parámetro para evaluar el daño al ADN (Burlison *et al.*, 2007; OECD, 2016; Ku-Centurión *et al.*, 2016), las tres concentraciones sub-letales (0.011, 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC) inducen daño en el genoma de las células germinales del ovario con una respuesta dependiente de la dosis de exposición ($r^2 = 0.987$; $p < 0.001$).

Los resultados genotóxicos obtenidos para las células de los ovarios de *D. melanogaster* son consistentes con lo reportado para otros organismos expuestos al ingrediente activo de Movento® 240SC, spirotetramat. En *Eisenia fetida* induce daño al ADN en celomocitos (células del sistema inmune de la lombriz) (Zhang *et al.*, 2015), después de 7, 12 y 21 días de exposición a 1.25 y 2.5 mg/kg de spirotetramat, incrementando significativamente el momento de la cauda OTM (*Oliver Tail Moment*), la peroxidación lipídica y actividad de los antioxidantes SOD, CAT y GSH en comparación con el grupo testigo, respaldando la generación de estrés oxidante y daño al material genético (Zhang *et al.*, 2015).

En renacuajos del anfibio *Bufo bufo gargarizans* expuestos durante 30 días a concentraciones entre 0.03 y 3.23 mg/L de spirotetramat, la actividad de SOD, GPx y contenido de MDA mostraron variaciones significativas con el tiempo de exposición y dosis de spirotetramat. Los resultados indican que spirotetramat induce estrés oxidante, peroxidación lipídica y es potencialmente tóxico para los anfibios en concentraciones sub-letales (Yin *et al.*, 2014). En tejido muscular de hembras de *Danio rerio* expuestas a 0, 36, 360 y 1800 µg/L de spirotetramat durante 28 días, se registró un aumento significativo de biomarcadores de estrés oxidante (CAT y GPx), su expresión genética y peroxidación lipídica (Chenlei *et al.*, 2014) y, en ovarios de pez cebra, Wu *et al.* (2018) reportaron inducción de estrés oxidante y peroxidación lipídica después de exponer hembras a 36, 360 y 720 µg/L de spirotetramat durante 14, 21 y 28 días. También, se modificó la expresión del receptor de la hormona foliculoestimulante (FSHR) y de la hormona luteinizante (LHR), retraso en la ovogénesis, maduración del ovocito y disminución del tamaño de las cámaras ováricas (Wu *et al.*, 2018). Cuando ratas fueron expuestas oralmente por 21 días a 25, 50 y 100 mg/kg de spirotetramat, se registró la reducción del peso de los ovarios, alteraciones

en la foliculogénesis, expresión de genes FoxO1 y Vnn1, apoptosis de células de la granulosa y estrés oxidante (Kafshgiri *et al.*, 2016).

Otros efectos tóxicos reportados para spirotetramat, ingrediente activo de Movento® 240SC, incluyen mortalidad de organismos en etapas inmaduras y reducción de fecundidad y fertilidad en especies adultas (Nauen, 2005), tal como lo reportan Chen y Stark (2010) para *Ceriodaphnia dubia* expuestas a concentraciones desde 0 hasta 80 mg/L de spirotetramat y Chen *et al.* (2018d) para *Daphnia magna* expuestas durante 21 días a 0.47, 0.94 y 4.70 mg/L de spirotetramat. Además, concentraciones entre 2.5 y 30 ppm de spirotetramat en peces de *Clarias gariepinus* expuestos durante su desarrollo embrionario-larvario, indujeron alteraciones en la tasa de eclosión, natación y el aumento de la mortalidad de organismos (Agbohessi *et al.*, 2013). Después de que organismos de *Danio rerio* fueran expuestos por 21 días a 10, 110 y 1030 µg/L de spirotetramat, se registraron cambios en el sistema endocrino, decremento de la proteína vitelogenina en plasma, activación de vías de señalización de apoptosis en testículos (caspasa-3 y caspasa-9), alteraciones histológicas en gónadas de hembras y machos y, en la descendencia, causa retrasos en la eclosión, aumento en la mortalidad y disminución del tamaño corporal (Zhang *et al.*, 2020c). En embriones de pez cebra expuestos a 0.75, 1.50 y 3 mg/L de spirotetramat por 8 días, se altera el metabolismo de lípidos, inhibiendo la actividad enzimática de la ácido graso sintasa (FAS), las proteínas de unión a ácidos grasos (FABP2) y la expresión génica y actividad de la Acetil-CoA carboxilasa (Zhang *et al.*, 2019), además, Zhang *et al.* (2020b) refieren que spirotetramat tiene efectos tóxicos en el metabolismo energético de embriones y provoca lesiones en la mitocondria, de igual forma Chen (2018) señala que además retrasa el desarrollo del embrión, provoca deformaciones, estrés oxidante y alteraciones en la síntesis de ácidos grasos.

Estos mismos efectos se han evidenciado para spiromesifen, cuando larvas de *D. melanogaster* fueron expuestas a 21.45 y 39.53 µg/pupa de la formulación comercial Oberon® 240SC, reportando modificaciones en parámetros bioquímicos y reproductivos en hembras, con descenso del número de ovocitos, peso y desarrollo de ovarios y alteraciones en la fecundidad, fertilidad y descendencia (Kissoum *et al.*, 2020); en pupas genera peroxidación lipídica y reducción del peso corporal (Kissoum y Soltani, 2016) con aumentó de MDA y disminución en la descendencia (Bensafi *et al.*, 2013). Tanto spiromesifen y spirodiclofen ocasionan en *Danio rerio* alteraciones en la síntesis de lípidos y efectos teratogénicos (Zhang *et al.*, 2019).

Para el caso de Movento® 240SC, su efecto genotóxico en células del ovario de *D. melanogaster* se puede deber a que el metabolismo de spirotetramat a su principal metabolito spirotetramat-enol causa sobreproducción de ERO, las cuales pueden interactuar directamente con el ADN (figura 13). Las ERO como el radical OH[·], actúan como fuertes oxidantes reaccionando con las bases nitrogenadas y la desoxirribosa, originando modificaciones químicas en las bases o sitios apurínicos o apirimidínicos (AP) y posteriormente mutaciones (Pedraza y Cárdenas, 2006). También pueden inducir rupturas en las cadenas del material genético, debido a la escisión del enlace fosfodiéster (Zorrilla *et al.*, 2004; Pedraza y Cárdenas, 2006; San-Miguel y Martin-Gil, 2009). Además, el ADN puede ser modificado por la formación de aductos con los productos finales de la peroxidación de lípidos, como el MDA y el 4-hidroxinonenal los cuales son altamente reactivos (Esterbauer *et al.*, 1991; Marnett, 1999; Halliwell y Gutteridge, 2007; Barrera *et al.*, 2008).

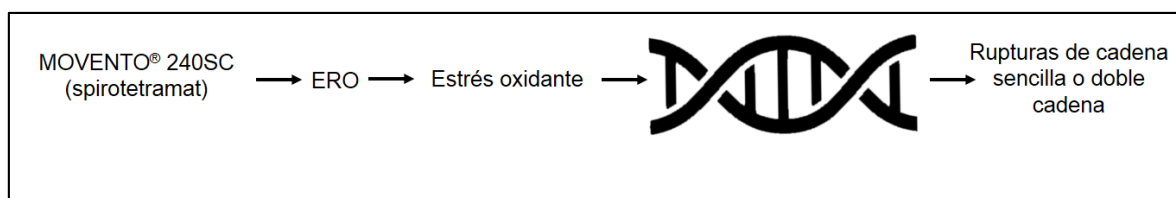


Figura 13. Posible mecanismo de acción del insecticida cetoenol Movento® 240SC en las células de los ovarios de *Drosophila melanogaster*, el cual involucra la generación de estrés oxidante y la ruptura de las cadenas del ADN. (Elaboración propia).

Las células germinales son más sensibles ante las modificaciones en su material genético como rupturas de cadena sencilla o doble, en comparación con las células somáticas (Morita *et al.*, 2000; Gonfloni, 2010). La evidencia actual relaciona al estrés oxidante con el daño al ADN de los espermatozoides, infertilidad, reducción en la movilidad de espermatozoides, enfermedades genéticas y defectos en el desarrollo embrionario (Simões *et al.*, 2013; Alahmar, 2019; Wright *et al.*, 2014). En ratas juveniles, el malatión induce estrés oxidante, elevando los niveles del sistema de defensa antioxidante y causando peroxidación lipídica, aunado con disminución en la producción y motilidad espermática (Slimen y El Fazaa Saloua, 2014). El metil paratión, ocasiona la interrupción de la espermatogénesis, la atrofia de los túbulos seminíferos altera la calidad del espermatozoides por peroxidación lipídica (Urióstegui-Acosta *et al.*, 2020). En peces, clorpirifos genera la alteración del equilibrio redox, reduce la movilidad y sobrevivencia de espermatozoides, los niveles de CAT y GSH incrementan, mientras que

la actividad de GPx y SOD disminuye; además, las membranas sufren peroxidación lipídica, representando un riesgo potencial para generar daño en el ADN (Kutluyer *et al.*, 2019).

En hembras, las ERO afectan múltiples procesos fisiológicos, desde la maduración de ovocitos hasta la fertilización e implantación de los óvulos, el desarrollo embrionario, efectos teratogénicos y abortos (Sharma y Agarwal, 2004; Dennery, 2004; Agarwal y Allamaneni, 2004; Agarwal *et al.*, 2005; Wells *et al.*, 2010). El subproducto de daño al ADN, la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, es asociada con la generación de ovocitos de mala calidad, tasas de fertilización más bajas y embriones con efectos teratogénicos (Seino *et al.*, 2002; Jameel *et al.*, 2020). En *Drosophila melanogaster*, el daño al material genético se relaciona con la muerte de células de las cámaras ováricas, retrasos en los estadios de la ovogénesis, disminución en el tamaño de los ovarios, descenso en el número de huevos puestos por la hembra y disminución en la tasa de eclosión (Panagopoulos *et al.*, 2004; Panagopoulos *et al.*, 2007; Panagopoulos, 2012; Shim *et al.*, 2014). Por lo tanto, los mecanismos de reparación del ADN en células germinales femeninas y masculinas, son un punto clave para el control de la calidad de la línea germinal, el mantenimiento de la integridad genética, evitar efectos negativos en la fecundidad, fertilidad y asegurar la supervivencia de la descendencia (Drummond-Barbosa, 2019; Stringer *et al.*, 2020).

Como consecuencia de la gran variedad de efectos generados mediante estrés oxidante, principalmente el daño al material genético de células somáticas y germinales, es posible que estas alteraciones se relacionen con la disminución de poblaciones de organismos no blanco por cambios en la calidad de los embriones, supervivencia, infertilidad y cambios en el comportamiento, lo que repercute en la composición de las comunidades, las redes tróficas de las que forman parte y la dinámica de los ecosistemas (Cagnolo y Valladares, 2011; Hong *et al.*, 2020).

La pérdida de biodiversidad tiene impactos en los procesos esenciales que mantienen la productividad y estabilidad de los ecosistemas, como el flujo de materia y energía (Cardinale *et al.*, 2012). En ecosistemas acuáticos, la desaparición de especies de plancton que constituyen el primer nivel trófico en los océanos repercutiría en numerosos procesos, como el reciclado de nutrientes y el suministro de alimento a niveles tróficos más altos (Hanazato, 2001; DeLorenzo y Serrano, 2003; López *et al.*, 2016).

En el caso de los insectos, al ser organismos que tienen un papel importante en las redes alimentarias terrestres y acuáticas, podrían desaparecer una gran cantidad de aves,

murciélagos, réptiles, anfibios, pequeños mamíferos y peces (Goulson, 2019). Además, los insectos son importantes agentes de control biológico, están involucrados en la descomposición de materia orgánica como hojas, madera, heces de animales y cadáveres, ayudan a dispersar semillas y proporcionan productos como seda y miel (Noriega et al., 2018; Goulson, 2019). Aproximadamente el 75% de cultivos requieren ser polinizados por insectos, un servicio estimado en un valor de 235 a 577 mil millones de dólares por año (Noriega et al., 2018). Los servicios proporcionados por los insectos tienen un valor de al menos 57 mil millones de dólares por año solo en los Estados Unidos (Losey y Vaughan, 2006).

Los grandes depredadores previenen la propagación de enfermedades y especies invasoras (Estes *et al.*, 2011) y controlan las poblaciones de organismos inferiores (Di Bitetti, 2008). Sin los depredadores superiores las poblaciones de las presas y mesodepredadores aumentan; el incremento de herbívoros provoca una mayor presión sobre las plantas, reduciendo la cobertura vegetal, además de la alteración de los ciclos biogeoquímicos (Ritchie y Jonhson, 2009; Odum, 2014; Torres, 2016).

Los invertebrados han sido relacionados con procesos ecológicos del suelo para cumplir diversas funciones (Marín *et al.*, 2015). Las lombrices, son miembros de vital importancia; aproximadamente constituyen el 80% de la biomasa animal del suelo y son fundamentales para el desarrollo y mantenimiento de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Edwards y Bohlen, 1996; Lee, 1985), mejorando la estructura del suelo, aumentando la porosidad y aireación, facilitando la formación de agregados y reduciendo la compactación (Capowiez *et al.*, 2009; Edwards *et al.*, 2013). Otro grupo de organismos conforman la mesofauna (animales cuyo tamaño oscila entre 0.2 y 2 mm) como las arañas, nematodos, ácaros y colémbolos (Chocobar, 2010). Intervienen en procesos de descomposición de materia orgánica, de aceleración y reciclaje de nutrientes, y en particular, forman parte de los ciclos biogeoquímicos del fósforo y nitrógeno (García y Bello, 2004; Usher *et al.*, 2006). Por lo tanto, la disminución de poblaciones edáficas tiene un impacto sobre la calidad del suelo y la capacidad de sostener la producción de biomasa, contribuir al flujo de energía y materiales en los ecosistemas mediante la transformación, filtración, amortiguación y reciclaje de estos, y mantener la salud de plantas, animales y de los seres humanos, entre otros (Doran y Parkin, 1997; Karlen *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 2013).

Todas estas alteraciones provocadas por la desaparición de diferentes especies tienen un impacto económico, al disminuir la calidad y cantidad de servicios ecosistémicos que son

aprovechados por las sociedades para su bienestar, como el suministro de alimentos, agua, fibras y madera, la regulación de la calidad del aire o simplemente para actividades de recreación (Chapin *et al.*, 2000; Worm *et al.*, 2006; Oropeza *et al.*, 2015) (figura 1).

Por las consecuencias descritas anteriormente, es de gran relevancia realizar estudios genotóxicos en células germinales y somáticas, debido a que la supervivencia a largo plazo de cualquier especie multicelular depende del éxito de su línea germinal en la producción de gametos de calidad y la supervivencia de la descendencia (Drummond-Barbosa, 2019). De esta manera, la implementación de organismos modelo toma relevancia para elucidar las posibles consecuencias toxicológicas y ecológicas por exposición a xenobióticos ambientales, así como estudiar los mecanismos moleculares por los cuáles estas sustancias pueden inducir daño en modelos simples (Bhan y Nichols, 2011; Segner y Baumann, 2016). En el caso de *Drosophila melanogaster*, es posible que en sus diferentes estadios se estudien una variedad de efectos tóxicos: el embrión y la pupa pueden usarse como modelos en estudios toxicológicos del desarrollo y la larva en procesos fisiológicos y de comportamiento. La mosca adulta tiene órganos como el corazón, riñón, intestino, pulmón y el sistema reproductor con funciones equivalentes a la de los mamíferos (Abolaji *et al.*, 2013), además, de una alta homología genética (Roote y Prokop, 2013).

9. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten concluir lo siguiente:

- ◆ La LD₅₀ de Movento® 240SC a las 48 horas para *Drosophila melanogaster* es 0.079 mg/mL, por lo que es altamente tóxico para este organismo no blanco porque a una dosis baja causa la muerte del cincuenta por ciento de la población, resultando importante promover el uso responsable de los plaguicidas entre los agricultores, el sector gubernamental y las compañías productoras de estas sustancias.
- ◆ Los valores promedio de la intensidad de la cauda, demuestran que es el mejor parámetro indicador de daño al ADN, ya que varía linealmente con la dosis de exposición.
- ◆ A 0.011 mg/mL de Movento® 240SC no se registra un cambio significativo en la longitud y momento de la cauda, en cambio, la intensidad aumenta significativamente en células del ovario de *Drosophila melanogaster*.
- ◆ A 0.022 y 0.037 mg/mL de Movento® 240SC, los tres parámetros de genotoxicidad incrementan significativamente en células del ovario de *Drosophila melanogaster*.
- ◆ El insecticida Movento® 240SC es un agente genotóxico en los ovarios de *Drosophila melanogaster*, determinado mediante el ensayo cometa alcalino, reflejado en el incremento de los tres parámetros genotóxicos: longitud, momento y la intensidad de la cauda con una respuesta de concentración-efecto.
- ◆ Con los datos obtenidos de la LD₅₀ y del ensayo cometa alcalino, se debe reconsiderar el uso y tasa de aplicación de Movento® 240SC en los cultivos agrícolas, ya que a concentraciones ambientales puede causar la muerte de organismos no blanco o efectos sub-letales en ellos como daño al material genético de las células de los ovarios, desencadenando posibles alteraciones en la fertilidad, fecundidad y sobrevivencia, con repercusiones en los diferentes niveles de organización.

10. PERSPECTIVAS

Se propone continuar con los estudios para conocer la capacidad de reparación del ADN en *Drosophila melanogaster* cuando los organismos tienen un periodo de recuperación. Además, evaluar cuales son los impactos del daño al ADN sobre la ovogénesis, fertilidad, fecundidad y estudiar los efectos transgeneracionales desencadenados por la exposición a concentraciones sub-letales de Movento® 240SC.

Así mismo, utilizar biomarcadores químicos para cuantificar enzimas antioxidantes y proteínas, como la Caspasa-3, para respaldar la propuesta de que la generación de estrés oxidante por exposición a Movento® 240SC contribuye al daño al ADN y si ese daño es tan severo como para desencadenar eventos de apoptosis.

Además, entablar colaboraciones con otros laboratorios para realizar pruebas de ecotoxicidad en diferentes organismos modelo, tales como lombrices o peces. Aunado a esto, caracterizar la dinámica de Movento® 240SC en suelo y agua, su tasa de disipación y tiempo de permanencia en estos compartimientos ambientales.

Por último, se propone realizar estudios para cuantificar la presencia del principio activo de Movento® 240SC, spirotetramat, y su principal metabolito spirotetramat-enol, en los ovarios de *Drosophila melanogaster*.

11. REFERENCIAS

Abbassy, A., Abdel-Halim, K., & El-Meseiry, A. (2019). Bioaccumulation of Pesticides in Aquatic System of Edku Lake, Egypt: An Approach for Risk Associated With Fish Consumption. *Academic Journal of Life Sciences*, 5(9), 61-69.

Abdou, M. M., El-Saeed, R. A., Abozeid, M. A., Sadek, M. G., Zaki, E., Barakat, Y., ... & Bondock, S. (2019). Advancements in tetrionic acid chemistry. Part 1: Synthesis and reactions. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(4), 464-475.

Ables, E., Hwang, G., Finger, D., Hinnant, T., & Drummond-Barbosa, D. (2016). A genetic mosaic screen reveals ecdysone-responsive genes regulating *Drosophila* oogenesis. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(8), 2629-2642.

Abolaji, A., Kamdem, J., Farombi, E., & Rocha, J. (2013). *Drosophila melanogaster* as a promising model organism in toxicological studies. *Archives Basic Applied Medicine*, 1, 33-38.

Adams, M., Celniker, S., Holt, R., Evans, C., Gocayne, J., Amanatides, P., Scherer, S., Li, P., Hoskins, R., Galle, R., George, R., Lewis, S., Richards, S., Ashburner, M., Henderson, S., Sutton, G., Wortman, J., Yandell, M., Zhang, Q., Chen, L. X., ... Venter, J. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185–2195.

Affleck, J. G., & Walker, V. K. (2019). *Drosophila* as a Model for Developmental Toxicology: Using and Extending the Drosophotoxicology Model. *Methods in molecular biology*, 1965, 139–153.

Agarwal, A., & Allamaneni, S. (2004). Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reproductive biomedicine online*, 9(3), 338-347.

Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*, 3(1), 1-21.

Agbohessi, P. T., Toko, I. I., Houndji, A., Gillardin, V., Mandiki, S. N. M., & Kestemont, P. (2013). Acute toxicity of agricultural pesticides to embryo-larval and juvenile African catfish *Clarias gariepinus*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 64(4), 692-700.

Agrawal, A., & Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *International Journal of Biological & Medical Research*, 1(3), 90-104.

Aguilar-Garduño, C., Lacasaña, M., Blanco-Muñoz, J., Rodríguez-Barranco, M., Hernández, A. F., Bassol, S., ... & Cebrián, M. E. (2013). Changes in male hormone profile after occupational organophosphate exposure. A longitudinal study. *Toxicology*, 307, 55-65.

Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology*, 2(1), 1-12.

Alahmar, A. T. (2019). Role of oxidative stress in male infertility: An updated review. *Journal of human reproductive sciences*, 12(1), 4.

Alaraby, M., Romero, S., Hernández, A., & Marcos, R. (2019). Toxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in *Drosophila*. *Environmental and molecular mutagenesis*, 60(3), 277-285.

Altshuler, I., Demiri, B., Xu, S., Constantin, A., Yan, N. D., & Cristescu, M. E. (2011). An integrated multi-disciplinary approach for studying multiple stressors in freshwater ecosystems: *Daphnia* as a model organism. *Integrative and Comparative Biology*, 51(4):623-633.

Albert L. (2015). Panorama de los plaguicidas en México [en línea]. <http://alef.mx/el-jarocho-cuantico-49-los-plaguicidas-en-mexico/> (17/04/2017)

AL-Ahmadi, M. (2019). Pesticides, Anthropogenic Activities, and the Health of Our Environment Safety. In *Pesticides, Anthropogenic Activities and the Health of our Environment*. IntechOpen.

Al-Ghanim, K., Mahboob, S., Vijayaraghavan, P., Al-Misned, F., Kim, Y., & Kim, H. (2020). Sub-lethal effect of synthetic pyrethroid pesticide on metabolic enzymes and protein profile of non-target Zebra fish, *Danio rerio*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 441-447.

Al-Nasir, F., Jiries, A., Al-Rabadi, G., Hussein Al-u'datt, M., Tranchant, C., Al-Dalain, S., Alrabadi, N., Madanat, O., & Al-Dmour, R. (2020). Determination of pesticide residues in selected citrus fruits and vegetables cultivated in the Jordan Valley. *LWT*, 123, 109005.

Anand, M., & Taneja, A. (2020). Organochlorine pesticides residue in placenta and their influence on anthropometric measures of infants. *Environmental Research*, 182, 109106.

APVMA- Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. (2009). Evaluation of the new active Spirotetramat in the product Movento 240 SC Insecticide, April, 9-10.

APVMA- Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. (2015). Spirotetramat in the Product Movento 240 SC Insecticide.

Arango, V., & Sandra, S. (2012). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 30(1), 75-82.

Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J. C., & García-Río, L. (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123(4), 247-260.

Arora, S., Arora, S., Sahni, D., Sehgal, M., Srivastava, D., Singh, A. (2019). Pesticides use and its effect on soil bacteria and fungal populations, microbial biomass carbon and enzymatic activity. *Current Science*, 116(4), 643–649.

Ashburner, M., Golic, K.G. y Hawley, R.S. (2005). *Drosophila a Laboratory Handbook*. 2a Edition. New York: Editorial Cold Spring harbor.

Athanasellis, G., Igglessi-Markopoulou, O., & Markopoulos, J. (2010). Tetramic and tetrionic acids as scaffolds in bioinorganic and bioorganic chemistry. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2010. 315056.

Augustyniak, M., Gladysz, M., & Dziewięcka, M. (2016). The Comet assay in insects-status, prospects and benefits for science. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 767, 67-76.

Avila-Vazquez, M., Difilippo, F., Mac Lean, B., Maturano, E., & Etchegoyen, A. (2018). Environmental exposure to glyphosate and reproductive health impacts in agricultural population of Argentina. *Journal of Environmental Protection*, 9(03), 241.

Azab, B., Alassaf, A., Abu-Humdan, A., Dardas, Z., Almousa, H., Alsalem, M., ... & Awidi, A. (2019). Genotoxicity of cisplatin and carboplatin in cultured human lymphocytes: a comparative study. *Interdisciplinary Toxicology*, 12(2), 93-97.

Aznar-Aleman, Ò., Giménez, J., de Stephanis, R., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2017). Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 225, 346-353.

Bailey, S. (2004) Climate change and decreasing herbicide persistence. *Pest Management Science*, 60(2), 158–62.

Babić, S., Barišić, J., Stipaničev, D., Repec, S., Lovrić, M., Malev, O., ... & Klobučar, G. (2018). Assessment of river sediment toxicity: Combining empirical zebrafish embryotoxicity testing with in silico toxicity characterization. *Science of The Total Environment*, 643, 435-450.

Barrera, G., Pizzimenti, S., & Dianzani, M. U. (2008). Lipid peroxidation: control of cell proliferation, cell differentiation and cell death. *Molecular aspects of medicine*, 29(1-2), 1-8.

Bastock, R., & St Johnston, D. (2008). Drosophila oogenesis. *Current Biology*, 18(23), R1082-R1087.

Basu, S., Kumar, G., Chhabra, S., & Prasad, R. (2020). Role of soil microbes in biogeochemical cycle for enhancing soil fertility. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 149-157). Elsevier.

Bate, M., Martinez, A. (1993). The Development of Drosophila melanogaster. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1, 287-93.

Bayer. (2020). Ficha de datos de seguridad. Oberon. Recuperado de: https://www.cropscience.bayer.es/-/media/Bayer%20CropScience/Country-Spain-Internet/msds/HS_Oberon.pdf?force=1 (10/Abril/2021).

Bayer. (2021). Movento® 240 SC Insecticide. Recuperado de: <https://www.crop.bayer.com.au/find-crop-solutions/by-product/insecticides/movento-240-sc-insecticide> (10/Abril/2021).

Beane, L., Bonner, M., Blair, A., Hoppin, J. A., Sandler, D., Lubin, J., ... & Alavanja, M. (2005). Cancer incidence among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study cohort exposed to diazinon. *American journal of epidemiology*, 162(11), 1070-1079.

Beckingham, K. M., Armstrong, J. D., Texada, M. J., Munjaal, R., & Baker, D. A. (2007). Drosophila melanogaster-the model organism of choice for the complex biology of multi-cellular organisms. *Gravitational and Space Research*, 18(2).

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

Bejarano, F. (Ed.). (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. RAPAM.

Benitez, F., Real, F.J., Acero J., & Garcia, C. (2006). Photochemical oxidation processes for the elimination of phenyl-urea herbicides in waters. *Journal of Hazard Material*, 138(2), 278–87.

Benítez, R. (2012). Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: un estado del arte. línea]. Disponible en: <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>

Bensafi-Gheraibia, H., Menail, A. H., & Soltani, N. (2013). Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in Drosophila melanogaster: lipid levels and peroxydation, and effects on offspring. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 138(1/4), 189-199.

Bernal, J., Garrido-Bailón, E., Del Nozal, M. J., González-Porto, A. V., Martín-Hernández, R., Diego, J. C., ... & Higes, M. (2010). Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. *Journal of Economic Entomology*, 103(6), 1964-1971.

Bernardino, H., Aguilar, H., Cruz, G., Velasco, L., & Martínez, A. (2019). Uso de plaguicidas en el cultivo de maíz en zonas rurales del Estado de Oaxaca, México. *Revista de Salud Ambiental*, 19(1), 23-31.

Bhan, U., & Nichols, D. (2011). Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2), 411-436.

Bilder, D., & Haigo, S. L. (2012). Expanding the morphogenetic repertoire: perspectives from the *Drosophila* egg. *Developmental cell*, 22(1), 12-23.

Boesten, J., Aden, K., Beigel, C., Beulke, S., Dust, M., Dyson, J. S., ... & Soulas, G. (2005). Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. *Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Doc. Ref. Sanco/10058/2005, version, 1*.

Bouabida, H., Tine-djebbar, F., Tine, S., & Soltani, N. (2017). Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1120-1124.

Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Strongberg U., Vermeulen R., Znaor A., Cebulska-Wasilewska A., Fabianova E., Fucic A., Gundy S., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Latzuka J., Rossner P., Sram R.J. & Boffeta P. (2008). Chromosomal aberrations frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22,358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis*, 29, 1178-1183.

Borgå, K., Fisk, A. T., Hoekstra, P. F., & Muir, D. C. (2004). Biological and chemical factors of importance in the bioaccumulation and trophic transfer of persistent organochlorine contaminants in arctic marine food webs. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 23(10), 2367-2385.

Borrás, E., Ródenas, M., Vera, T., Gómez, T., & Muñoz, A. (2017). Atmospheric degradation of the organothiophosphate insecticide–Pirimiphos-methyl. *Science of The Total Environment*, 579, 1-9.

Bouwman, H., Yohannes, Y. B., Nakayama, S. M. M., Motohira, K., Ishizuka, M., Humphries, M. S., ... & Ikenaka, Y. (2019). Evidence of impacts from DDT in pelican, cormorant, stork, and egret eggs from KwaZulu-Natal, South Africa. *Chemosphere*, 225, 647-658.

Bownik, A., Kowalczyk, M., & Bańcerowski, J. (2019). Lambda-cyhalothrin affects swimming activity and physiological responses of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 216, 805-811.

Brahmand, M. B., Yunesian, M., Nabizadeh, R., Nasser, S., Alimohammadi, M., & Rastkari, N. (2019). Evaluation of chlorpyrifos residue in breast milk and its metabolite in urine of mothers and their infants feeding exclusively by breast milk in north of Iran. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 1-9.

Bretschneider, T., Fischer, R., Nauen, R., Lamberth, C., & Dinges, J. (2012). Tetric acid insecticides and acaricides inhibiting acetyl-CoA carboxylase. *Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals* (eds C. Lamberth and J. Dinges), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

Brodie, J., & Landos, M. (2019). Pesticides in Queensland and Great Barrier Reef waterways-potential impacts on aquatic ecosystems and the failure of national management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 106447.

Brück E, Elbert A, Fischer R, Krueger S, Kühnhold J, Klueken AM et al., (2009). Movento®, an innovative ambimobile insecticide for sucking insectpest control in agriculture: biological profile and field performance. *Crop Protection*, 28, 838–844

Brühl, C. A., & Zaller, J. G. (2019). Biodiversity decline as a consequence of an inadequate environmental risk assessment of pesticides. *Frontiers in Environmental Science*, 7, 177.

Buah-Kwofie, A., Humphries, M., & Pillay, L. (2018a). Bioaccumulation and risk assessment of organochlorine pesticides in fish from a global biodiversity hotspot: iSimangaliso Wetland Park, South Africa. *Science of the total environment*, 621, 273-281.

Buah-Kwofie, A., Humphries, M., Combrink, X., & Myburgh, J. (2018b). Accumulation of organochlorine pesticides in fat tissue of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) from iSimangaliso Wetland Park, South Africa. *Chemosphere*, 195, 463-471.

Burlison, B., Tice, R., Speit, G., Agurell, E., Brendler-Schwaab, SY., Collins, R., Escobar, P., Honma, M., Kumaravel, S., Nakajima, M., Sasaki, Y., Thybaud, V., Uno, Y., Vasquez, M., & Hartmann, A. (2007) Fourth international work group on genotoxicity testing: Results of the in vivo comet assay work group. *Mutation Research*, 627, 31-35

Cabrerizo, A., Dachs, J., & Barceló, D. (2013). Soil-Air Exchange Controls on Background Atmospheric Concentrations of Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Organochlorine Pesticides (OCPs), and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Case Study from Temperate Regions. *In Occurrence, Fate and Impact of Atmospheric Pollutants on Environmental and Human Health*. American Chemical Society, 1149, 19-38.

Cagnolo, L., & Valladares, G. (2011). Fragmentación del hábitat y desensamble de redes tróficas. *Revista Ecosistemas*, 20(2-3), 68-70.

Calderón-Segura, ME., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Espinosa-Ramírez, M. (1999). In vivo and in vitro promutagen activation by Vicia faba of thiocarbamate herbicides molinate and butylate to products inducing sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 438(2), 81-88.

Calderón-Segura, ME., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Butterworth, F. M., & Amador-Muñoz, O. (2004). The effects of seasonal weather on the genotoxicity, cytokinetic properties, cytotoxicity and organochemical content of extracts of airborne particulates in Mexico City. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 558(1-2), 7-17.

Calderón-Segura, ME., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Martínez-Valenzuela, C., Carbajal-López, Y., Calderón-Ezquerro, M.... & Méndez-Pérez, P. (2012). Evaluation of genotoxic and cytotoxic effects in human peripheral blood lymphocytes exposed in vitro to neonicotinoid insecticides news. *Journal of toxicology*, 612647.

Calderón-Segura, ME., Marcial Rojas, JA., Mézquita-Brito, MG., TecCab, M., Calderón-Ezquerro, MC., & Gómez-Arroyo, S. (2015). Genotoxicity of the neonicotinoid insecticide Poncho (clothianidin) on CD1 mice based on alkaline comet and micronucleus assays. *Toxicity and Hazard of Agrochemicals*. Larralde M (Ed) ISBN: ISBN 978-953-51-4263-8 Chapter 5. 113-125.

Calderón-Segura, ME., Gómez-Arroyo, S., Cortés-Eslava, J., Martínez-Valenzuela, C., Mojica-Vázquez, LH., Sosa-López, M., Flores-Ramírez, DE., & Romero-Velázquez, E. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Genotoxicity of Furia® 180 SC (Zeta-cypermethrin) and Bulldock 125®SC (β-Cyfluthrin) pyrethroid insecticides in human peripheral blood lymphocytes. *Journal Toxicology Mechanisms and Methods* Doi.org/10.1080/15376516.2017.1402977.

Campos, J., & Hartenstein, V. (1985). The Embryonic development of *Drosophila melanogaster*. Springer-Verlag, Berlin, 16(10), 947-59.

Cantoni, A., De Maeyer, L., Casas, J. I., Niebes, J. F., Peeters, D., Roffeni, S., ... & Villalobos, A. (2008). Development of Movento® on key pests and crops in European countries. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 61, 3.

Capowiez, Y., Cadoux, S., Bouchand, P., Roger-Estrade, J., Richard, G., & Boizard, H. (2009). Experimental evidence for the role of earthworms in compacted soil regeneration based on field observations and results from a semi-field experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(4), 711-717.

Caratachea, M. (2007). Genetic polymorphisms: Significance and applications. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 20(3), 213-221.

Cardinale, B., Duffy, J., Gonzalez, A., Hooper, D., Perrings, C., Venail, P., ... & Kinzig, A. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486(7401), 59-67.

Carrillo, E., Ponce, M., Peña, P., Flores, R., Neri, M., Zepeda, M., ... & Ortiz, T. (2016). Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. *Revista de Facultad de Medicina, UNAM*, 59(1), 026-1742.

Castañeda-Sortibrán, A. N., Flores-Loyola, C., Martínez-Martínez, V., Ramírez-Corchado, M. F., & Rodríguez-Arnaiz, R. (2019). Herbicide genotoxicity revealed with the somatic wing spot assay of *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(2), 295-305.

Cerezer, C., Marins, A., Cerezer, F., Severo, E., Leitemperger, J., Bandeira, N., ... & Santos, S. (2020). Influence of pesticides and abiotic conditions on biochemical biomarkers in *Aegla aff. longirostri* (crustacea, anomura): Implications for conservation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 110982.

Cerutti, M. (2015). La agriculturización del desierto: Estado, riego y agricultura en el norte de México (1925-1970). *Apuntes*, 42(77), 91-127.

CESAVEG- Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C. (2015). Guía para el manejo de Pulgón Amarillo del Sorgo. Manual Técnico.

Chakrabarti, P., Carlson, E., Lucas, H., Melathopoulos, A., & Sagili, R. (2020). Field rates of Sivanto™ (flupyradifurone) and Transform® (sulfoxaflor) increase oxidative stress and induce apoptosis in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Plos one*, 15(5), e0233033.

Chamanza, R., & Wright, J. A. (2015). A review of the comparative anatomy, histology, physiology and pathology of the nasal cavity of rats, mice, dogs and non-human primates. Relevance to inhalation toxicology and human health risk assessment. *Journal of comparative pathology*, 153(4), 287-314.

Chang, J., Liu, S., Zhou, S., Wang, M., & Zhu, G. (2013). Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental and toxicologic pathology*, 65(1-2), 205-209.

Chang, S., El-Zaemey, S., Heyworth, J., & Tang, M. C. (2018). DDT exposure in early childhood and female breast cancer: Evidence from an ecological study in Taiwan. *Environment international*, 121, 1106-1112.

Chapin, F., Zavaleta, E., Eviner, V., Naylor, R., Vitousek, P., Reynolds, H. L., ... & Díaz, S. (2000). Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405(6783), 234-242.

Chen, Y. (2018). The Effect of Spirotetramat on Zebrafish Embryo Development. *Zhejiang Agriculture and Forestry University*.

Chen, C., & McCarl, B. (2010). An investigation of the relationship between pesticide usage and climate change. *Climatic Change*, 50(4), 475–87

Chen, X., & Stark, J. D. (2010). Individual-and population-level toxicity of the insecticide, spirotetramat and the agricultural adjuvant, Destiny to the Cladoceran, *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology*, 19(6), 1124-1129.

Chen, X., Meng, Z., Zhang, Y., Gu, H., Ren, Y., & Lu, C. (2016). Degradation kinetics and pathways of spirotetramat in different parts of spinach plant and in the soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 15053-15062.

Chen, J., Saleem, M., Wang, C., Liang, W., & Zhang, Q. (2018a). Individual and combined effects of herbicide tribenuron-methyl and fungicide tebuconazole on soil earthworm *Eisenia fetida*. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.

Chen, X., Meng, Z., Song, Y., Zhang, Q., Ren, L., Guan, L., ... & Yang, Y. (2018b). Adsorption and desorption behaviors of spirotetramat in various soils and its interaction mechanism. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(47), 12471-12478.

Chen, X., Ren, L., Meng, Z., Zhang, Q., Song, Y., Guan, L., ... & Shen, D. (2018c). Environmental behaviors of spirotetramat in water. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 24162-24171.

Chen, Y., Tao, F., Liu, X., Wang, M., Rao, Q., Gu, D., & Wu, H. (2018d). Acute and chronic toxicities of spirotetramat to *Daphnia magna*. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 20(1), 118-123.

Chenlei, M., Jue, W., Shengju, J., Junyao, Z., Xiaohui, Y., & Huiming, W. (2014). Toxicity of spirotetramat and oxidative stress response in female zebrafish (*Danio rerio*). *农药学学报*, 16(3), 300-306.

Chhipa, H. (2017). Nanopesticide: current status and future possibilities. *Agricultural Research & Technology*, 5(1), 1-4.

Chiovarou, E., & Siewicki, T. (2007). Comparison of storm intensity and application timing on modeled transport and fate of six contaminants. *Science Total Environmental*, 389(1), 87-100.

Chocobar, E. A. (2010). Edafofauna como indicador de la calidad en un suelo Cumulic Phaozem sometido a diferentes sistemas de manejos en un experimento de larga duración. [Tesis de Maestría]. Colegio de Postgraduados, Estado de México.

Climent, M. J., Coscollà, C., López, A., Barra, R., & Urrutia, R. (2019). Legacy and current-use pesticides (CUPs) in the atmosphere of a rural area in central Chile, using passive air samplers. *Science of The Total Environment*, 662, 646-654.

COFEPRIS- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2009). Catálogo de Plaguicidas. Recuperado de http://www.cofepris.gob.mx/wb/cfp/catalogo_de_plaguicidas

Collins, A. R., Oscoz, A. A., Brunborg, G., Gaivao, I., Giovannelli, L., Kruszewski, M., ... & Štětina, R. (2008). The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, 23(3), 143-151.

Coscollà, C., Castillo, M., Pastor, A., & Yusà, V. (2011). Determination of 40 currently used pesticides in airborne particulate matter (PM 10) by microwave-assisted extraction and gas

chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 693(1-2), 72-81.

Coscollà, C., Hart, E., Pastor, A., & Yusà, V. (2013a). LC-MS characterization of contemporary pesticides in PM10 of Valencia Region, Spain. *Atmospheric Environment*, 77, 394-403.

Coscollà, C., Yahyaoui, A., Colin, P., Robin, C., Martinon, L., Val, S., ... & Yusà, V. (2013b). Particle size distributions of currently used pesticides in a rural atmosphere of France. *Atmospheric environment*, 81, 32-38.

Coscollà, C., López, A., Yahyaoui, A., Colin, P., Robin, C., Poinsignon, Q., & Yusà, V. (2017). Human exposure and risk assessment to airborne pesticides in a rural French community. *Science of the Total Environment*, 584, 856-868.

Croft, B., Jepson P., & Heneghan, P. (1998). Issues associated with pesticide toxicology and arthropod natural enemies in the pre- and post-registration stages of chemical development. Ecotoxicology, pesticides and beneficial organisms. Haskell PT, McEwen P. UK: Springer Science+Business Media Dordrecht, 7-19

Cycoń, M., & Piotrowska-Seget, Z. (2015). Biochemical and microbial soil functioning after application of the insecticide imidacloprid. *Journal of Environmental Sciences*, 27, 147-158.

Cuenca, J. B., Tirado, N., Barral, J., Ali, I., Levi, M., Stenius, U., ... & Dreij, K. (2019). Increased levels of genotoxic damage in a Bolivian agricultural population exposed to mixtures of pesticides. *Science of the Total Environment*, 695, 133942.

Cuevas, M. (2006). *Drosophila Oogenesis*. Encyclopedia of life sciences. Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, Estados Unidos.

Çelik, A., Çömelekoğlu, Ü., & Yalin, S. (2005). A study on the investigation of cadmium chloride genotoxicity in rat bone marrow using micronucleus test and chromosome aberration analysis. *Toxicology and Industrial Health*, 21(9), 243-248.

Čepo, D. V., Pelajić, M., Vrček, I. V., Krivohlavek, A., Žuntar, I., & Karoglan, M. (2018). Differences in the levels of pesticides, metals, sulphites and ochratoxin A between organically and conventionally produced wines. *Food chemistry*, 246, 394-403.

Dabrowski, J., Peall, S., Reinecke, A., Liess, M., & Schulz, R. (2002) Runoff-related pesticide input into the Lourens River, South Africa: basic data for exposure assessment and risk mitigation at the catchment scale. *Water Air Soil Poll*, 135, 265–83.

Dai, Y., Jia, Y., A Chen, N., Bian, W., Li, Q., Ma, Y., ... & Pei, D. (2014). Zebrafish as a model system to study toxicology. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(1), 11-17.

Daley J.M., Paterson, G., & Drouillard, K. (2014). Bioamplification as a bioaccumulation mechanism for persistent organic pollutants (POPs) in Wildlife. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 227, 107-154.

Daskalakis, K., & O'connor, T. (1995). Distribution of chemical contamination in US coastal and estuarine sediments. *Marine Environmental Research*, 40(4), 381-398.

Debenest, T., Silvestre, J., Coste, M., & Pinelli, E. (2010). Effects of pesticides on freshwater diatoms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 203, 87–103.

Degrendele, C., Okonski, K., Melymuk, L., Landlová, L., Kukučka, P., Audy, O., ... & Klánová, J. (2016). Pesticides in the atmosphere: a comparison of gas-particle partitioning and particle size distribution of legacy and current-use pesticides. *Atmospheric Chemistry & Physics*, 16(3).

Delcour, I., Spanoghe, P., & Uyttendaele, M. (2015). Literature review: impact of climate change on pesticide use. *Food Research International*, 68, 7–15.

DeLorenzo, M., & Serrano, L. (2003). Individual and mixture toxicity of three pesticides; atrazine, chlorpyrifos, and chlorothalonil to the marine phytoplankton species *Dunaliella tertiolecta*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 38(5), 529-538.

Demerec, M., & Kaufmann, B. P. (2005). *Drosophila Guide: Introduction to the Genetics and Cytology of Drosophila Melanogaster*. Carnegie Institution of Washington.

Dennery, P. (2004). Role of redox in fetal development and neonatal diseases. *Antioxidants and Redox Signaling*, 6(1), 147-153.

Devine, G. J., & Denholm, I. (2009). Insecticide and acaricide resistance. In *Encyclopedia of Insects* (pp. 505-511). Academic Press.

Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública*, 25(1), 74-100.

Dias, J., Maria da Graça, P., Pizzutti, I., Reichert, B., Jung, A., & Cardoso, C. (2019). Simultaneous determination of pesticides and mycotoxins in wine by direct injection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Food chemistry*, 293, 83-91.

Díaz, O., & Aguilar, C. (2018). Los pesticidas; clasificación, necesidad de un manejo integrado y alternativas para reducir su consumo indebido: una revisión. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 14-30.

Di Bitetti, M. (2008). Depredadores tope y cascadas tróficas en ambientes terrestres.

Dong, J., Wang, J., Qian, Q., Li, G., Yang, D., & Jiang, C. (2019). Micronucleus assay for monitoring the genotoxic effects of arsenic in human populations: A systematic review of the literature and meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 780, 1-10.

Doran, J., & Parkin, T. (1997). Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. *Methods for assessing soil quality*, 49, 25-37.

Drummond-Barbosa, D. (2019). Local and physiological control of germline stem cell lineages in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 213(1), 9-26.

Drummond-Barbosa, D., & Spradling, A. C. (2001). Stem cells and their progeny respond to nutritional changes during *Drosophila* oogenesis. *Developmental biology*, 231(1), 265-278.

Dubois, O. (2011). *The state of the world's land and water resources for food and agriculture: managing systems at risk*. Earthscan.

Duttagupta, S., Mukherjee, A., Das, K., Dutta, A., Bhattacharya, A., & Bhattacharya, J. (2020). Groundwater vulnerability to pesticide pollution assessment in the alluvial aquifer of Western Bengal basin, India using overlay and index method. *Geochemistry*.

de Lapuente, J., Lourenço, J., Mendo, S. A., Borràs, M., Martins, M. G., Costa, P. M., & Pacheco, M. (2015). The Comet Assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. *Frontiers in genetics*, 6, 180.

de Moraes, C., Travençolo, B., Carvalho, S., Beletti, M., Santos, V., Campos, C., ... & Spanó, M. (2018). Ecotoxicological effects of the insecticide fipronil in Brazilian native stingless bees *Melipona scutellaris* (Apidae: Meliponini). *Chemosphere*, 206, 632-642.

de Moraes, C., Pereira, B., Sousa, P., Santos, V., Campos, C., Carvalho, S., ... & Bonetti, A. (2019). Evaluation of the genotoxicity of neurotoxic insecticides using the micronucleus test in *Tradescantia pallida*. *Chemosphere*, 227, 371-380.

de Oliveira, R., do Nascimento Queiroz, S., da Luz, C., Porto, R., & Rath, S. (2016). Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. *Chemosphere*, 163, 525-534.

de Santana, S., Verçosa, C., de Araújo Castro, Í., de Amorim, É., da Silva, A., da Rocha Bastos, T., ... & Rohde, C. (2018). *Drosophila melanogaster* as model organism for monitoring and analyzing genotoxicity associated with city air pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(32), 32409-32417.

de Souza, R., Seibert, D., Quesada, H., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M., & Bergamasco, R. (2020). Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22-37.

De Zio, D., Cianfanelli, V., & Cecconi, F. (2013). New insights into the link between DNA damage and apoptosis. *Antioxidants & redox signaling*, 19(6), 559-571.

del Puerto Rodríguez, A., Suárez, S., & Palacio, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.

Désert, M., Ravier, S., Gille, G., Quinapallo, A., Armengaud, A., Pochet, G., Savelli, J., Wortham, H., & Quivet, E. (2018). Spatial and temporal distribution of current-use pesticides in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region and Corsica, France. *Atmospheric Environment*, 192, 241-256.

Edwards, C. & Bohlen, P. (1996). *Biology and ecology of earthworms*. 426 pp. Chapman and Hall, London.

Edwards, C., Hendrix, P., Arancon, N. (2013). *Biology and Ecology of Earthworms*. 4th edn.

EFSA- European Food Safety Authority. (2013). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA Journal*, 13(11), 4302.

EFSA- European Food and Safety Authority, Anastassiadou, M., Brancato, A., Carrasco Cabrera, L., Greco, L., Jarrah, S., ... & Nave, S. (2019). Modification of the existing maximum residue levels for spirotetramat in small fruits and berries. *EFSA Journal*, 17(11), e05904.

Engel, L., Hill, D., Hoppin, J., Lubin, J., Lynch, C., Pierce, J., ... & Alavanja, M. (2005). Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. *American Journal of Epidemiology*, 161(2), 121-135.

EPA- United States Environmental Protection Agency. (2011). Recuperado de <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2011-05-18/html/2011-11937.htm>

EPA- United States Environmental Protection Agency. (2017). Recuperado de: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/000264-01050-20170628.pdf (20/Dic/2020).

Erkemen, B., Yerli, S., Eekakan, F., & Kolankaya, D. (2013). Persistent organochlorine pesticides residues in water and sediment samples from Lake Manyas, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 34, 171-176.

Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., ... & Pérez-Parada, A. (2018). Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of the total environment*, 631, 169-179.

Espinoza-Navarro, O., Ferreira, C., & Bustos-Obregón, E. (2013). Effect of Methamidophos on the Morphology and Male Reproductive Parameters of the Earthworm *Eisenia fetida*. *International Journal of Morphology*, 31(3).

Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical Biology and medicine*, 11(1), 81-128.

Estes, J., Terborgh, J., Brashares, J., Power, M., Berger, J., Bond, W., ... & Wardle, D. (2011). Trophic downgrading of planet Earth. *Science*, 333(6040), 301-306.

FAO. (2003). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/y4544s/y4544s00.htm> (8/Abril/2021)

FAO. (2018). Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. Recuperado de: <http://www.fao.org/news/story/es/item/1141818/icode/> (3/Feb/2020)

FAO. (2019). La FAO presenta 2020 como Año Internacional de la Sanidad Vegetal. Recuperado de: <http://www.fao.org/news/story/es/item/1253562/icode/> (03-julio-2020).

Farha, W., Abd El-Aty, A. M., Rahman, M. M., Shin, H. C., & Shim, J. H. (2016). An overview on common aspects influencing the dissipation pattern of pesticides: a review. *Environmental monitoring and assessment*, 188(12), 693.

Farraj, A., Hazari, M., & Cascio, W. (2011). The utility of the small rodent electrocardiogram in toxicology. *Toxicological sciences*, 121(1), 11-30.

Fenner-Crisp, P. (2001) Risk-assessment and risk management: the regulatory process. In: Kreiger R, editor. *Handbook of Pesticide Toxicology*. 2nd Ed Academic; San Diego. pp. 681–690.

Ferdenache, M., Bezzar-Bendjazia, R., Marion-Poll, F., & Kilani-Morakchi, S. (2019). Transgenerational effects from single larval exposure to azadirachtin on life history and behavior traits of *Drosophila melanogaster*. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.

Fernandes, M. C., Cox, L., Hermosín, M. C., & Cornejo, J. (2003). Adsorption–desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest management science*, 59(5), 545-552.

Fernandes, K. M., Tomé, H. V. V., Miranda, F. R., Gonçalves, W. G., Pascini, T. V., Serrão, J. E., & Martins, G. F. (2019). *Aedes aegypti* larvae treated with spinosad produce adults with damaged midgut and reduced fecundity. *Chemosphere*, 221, 464-470.

Ferreira, D. & Allard, P. (2015). Models of germ cell development and their application for toxicity studies. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 56, 637-649.

Frankel, T. E., Bohannon, M. E., & Frankel, J. S. (2020). Assessing the impacts of methoxychlor exposure on the viability, reproduction, and locomotor behavior of the semiole ramshorn snail (*Planorbella duryi*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(1), 220-228.

Gaivão, I., & Sierra, L. M. (2014). *Drosophila* comet assay: insights, uses, and future perspectives. *Frontiers in Genetics*, 5,304.

Gajski, G., Žegura, B., Ladeira, C., Pourrut, B., Del Bo, C., Novak, M., ... & Dusinska, M. (2019a). The comet assay in animal models: From bugs to whales–(Part 1 Invertebrates). *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 779, 82-113.

Gajski, G., Žegura, B., Ladeira, C., Novak, M., Sramkova, M., Pourrut, B., ... & Dusinska, M. (2019b). The comet assay in animal models: from bugs to whales—(Part 2 Vertebrates). *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 781, 130-164.

Gallo, V., Khan, A., Gonzales, C., Phillips, D. H., Schoket, B., Györfy, E., ... & Kyrtopoulos, S. (2008). Validation of biomarkers for the study of environmental carcinogens: a review. *Biomarkers*, 13(5), 505-534.

García, A. & Bello, A. (2004). Diversidad de los organismos del suelo y transformaciones de la materia orgánica. Memorias. I Conferencia Internacional Eco-Biología del Suelo y el Compost. León, España. p. 211

García, H., Leyva, J., Martínez, I., Hernández, M., Aldana, M., Rojas, A., ... & Perera, J. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. *CONACYT*.

García-Rojas, J., Bermúdez-Robles, A., Cambero-Campos, O., Carvajal-Cazola, C., & Peña-Sandoval, G. (2017). Resistencia metabólica a pesticidas. *Revista Bio Ciencias*, 4(6), 1-16.

Gartner, A., Milstein, S., Ahmed, S., Hodgkin, J., & Hengartner, M. O. (2000). A conserved checkpoint pathway mediates DNA damage-induced apoptosis and cell cycle arrest in *C. elegans*. *Molecular cell*, 5(3), 435-443.

Gastelbondo-Pastrana, B., Fernandes, F., Salvadori, D., & dos Santos, D. (2019). The comet assay in *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae): A suitable approach for detecting somatic and germ cell genotoxicity induced by agrochemicals. *Chemosphere*, 235, 70-75.

Gavrilescu, M. (2005). Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, 5(6)7-526.

Gawel, M., Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Semeniuk, S., Goliszek, M., Burek, O., & Posyniak, A. (2019). Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food chemistry*, 282, 36-47.

Ghafouri-Khosrowshahi, A., Ranjbar, A., Mousavi, L., Nili-Ahmadabadi, H., Ghaffari, F., Zeinvand-Lorestani, H., & Nili-Ahmadabadi, A. (2019). Chronic exposure to organophosphate pesticides as an important challenge in promoting reproductive health: A comparative study. *Journal of education and health promotion*, 8.

Gil, F., & Pla, A. (2001). Biomarkers as biological Indicators of xenobiotic exposure. *Applied Toxicology*, 21(4), 245--255.

Gilbert, S. (2005). *Biología del Desarrollo*. 7ª Ed. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. pp.680 y 681.

Giraldez, R. (s.f). Recuperado de: <https://www.unioviado.es/esr/rqiraldez/pedeefes/cb1.pdf>

Gomes, H., Menezes, J., da Costa, J., Coutinho, H., Teixeira, R., & do Nascimento, R.. (2020). Evaluating the presence of pesticides in bananas: An integrative review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 110016.

Gómez-Arroyo, S., Martínez-Valenzuela, C., Carbajal-López, Y., Martínez-Arroyo, A., Calderón-Segura, ME., Villalobos-Pietrini, R., & Waliszewski, S. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29, 159-180.

- Gonfloni, S. (2010). DNA damage stress response in germ cells: role of c-Abl and clinical implications. *Oncogene*, 29(47), 6193-6202.
- González, A., & St Johnston, D. (1998). Patterning of the follicle cell epithelium along the anterior-posterior axis during *Drosophila* oogenesis. *Development*, 125(15), 2837-2846.
- González, E., Siroski, P., & Poletta, G. (2019). Genotoxicity induced by widely used pesticide binary mixtures on *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). *Chemosphere*, 232, 337-344.
- González, M., Soloneski, S., Reigosa, M., & Larramendy, M. (2003). Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro: IV. DNA damage and repair kinetics assessed by single cell gel electrophoresis (SCGE) assay on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534(1-2), 145-154.
- González, Y., & Prieto, E. (2001). Efectos sobre los ácidos nucleicos. Estrés oxidativo en Biomedicina.
- González-Coloma, A. (2015). Biopesticidas: biotecnología y productos naturales. *Revista de Protección Vegetal*, 30.
- González-Marín, B. (2018). Efectos del mercurio sobre las vías de señalización WNT en ovarios adultos de *Drosophila melanogaster*. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- González-Mille, D. J., Ilizaliturri-Hernández, C. A., Espinosa-Reyes, G., Costilla-Salazar, R., Díaz-Barriga, F., Ize-Lema, I., & Mejía-Saavedra, J. (2010). Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish of different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Ecotoxicology*, 19(7), 1238-1248.
- Goulson, D. (2019). The insect apocalypse, and why it matters. *Current Biology*, 29(19), 967-971.
- Grondona, S., Gonzalez, M., Martínez, D., Massone, H., & Miglioranza, K. (2019). Assessment of organochlorine pesticides in phreatic aquifer of Pampean Region, Argentina. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 102(4), 544-549.
- Gupta, S & Gupta, K. (2020). Bioaccumulation of pesticides and Its impact on biological systems. *Pesticides In Crop Production: Physiological and Biochemical action*.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (2007). Free radicals in biology and medicine. 4° Ed. Ed. Oxford
- Hallman, T., & Brooks, M. (2015). The deal with diel: Temperature fluctuations, asymmetrical warming, and ubiquitous metals contaminants. *Environmental Pollution*, 206, 88-94.
- Hamadamin, A., & Hassan, K. (2020). Gas chromatography–mass spectrometry based sensitive analytical approach to detect and quantify non-polar pesticides accumulated in the fat tissues of domestic animals. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(3), 887-893.
- Han, Y., Zhu, L., Wang, J., Wang, J., Xie, H., & Zhang, S. (2014). Integrated assessment of oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to azoxystrobin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 214-219.
- Hanazato, T. (2001). Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental pollution*, 112(1), 1-10.

Harsimran K. & Harsh G. (2014). Pesticides: environmental impacts and management strategies. Pesticides-toxic aspects (M.L. Larramendy y S. Soloneski, Eds.). Intech, Rijeka, Croacia, pp. 187-230.

Harwood, A., You, J., & Lydy, M., (2009). Temperature as a toxicity identification evaluation tool for pyrethroid insecticides: toxicokinetic confirmation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(5), 1051-1058.

Heffernan, A., Gómez-Ramos, M., Gaus, C., Vijayasathya, S., Bell, I., Hof, C., ... & Gómez-Ramos, M. (2017). Non-targeted, high resolution mass spectrometry strategy for simultaneous monitoring of xenobiotics and endogenous compounds in green sea turtles on the Great Barrier Reef. *Science of The Total Environment*, 599, 1251-1262.

Henderson, D. (2004). *Drosophila cytogenetics protocols* (Vol. 247). Springer Science & Business Media. Pág. 89-92.

Hernández-Antonio, A., & Hansen, M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(2), 115-127.

Hinnant, T., Merkle, J., & Ables, E. (2020). Coordinating proliferation, polarity, and cell fate in the *Drosophila* female germline. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8.

Hirsch, H., Mercer, J., Sambaziotis, H., Huber, M., Stark, D., Torno-Morley, T., ... & Ruden, D. (2003). Behavioral effects of chronic exposure to low levels of lead in *Drosophila melanogaster*. *Neurotoxicology*, 24(3), 435-442.

Hong, Y., Huang, Y., Yan, G., Yin, H., & Huang, Z. (2020). DNA damage, immunotoxicity, and neurotoxicity induced by deltamethrin on the freshwater crayfish, *Procambarus clarkii*. *Environmental Toxicology*.

Hooper, M., Ankley, G., Cristol, D., Maryoung, L., Noyes, P., & Pinkerton, K. (2013). Interactions between chemical and climate stressors: A role for mechanistic toxicology in assessing climate change risks. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(1), 32-48.

Hoover, S. (2005). *National movement targets lawn care poisons*. *Pesticides You*, 25, 9–12.

Horne-Badovinac, S., & Bilder, D. (2005). Mass transit: epithelial morphogenesis in the *Drosophila* egg chamber. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 232(3), 559-574.

Huang, Y., Ma, J., Meng, Y., Wei, Y., Xie, S., Jiang, P., ... & Cao, Z. (2020). Exposure to oxadiazon-Butachlor causes cardiac toxicity in zebrafish embryos. *Environmental Pollution*, 114775.

Hudson, A., & Cooley, L. (2014). Methods for studying oogenesis. *Methods (San Diego, Calif.)*, 68(1), 207–217.

Huelsmann, S., Yläne, J., & Brown, N. (2013). Filopodia-like Actin Cables Position Nuclei in Association with Perinuclear Actin in *Drosophila* Nurse Cells. *Developmental Cell* 26(6): 604--615.

Humann-Guillemot, S., de Montaigu, C. T., Sire, J., Grünig, S., Gning, O., Glauser, G., Vallatm A., & Helfenstein, F. (2019). A sublethal dose of the neonicotinoid insecticide acetamiprid reduces sperm density in a songbird. *Environmental research*, 177, 108589.

Hvězďová, M., Kosubová, P., Košíková, M., Scherr, K., Šimek, Z., Brodský, L., ... & Krkošková, L. (2018). Currently and recently used pesticides in Central European arable soils. *Science of the Total Environment*, 613, 361-370.

Iarmarcovai, G., Bonassi, S., Botta, A., Baan, R., & Orsière T. (2008). Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 65(8), 215-233.

Ichikawa, G., Kuribayashi, R., Ikenaka, Y., Ichise, T., Nakayama, S. M., Ishizuka, M., ... & Bonmatin, J. M. (2019). LC-ESI/MS/MS analysis of neonicotinoids in urine of very low birth weight infants at birth. *Plos one*, 14(7).

INEGI- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera (EMIM). Serie 2013. Recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/programas/emim/2013/default.html#Tabulados> (4/Feb/2020)

Jacobsen-Pereira, C. H., dos Santos, C. R., Maraslis, F. T., Pimentel, L., Feijó, A. J. L., Silva, C. I., ... & Maluf, S. W. (2018). Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. *Ecotoxicology and environmental safety*, 148, 177-183.

Jameel, M., Jamal, K., Alam, M. F., Ameen, F., Younus, H., & Siddique, H. R. (2020). Interaction of thiamethoxam with DNA: Hazardous effect on biochemical and biological parameters of the exposed organism. *Chemosphere*, 126875.

Jayashree, I., Vijayalaxmi, K., & Rahiman, M. (1994). The genotoxicity of Hinosan, an organophosphorus pesticide in the in vivo mouse. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 322(2), 77-85.

Jenkins, V., Timmons, A., & McCall, K. (2013). Diversity of cell death pathways: insight from the fly ovary. *Trends in cell biology*, 23(11), 567–574.

Jha, A. (2008). Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. *Mutagenesis*, 23(3), 207–221

Jiménez, D. R., & Cure, J. R. (2016). Efecto letal agudo de los insecticidas en formulación comercial Imidacloprid, Spinosad y Thiocyclam hidrogenoxalato en obreras *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae). *Revista de Biología Tropical*, 64(4), 1737-1745.

Jin, Y., Zheng, S., Pu, Y., Shu, L., Sun, L., Liu, W., & Fu, Z. (2011). Cypermethrin has the potential to induce hepatic oxidative stress, DNA damage and apoptosis in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 82(3), 398-404.

Joseph, L., Paulose, S. V., Cyril, N., Santhosh, S. K., Varghese, A., Nelson, A. B., Kunjankutty, V., & Kasu, S. (2020). Organochlorine pesticides in the soils of Cardamom Hill Reserve (CHR), Kerala, India: Geo spatial distribution, ecological and human health risk assessment. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 2, 1-11.

Ju, H., van der Velde, M., Lin, E., Xiong, W., & Li, Y. (2013) The impacts of climate change on agricultural production systems in China. *Climate Change*, 120(1),313–324

Jáuregui, M., Padilla, S., Hinojosa-Garro, D., Valdespino, C., & von Osten, J. (2018). Evaluation of the use of dermal scutes and blood samples to determine organochlorine pesticides in *Crocodylus moreletii*: A non-destructive method for monitoring crocodiles and environmental health. *Ecological Indicators*, 88, 161-168.

Kafshgiri, S. K., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M. A., & Roodbari, N. H. (2016). Movento influences development of granulosa cells and ovarian follicles and FoxO1 and Vnn1 gene expression in BALB/c mice. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(11), 1209.

Kumaravel, T., & Jha, A.. (2006). Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605(1-2), 7-16.

Karlen, D. L., Mausbach, M. J., Doran, J. W., Cline, R. G., Harris, R. F., & Schuman, G. E. (1997). Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). *Soil Science Society of America Journal*, 61(1), 4-10.

Kasiotis, K. M., Anagnostopoulos, C., Anastasiadou, P., & Machera, K. (2014). Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: reported death incidents in honeybees. *Science of the Total Environment*, 485, 633-642.

Ke S., Sun T., Zhang, Z., Zhang, Y., Liang Y., Wang K., Yang Z. (2010). Spirodiclofen analogues as potential lipid biosynthesis inhibitors: a convenient synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship. *Bull. Korean chemistry Society*, 31, 2315-2321.

Khatun, S., Rajak, P., Dutta, M., & Roy, S. (2017). Sodium fluoride adversely affects ovarian development and reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 186, 51-61.

Kim, K., Kabir, E., & Jahan, S. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575, 525-535.

Kim, H., Koedrich, P., & Seo, Y. (2015). Ecotoxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of environmental chemical toxicity using aquatic invertebrate, *Daphnia* model organism. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 12261-12287.

Kissoum, N., & Soltani, N. (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(1), 452-456.

Kissoum, N., Bensafi-Gheraibia, H., Hamida, Z., & Soltani, N. (2020). Evaluation of the pesticide Oberon on a model organism *Drosophila melanogaster* via topical toxicity test on biochemical and reproductive parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 228, 108666.

Kniss, A. R. & Coburn, C. W. (2015). Quantitative evaluation of the environmental impact quotient (EIQ) for comparing herbicides. *PLoS One*. 10(6), 1-13.

Kodandaram, M., Kumar, Y., Rai, A., & Singh, B. (2016). An overview of insecticides and acaricides with new chemistries for the management of sucking pests in vegetable crops. *Vegetable Science*, 43(1), 1-12.

Kromann, P., Pradel, W., Cole, D., Taibe, A., & Forbes, G. (2011). Use of the environmental impact quotient to estimate health and environmental impacts of pesticide usage in Peruvian and Ecuadorian potato production. *Journal of Environmental Protection*, 2(5): 581-591

Kuivila, K., Hladik, M., Ingersoll, C., Kemble, N., Moran, P., Calhoun, D., Nowell, L., & Gilliom, R. (2012). Occurrence and potential sources of pyrethroid insecticides in stream sediments from seven U.S. metropolitan areas. *Environmental Science and Technology*, 46(8), 4297–4303.

Kumar, B., Kumar, S., Gaur, R., Goel, G., Mishra, M., Singh, S. K., ... & Sharma, C. (2011). Persistent organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in intensive agricultural soils from North India. *Soil and Water Research*, 6(4), 190-197.

Kutluyer, F., Kocabaş, M., Erişir, M., & Benzer, F. (2019). Effect of the organophosphate insecticide chlorpyrifos exposure on oxidative stress and quality of *Salmo coruhensis* spermatozoa. *Toxin Reviews*, 38(1), 71-76.

Ku-Centuri3n, M., Gonz1lez-Mar3n, B., Calderon-Ezquerro, M. C., Mart3nez-Valenzuela, M. C., Maldonado, E., & Calder3n-Segura, M. E. (2016). DNA damage assessment in zebrafish embryos exposed to Monceren® 250 SC fungicide using the alkaline comet assay. *Zebrafish*, 13(5), 442-448.

K3ock, M. (2014). Plaguicidas polares en el medio ambiente: an1lisis, presencia y evaluaci3n de riesgo. [Tesis de doctorado]. Universidad de Barcelona, Espa1a.

K3uhnhold, J., Klueken, A., De Maeyer, L., Van Waetermeulen, X., Br3uck, E., & Elbert, A. (2008). Movento®, an innovative solution for sucking insect pest control in agriculture: field performance in fruits and vegetables. *Bayer CropScience Journal*, 61(2), 279-306.

Lacasa1a, M., L3opez-Flores, I., Rodr3iguez-Barranco, M., Aguilar-Gardu1o, C., Blanco-Mu1oz, J., P3erez-M3endez, O., ... & Cebrian, M. (2010). Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. *Toxicology and applied pharmacology*, 249(1), 16-24.

Leal Soto, S. D., Valenzuela Quintanar, A. I., Guti3rrez Coronado, M. D. L., Berm3dez Almada, M. D. C., Garc3a Hern1ndez, J., Aldana Madrid, M. L., ... & Garc3a, L. (2014). Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agr3colas. *Terra latinoamericana*, 32(1), 1-11.

Le1o, M. B., Gon1alves, D. F., Miranda, G. M., da Paix1o, G. M., & Dalla Corte, C. L. (2019). Toxicological evaluation of the herbicide Palace® in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 82(22), 1172-1185.

Lee, K. (1985). Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use. Academic Press Inc.

Lee, K., Tanabe, S., & Koh, C. (2001). Distribution of organochlorine pesticides in sediments from Kyeonggi Bay and nearby areas, Korea. *Environmental Pollution*, 114(2), 207-213.

Lee, K. G., & Lee, S. K. (2012). Monitoring and risk assessment of pesticide residues in yuza fruits (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) and yuza tea samples produced in Korea. *Food chemistry*, 135(4), 2930–2933.

Lee, W. J., Blair, A., Hoppin, J. A., Lubin, J. H., Rusiecki, J. A., Sandler, D. P., ... & Alavanja, M. C. (2004). Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(23), 1781-1789.

Leeb, C., Br3uhl, C., & Theissinger, K. (2020). Potential pesticide exposure during the post-breeding migration of the common toad (*Bufo bufo*) in a vineyard dominated landscape. *Science of The Total Environment*, 706, 134430.

Lem3s, B., & Santos, F. (2015). Insecticidas de diferente modo de acci3n para el control del ps3lido del aguacate *Trioza aguacate Hollis & Martin* en Tanc3taro, Michoac1n. *Entomolog3a Mexicana*, 2, 739-743

Lewis, K., & Tzilivakis, J. (2017). Development of a data set of pesticide dissipation rates in/on various plant matrices for the Pesticide Properties Database (PPDB). *Data*, 2(3), 28.

Leyva-Cardoso, D., Ponce-V3lez, G., Botello, A., & D3az-Gonz1lez, G. (2003). Persistent organochlorine pesticides in coastal sediments from Petacalco Bay, Guerrero, Mexico. *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*, 71(6), 1244-1251.

Li, S., Liu, X., Dong, F., Xu, J., Xu, H., Hu, M., & Zheng, Y. (2016). Chemometric-assisted QuEChERS extraction method for the residual analysis of thiacloprid, spirotetramat and spirotetramat's four metabolites in pepper: Application of their dissipation patterns. *Food chemistry*, 192, 893-899.

Li, A., Banjabi, A., Takazawa, M., Kumosani, T., Yousef, J., & Kannan, K. (2020a). Serum concentrations of pesticides including organophosphates, pyrethroids and neonicotinoids in a population with osteoarthritis in Saudi Arabia. *Science of The Total Environment*, 139706.

Li, X., Liu, J., & Wang, X. (2020b). Exploring the multilevel hazards of thiamethoxam using *Drosophila melanogaster*. *Journal of hazardous materials*, 384, 121419.

Lin, T., You, Y., Zeng, Z. H., Chen, Y. X., Chi, H., Xia, J. M., ... & Wei, H. (2019). Effects of spirodiclofen on life history traits and population growth of a spider mite predator *Oligota flavicornis* (Coleoptera: Staphyllinidae) based on the age-stage two-sex life table theory. *Pest management science*, 75(3), 639-647.

Liu, J., Li, X., & Wang, X. (2019). Toxicological effects of ciprofloxacin exposure to *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 237, 124542.

Liu, X., Zhang, R., & Jin, Y. (2020). Differential responses of larval zebrafish to the fungicide propamocarb: Endpoints at development, locomotor behavior and oxidative stress. *Science of The Total Environment*, 139136.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). DNA damage and repair and their role in carcinogenesis. In *Molecular Cell Biology. 4th edition*. WH Freeman.

López, J., Manzano, M., Hurtado, M., Piña, P., Hernández, O., Guzón, O., & Hernández, F. (2016). Fitoplancton: pequeños centinelas del océano. *Ciencia*.

Losey, J. E., & Vaughan, M. (2006). The economic value of ecological services provided by insects. *Bioscience*, 56(4), 311-323.

Lovecka, P., Pacovska, I., Stursa, P., Vrchotova, B., Kochankova, L., & Demnerova, K. (2015). Organochlorinated pesticide degrading microorganisms isolated from contaminated soil. *New biotechnology*, 32(1), 26-31.

Luaces, J. P., Rossi, L. F., Chirino, M. G., Browne, M., Merani, M. S., & Mudry, M. D. (2017). Genotoxic effects of Roundup Full II® on lymphocytes of *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia): in vitro studies. *PloS one*, 12(8).

Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI journal*, 17, 1101.

Lümmen, P., Khajehali, J., Luther, K., & Van Leeuwen, T. (2014). The cyclic keto-enol insecticide spirotetramat inhibits insect and spider mite acetyl-CoA carboxylases by interfering with the carboxyltransferase partial reaction. *Insect biochemistry and molecular biology*, 55, 1-8.

Ma, J., Cheng, C., Du, Z., Li, B., Wang, J., Wang, J., ... & Zhu, L. (2019). Toxicological effects of pyraclostrobin on the antioxidant defense system and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*). *Ecological Indicators*, 101, 111-116.

MacDonald R., MacKay, D., & Hickie, B. (2002). Contaminant amplification in the environment. *Environmental Science and Technology*, 36(23), 456-462.

Mahai, G., Wan, Y., Xia, W., Yang, S., He, Z., & Xu, S. (2019). Neonicotinoid insecticides in surface water from the central Yangtze River, China. *Chemosphere*, 229, 452-460.

Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of pesticides on environment. In *Plant, soil and microbes*, 253-269.

Mahowald, A., & Kambysellis, M. (1980). The genetics and biology of *Drosophila*. E. d m. Ashburner Academic Press.

Mahowald, A., Goralski, T., & Caulton, J. (1983). In vitro activation of *Drosophila* eggs. *Developmental biology*, 98(2), 437-445.

Malaj, E., von der Ohe, P., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C., Usseglio-Polatera, P., Brack, W., Schäfer, R. (2014). Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111, 9549–9554.

Mandi, M., Khatun, S., Rajak, P., Mazumdar, A., & Roy, S. (2020). Potential risk of organophosphate exposure in male reproductive system of a non-target insect model *Drosophila melanogaster*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 74, 103308.

Marín, E., de Prager, M., Monroy, A., & Parada, M. (2015). Poblaciones de ácaros, colémbolos y otra mesofauna en un Inceptisol bajo diferentes manejos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 68(1), 7411-7422.

Marcus, S., & Fiumera, A. (2016). Atrazine exposure affects longevity, development time and body size in *Drosophila melanogaster*. *Journal of insect physiology*, 91, 18-25.

Marnett, L. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 83-95.

Marotte, C., & Zeni, S. N. (2013). Especies reactivas de oxígeno y su efecto sobre la actividad de las células óseas. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamérica*, 47(4), 661-674.

Martínez-Valenzuela, C., & Gómez-Arroyo, S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(4), 185-200.

Martínez-Valenzuela, C., Gómez-Arroyo, S., & Villalobos-Pietrini, R. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environmental International*, 35, 1155-1159.

Marčić, D., Perić, P., Petronijević, S., Prijović, M., & Drobnjaković, T. (2011). Cyclic ketoenols: acaricides and insecticides with a novel mode of action. *Pesticidi i fitomedicina*, 26(3), 185-195.

Mate, C. J., Mukherjee, I., & Das, S. K. (2014). Mobility of spiromesifen in packed soil columns under laboratory conditions. *Environmental monitoring and assessment*, 186(11), 7195-7202.

Maus, C. (2008). Ecotoxicological profile of the insecticide spirotetramat. *Bayer CropScience Journal*, 61(2), 159-180.

Mazzalupo, S., & Cooley, L. (2006). Illuminating the role of caspases during *Drosophila* oogenesis. *Cell Death & Differentiation*, 13(11), 1950-1959.

Mehrpour, O., Karrari, P., Zamani, N., Tsatsakis, A. M., & Abdollahi, M. (2014). Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review. *Toxicology letters*, 230(2), 146-156.

Meligy, A., Al-Taher, A., Ismail, M., Al-Naeem, A., El-Bahr, S., & El-Ghareeb, W. (2019). Pesticides and toxic metals residues in muscle and liver tissues of sheep, cattle and dromedary camel in Saudi Arabia. *Slovenian Veterinary Research*, 56(22-Suppl).

Mesnage, R., & Antoniou, M. N. (2018). Ignoring adjuvant toxicity falsifies the safety profile of commercial pesticides. *Frontiers in public health*, 5, 361.

Miller, B., Pötter-Locher, F., Seelbach, A., Stopper, H., Utesch, D., & Madle, S. (1998). Evaluation of the in vitro micronucleus test as an alternative to the in vitro chromosomal aberration assay: position of the GUM working group on the in vitro micronucleus test. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 410, 81-116.

Minina, V., Sinitsky, M., Druzhinin, V., Fucic, A., Bakanova, M., Ryzhkova, A., ... & Volobaev, V. (2018). Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of lung cancer patients exposed to radon and air pollution. *European Journal of Cancer Prevention*, 27(1), 6-12.

Misra, S., Kumar, A., Ratnasekhar, C., Sharma, V., Mudiam, M. K. R., & Ram, K. R. (2014). Exposure to endosulfan influences sperm competition in *Drosophila melanogaster*. *Scientific reports*, 4, 7433.

Mojica-Vázquez, L., Madrigal-Zarraga, D., García-Martínez, R., Boube, M., Calderón-Segura, M. E., & Oyallon, J. (2019). Mercury chloride exposure induces DNA damage, reduces fertility, and alters somatic and germline cells in *Drosophila melanogaster* ovaries. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(31), 32322-32332.

Mohapatra, S., Deepa, M., Lekha, S., Nethravathi, B., Radhika, B., & Gourishanker, S. (2012). Residue dynamics of spirotetramat and imidacloprid in/on mango and soil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 89(4), 862–867. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0762-0>

Moneef, M., Sherwood, B., Bowman, K., Kockelbergh, R., Symonds, R., Steward, W., ... & Jones, G. (2003). Measurements using the alkaline comet assay predict bladder cancer cell radiosensitivity. *British journal of cancer*, 89(12), 2271-2276.

Montiel-León, J. M., Duy, S. V., Munoz, G., Verner, M. A., Hendawi, M. Y., Moya, H., ... & Sauvé, S. (2019). Occurrence of pesticides in fruits and vegetables from organic and conventional agriculture by QuEChERS extraction liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Control*, 104, 74-82.

Montory, M., Ferrer, J., Rivera, D., Villouta, M., & Grimalt, J. (2017). First report on organochlorine pesticides in water in a highly productive agroindustrial basin of the Central Valley, Chile. *Chemosphere*, 174, 148-156.

Moreno-González, D., Cutillas, V., Hernando, M. D., Alcántara-Durán, J., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. (2020). Quantitative determination of pesticide residues in specific parts of bee specimens by nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Science of The Total Environment*, 715, 137005.

Morita, Y., Perez, G., Paris, F., Miranda, S., Ehleiter, D., Haimovitz-Friedman, A., ... & Kolesnick, R. (2000). Oocyte apoptosis is suppressed by disruption of the acid sphingomyelinase gene or by sphingosine-1-phosphate therapy. *Nature Medicine*, 6(10), 1109–1114.

Mundhe, A. Y., Bhilwade, H., & Pandit, S. V. (2016). Genotoxicity and oxidative stress as biomarkers in fresh water mussel, *Lamellidens marginalis* (Lam.) exposed to monocrotophos. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54, 822-828.

Muturi, E., Donthu, R., Fields, C., Moise, I., & Kim, C. (2017). Effect of pesticides on microbial communities in container aquatic habitats. *Scientific reports*, 7, 44565.

Møller, P. (2006a). The alkaline comet assay: Towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98(4), 336–45.

Møller, P. (2006b). Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood cell DNA. *Mutation Research/reviews in mutation research*, 612(2), 84–104.

Møller, P., Loft, S., Ersson, C., Koppen, G., Dusinska, M., & Collins, A. (2014) On the search for an intelligible comet assay descriptor. *Frontiers in Genetics*, 5, 3–6.

Nascimento, M., da Rocha, G., & de Andrade, J. (2017). Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.

Nataraj, B., Hemalatha, D., Rangasamy, B., Maharajan, K., & Ramesh, M. (2017). Hepatic oxidative stress, genotoxicity and histopathological alteration in fresh water fish *Labeo rohita* exposed to organophosphorus pesticide profenofos. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 185-190.

Nauen, R. (2005). Spirodiclofen: mode of action and resistance risk assessment in tetranychid pest mites. *Journal of Pesticide Science*, 30(3), 272-274.

Nauen, R., Reckmann, U., Thomzik, J., & Thielert, W. (2008). Biological profile of spirotetramat (Movento®)—a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. *Bayer CropScience Journal*, 61(2), 245-278.

Nauen, R., Elbert, A., McCaffery, A., Slater, R., & Sparks, T. C. (2012). IRAC: insecticide resistance, and mode of action classification of insecticides. *Modern crop protection compounds*, 1(3), 935-955.

Nauen, R., Slater, R., Sparks, T. C., Elbert, A., & Mccaffery, A. (2019). IRAC: insecticide resistance and mode-of-action classification of insecticides. *Modern crop protection compounds*, 3, 995-1012.

Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., & Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3), 17-29.

Nazar, M. Z., Freed, S., Hussain, S., Sumra, M. W., Shah, M. S., & Naeem, A. (2020). Characteristics of biochemical resistance mechanism of novel insecticides in *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Crop Protection*, 138, 105320.

Neri, M., Milazzo, D., Ugolini, D., Milic, M., Campolongo, A., Pasqualetti, P., & Bonassi, S. (2015). Worldwide interest in the comet assay: a bibliometric study. *Mutagenesis*, 30(1), 155–163.

Niveditha, S., Ramesh, S. R., & Shivanandappa, T. (2017). Paraquat-induced movement disorder in relation to oxidative stress-mediated neurodegeneration in the brain of *Drosophila melanogaster*. *Neurochemical research*, 42(11), 3310-3320.

Noriega, J. A., Hortal, J., Azcárate, F. M., Berg, M. P., Bonada, N., Briones, M. J., ... & Moretti, M. (2018). Research trends in ecosystem services provided by insects. *Basic and Applied Ecology*, 26, 8-23.

Noyes, P., & Lema, S. (2015). Forecasting the impacts of chemical pollution and climate change interactions on the health of wildlife. *Current Zoology*, 61(4), 669-689.

NPIC- National Pesticide Information Center. “Ecotoxicology”. Recuperado de: <http://npic.orst.edu/factsheets/ecotox.html> (5/Feb/2020)

Odetti, L., González, E., Romito, M., Simoniello, M., & Poletta, G. (2020). Genotoxicity and oxidative stress in *Caiman latirostris* hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110312.

Odum, E. (2014). La estrategia de desarrollo de los ecosistemas. *Boletín CF+ S*, (26), 145-159.

OECD -Organisation de coopération et de développement économiques. (2014). Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. OECD Publishing.

Ohura, T., Horii, Y., Kojima, M., & Kamiya, Y. (2013). Diurnal variability of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air. *Atmospheric Environment*, 81, 84-91.

Ojha, A., & Gupta, Y. K. (2017). Study of commonly used organophosphate pesticides that induced oxidative stress and apoptosis in peripheral blood lymphocytes of rats. *Human & experimental toxicology*, 36(11), 1158-1168.

Olisah, C., Okoh, O. O., & Okoh, A. I. (2019). Distribution of organochlorine pesticides in fresh fish carcasses from selected estuaries in Eastern Cape Province, South Africa, and the associated health risk assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 149, 110605.

Olive, P., Banáth, J., & Durand, R. (1990). Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay. *Radiation research*, 122(1), 86-94.

ONU- United Nations Organization, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2019). World Population Prospects 2019: Highlights.ST/ESA/SER.A/423.

Oropeza, M., Urciaga, J., & Ponce, G. (2015). Importancia económica y social de los servicios de los ecosistemas: Una revisión de la agenda de investigación (Economic and social importance of ecosystem services: A review of research agenda). *Revista Global de Negocios*, 3(2), 103-113.

Ortiz, J., Opoka, R., Kane, D., & Cartwright, I. (2009). Investigating arsenic susceptibility from a genetic perspective in *Drosophila* reveals a key role for glutathione synthetase. *Toxicological Sciences*, 107(2), 416-426.

Othmène, Y., Hamdi, H., Salem, I., Annabi, E., Amara, I., Neffati, F., ... & Abid-Essefi, S. (2020). Oxidative stress, DNA damage and apoptosis induced by tebuconazole in kidney of male Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions*, 330, 109114.

O'Grady, P. M., Markow, T. A. (2009). Phylogenetic taxonomy in *Drosophila*: problems and prospects. *Fly*, 3(1), 10-14

Orr-Weaver, T. L. (1991). *Drosophila* chorion genes: cracking the eggshell's secrets. *Bioessays*, 13(3), 97-105.

Padhi, S., & Pati, B. (2016). Severity of persistence and toxicity of hexachlorocyclohexane (HCH) to the environment-A current approach. *Scholarly Res. J. Interdiscip. Stud*, 4, 3158-3168.

Palacio, J. A. (2007). Ecotoxicología acuática. Medellín: Ed. Universidad de Antioquia. 437p.

Pan, Y., Wen, S., Chen, X., Gao, X., Zeng, X., Liu, X., ... & Shang, Q. (2020). UDP-glycosyltransferases contribute to spirotetramat resistance in *Aphis gossypii* Glover. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104565.

Panacek, A., Pucek, R., Safarova, D., Dittrich, M., Richtrova, J., Benickova, K., ... & Kvitek, L. (2011). Acute and chronic toxicity effects of silver nanoparticles (NPs) on *Drosophila melanogaster*. *Environmental science & technology*, 45(11), 4974-4979.

Pandey, U., & Nichols, C. (2011). Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2), 411-436.

Panagopoulos, D. (2012). Effect of microwave exposure on the ovarian development of *Drosophila melanogaster*. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 63(2), 121-132.

- Panagopoulos, D., Chavdoula, E., Karabarbounis, A., & Margaritis, L. (2007). Comparison of bioactivity between GSM 900 MHz and DCS 1800 MHz mobile telephony radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 26(1), 33–44.
- Panagopoulos, D., Karabarbounis, A., & Margaritis, L. (2004). Effect of GSM 900-MHz Mobile Phone Radiation on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23(1), 29–43. 14.
- Pedraza, J., & Cárdenas, N. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes. Aspectos básicos. *Educacion química*, 17(2), 164-173.
- Peng, T., Pan, Y., Yang, C., Gao, X., Xi, J., Wu, Y., ... & Shang, Q. (2016). Over-expression of CYP6A2 is associated with spirotetramat resistance and cross-resistance in the resistant strain of *Aphis gossypii* Glover. *Pesticide biochemistry and physiology*, 126, 64-69.
- Perera, F., & Weinstein, I. (2000). Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis*, 21(3), 517-524.
- Peters, N., Thayer, N., Kerr, S., Tompa, M., & Berg, C. A. (2013). Following the 'tracks': Tramtrack69 regulates epithelial tube expansion in the *Drosophila* ovary through Paxillin, Dynamin, and the homeobox protein Mirror. *Developmental biology*, 378(2), 154-169.
- Peterson, E., & Long, H. (2018). Experimental protocol for using *Drosophila* as an invertebrate model system for toxicity testing in the laboratory. *Journal of Visualized Experiments*, (137).
- Peterson, E., Stark, A., Varian-Ramos, C., Hollocher, K., & Possidente, B. (2020). Exposure to Lead (Pb 2+) Eliminates Avoidance of Pb-Treated Oviposition Substrates in a Dose-Dependent Manner in Female Vinegar Flies. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-7.
- Pimentel, D., & Levitan, L. (1986). Pesticides: amounts applied and amounts reaching pests. *Bioscience*, 36, 86–91.
- Podder, S., & Roy, S. (2015). Study of the changes in life cycle parameters of *Drosophila melanogaster* exposed to fluorinated insecticide, cryolite. *Toxicology and industrial health*, 31(12), 1341-1347.
- Ponce-Vélez, G., & Botello, A. V. (2018). Plaguicidas organoclorados en organismos costeros y marinos de los litorales mexicanos: Una Revisión. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34, 81-98.
- Ponce-Vélez, G., & de la Lanza-Espino, G. (2019). Organophosphate Pesticides in Coastal Lagoon of the Gulf of Mexico. *Journal of Environmental Protection*, 10(2), 103-117.
- Popp, J., Pető, K., & Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for sustainable development*, 33(1), 243-255.
- Presley, S., Rainwater, T., Austin, G., Platt, S., Zak, J., & Cobb G. (2006). Assessment of pathogens and toxicants in New Orleans, LA following Hurricane Katrina. *Environmental Science and Technology*, 40(2), 468–74.
- Qu, C., Albanese, S., Li, J., Cicchella, D., Zuzolo, D., Hope, D., ... & De Vivo, B. (2019). Organochlorine pesticides in the soils from Benevento provincial territory, southern Italy: Spatial distribution, air-soil exchange, and implications for environmental health. *Science of The Total Environment*, 674, 159-170.

Rajmohan, K., Chandrasekaran, R., & Varjani, S. (2020). A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. *Indian Journal of Microbiology*, 1-14.

Ramírez, J., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.

Rand, M. D., Montgomery, S. L., Prince, L., & Vorojeikina, D. (2014). Developmental toxicity assays using the *Drosophila* model. *Current protocols in toxicology*, 59(1), 1-12.

Rauch, N., & Nauen, R. (2002). Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74(2), 91-101.

Recio, R., Ocampo-Gómez, G., Morán-Martínez, J., Borja-Aburto, V., López-Cervantes, M., Uribe, M., ... & Cebrián, M. E. (2005). Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. *Environmental health perspectives*, 113(9), 1160-1163.

Reilly, J., Tubiello, F., McCarl, B., Abler, D., Darwin, R., & Fuglie K. (2003). US agriculture and climate change: new results. *Climatic Change*, 57(1-2), 43-69.

Reilly, J., Tubiello, F., McCarl, B., & Melillo J. (2001) Chapter 13: Climate change and agriculture in the United States. Climate change impacts on the United States: the potential consequences of climate variability and change, Report for the US Global Change Research Program. Cambridge, UK: Cambridge University Press. Available at: <http://www.usgcrp.gov/usgcrp/Library/nationalassessment/>

Rera, M., Clark, R. I., & Walker, D. W. (2012). Intestinal barrier dysfunction links metabolic and inflammatory markers of aging to death in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(52), 21528-21533.

Reza, M. (2017). GRUPO DE ECOTOXICOLOGÍA. Identificación y evaluación del riesgo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 29-31.

Ritchie, E., & Johnson, C. (2009). Predator interactions, mesopredator release and biodiversity conservation. *Ecology letters*, 12(9), 982-998.

Robledo Prada, W. (2015). Fenómenos tautoméricos en sistemas heterocíclicos aromáticos. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional de Colombia.

Rodríguez, M., Ruiz, A., Piedra, L., Gutierrez, G., Rey, J., Cruz, M., & Bisset, J. A. (2020). Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Boyeros municipality, Cuba and associated mechanisms. *Acta Tropica*, 212, 105680.

Rodríguez, M. (2019). Efecto transgeneracional del Etil carbamato en *Drosophila melanogaster*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Rodríguez, L., & Terán, P. (2015). *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae): a new sorghum insect pest in Mexico. *Southwest Entomologist*, 40(2), 433-434.

Rodríguez-Arnaiz, R. (2003). *Drosophila* como organismo modelo en la Biología Experimental. Biología celular y molecular L. F. Jiménez y H. Merchant (Eds.) Editorial Pearson Education (Addison Wesley-Prentice Hall) pp 761-791. ISBN 970-26-0387-0.

Rodríguez-Rey, A., Noris-García, E., & Fundora Torres, M. T. (2016). Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(2), 184-194.

Rojas, E., Lopez, M. C., & Valverde, M. (1999). Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 722(1-2), 225-254.

Romano, D. (2018). Ríos plagados de pesticidas. *El Ecologista*, (96), 57-59.

Rosales, J. (2015). Uso de marcadores genotoxicológicos para la evaluación de agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados. *Anales de la Facultad de Medicina*, 76(3), 247-252.

Rosenberger, A., Rössler, U., Hornhardt, S., Sauter, W., Bickeböller, H., Wichmann, H. E., & Gomolka, M. (2011). Validation of a fully automated COMET assay: 1.75 million single cells measured over a 5 year period. *DNA repair*, 10(3), 322-337.

Roote, J., & Prokop, A. (2013). How to design a genetic mating scheme: a basic training package for Drosophila genetics. *G3: Genes/ Genomes/ Genetics*, 3(2), 353-358.

Ruiz, Y., Aguila, E., Fernandez, O., Moeskops, B., Buchan, D., D'Haese, L., ... & De Neve, S. (2013). Soil quality under different farming systems in Santa Clara, Cuba. *Communications in soil science and plant analysis*, 44(1-4), 195-204.

Rundle, A., Tang, D., Hibshoosh, H., Schnabel, F., Kelly, A., Levine, R., ... & Perera, F. (2002). Molecular epidemiologic studies of polycyclic aromatic hydrocarbon–DNA adducts and breast cancer. *Environmental and molecular mutagenesis*, 39(2-3), 201-207.

SADER & SENASICA. (2019). Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL PARA EL BUEN USO Y MANEJO DE PLAGUICIDAS EN CAMPO.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf) (20/Febrero/2020)

SAGARPA- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesque y Alimentación. (2014). Plan de Manejo Fitosanitario Regional de Mosquita Blanca en la Región de San Luis Río Colorado, Sonora.

Sabarwal, A., Kumar, K., & Singh, R.P. (2018). Hazardous effects of chemical pesticides on human health–Cancer and other associated disorders. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 63,103–114.

Saber, M., Ahmadi, Z., & Mahdavinia, G. (2018). Sublethal effects of spirotetramat, abamectin and pyridaben on life-history traits and life-table parameters of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 75(1), 55-67.

Sánchez, O. (2008). Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo de arroz en el Parque Natural de la Albufera de Valencia. Tesis para optar al grado de doctor. Valencia: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Obtenido de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2342/tesisUPV2815.pdf>

San-Miguel, A., & Martin-Gil, F. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106-113.

Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168.

Salazar-López, N., Aldana-Madrid, M., Silveira-Gramont, M., & Aguiar, J. L. (2016). Spirotetramat- An Alternative for the Control of Parasitic Sucking Insects and its Fate in the Environment. *Insecticides Resistance*, 41.

Salvagni, J., Ternus, R., Fuentefria, A. (2010). Assessment of the genotoxic impact of pesticides on farming communities in the countryside of Santa Catarina State, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 34(1), 122–126.

Santalla, M., Portiansky, E., & Ferrero, P. (2016). *Drosophila melanogaster*, an emerging animal model for the study of human cardiac diseases. *Revista Argentina de Cardiología*, 84(5), 424-430.

Sapbamrer, R., Hongsibsong, S., Sittitoo, N., & Amput, P. (2019). DNA damage and adverse neurological outcomes among garlic farmers exposed to organophosphate pesticides. *Environmental toxicology and pharmacology*, 72, 103241.

Schettler, T., Solomon, G., Kaplan, J., & Valenti, M. (2003). Generations at risk: how environmental toxicants may affect reproductive health in California. *Brisbane, CA: George Lithograph*.

Schlenk, D., Yeung, C., & Rettie, A. (2008) Unique monooxygenation pattern indicates novel flavin containing monooxygenase in liver of rainbow trout. *Marine Environmental Research*, 58, 499–503.

Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research*. 31(1):9-15.

Segner, H., & Baumann, L. (2016). What constitutes a model organism in ecotoxicology. *Integrated environmental assessment and management*, 12(1), 199-200.

Seinfeld, J., & Pandis, S. (2006). Atmospheric Chemistry and Physics From “Air Pollution to Climate Change”, second ed. Wiley-Interscience Publication

Seino, T., Saito, H., Kaneko, T., Takahashi, T., Kawachiya, S., & Kurachi, H. (2002). Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertility and sterility*, 77(6), 1184-1190.

Shah, A. J., Lakkad, B. C., & Rao, M. V. (2016). Genotoxicity in lead treated human lymphocytes evaluated by micronucleus and comet assays.

Shakir, S., Kanwal, M., Murad, W., ur Rehman, Z., ur Rehman, S., Daud, M. K., & Azizullah, A. (2016). Effect of some commonly used pesticides on seed germination, biomass production and photosynthetic pigments in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology*, 25(2), 329-341.

Shakir, S. K., Irfan, S., Akhtar, B., ur Rehman, S., Daud, M. K., Taimur, N., & Azizullah, A. (2018). Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *Ecotoxicology*, 27(7), 919-935.

Sharma, R. K., & Agarwal, A. (2004). Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. *Reproductive medicine and Biology*, 3(4), 177-199.

Sharma, A., Mishra, M., Shukla, A. K., Kumar, R., Abdin, M. Z., & Chowdhuri, D. K. (2012). Organochlorine pesticide, endosulfan induced cellular and organismal response in *Drosophila melanogaster*. *Journal of hazardous materials*, 221, 275-287.

Shim, H. J., Lee, E. M., Nguyen, L. D., Shim, J., & Song, Y. H. (2014). High-dose irradiation induces cell cycle arrest, apoptosis, and developmental defects during *Drosophila* oogenesis. *PLoS one*, 9(2).

Silver, D., Geisbrecht, E., & Montell, D. (2005). Requirement for JAK/STAT signaling throughout border cell migration in *Drosophila*. *Development*, 132(15), 3483-3492.

Simões, R., Feitosa, W. B., Siqueira, A. F., Nichi, M., Paula-Lopes, F. F., Marques, M. G., ... & Assumpção, M. E. (2013). Influence of bovine sperm DNA fragmentation and oxidative stress on early embryo in vitro development outcome. *Reproduction (Cambridge, England)*, *146*(5), 433-441.

Singh, N., McCoy, M., Tice, R., & Schneider, E. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, *175*(1), 184-191.

Singh, K., Mohan, D., Sinha, S., & Dalwani, S. (2004). Impact assessment of treated/untreated wastewaters toxicants discharged by sewage treatment plants on health, agricultural and environmental quality in the wastewater disposal area. *Chemosphere*, *55*, 227–255.

Singh P, Chaudhary S, Patni A, Sankhla V. (2007) Effect of cadmium chloride induced genotoxicity in bone marrow chromosomes of swiss albino mice and subsequent protective effects of *Emblca officinalis* and vitamin C. *Herbal Medicine and Toxicology*, *1*(2), 67-71.

Siddamallaiiah, L., & Mohapatra, S. (2016). Residue level and dissipation pattern of spiromesifen in cabbage and soil from 2-year field study. *Environmental monitoring and assessment*, *188*(3), 155.

Siddamallaiiah, L., Mohapatra, S., Buddidathi, R., & Hebbar, S. S. (2017). Dissipation of spiromesifen and spiromesifen-enol on tomato fruit, tomato leaf, and soil under field and controlled environmental conditions. *Environmental science and pollution research international*, *24*(30), 23559–23570.

Sierra-Cortés, J., Vega, S., Gutiérrez-Tolentino, R., Ortis-Salinas, R., Pérez-González, J., & Escobar-Medina, A. (2019). Plaguicidas organoclorados en agua de la laguna de Puerto Marqués, Acapulco, Guerrero, Méxic. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *35*(2), 397-406.

Silveira-Gramont, M., Aldana-Madrid, M., Piri-Santana, J., Valenzuela-Quintanar, A., Jasa-Silveira, G., & Rodríguez-Olibarria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de Sonora, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, *34*(1), 7-21.

Sinfort, C., Cotteux, E., Bonicelli, B., Ruelle, B., Douchin, M., Berenger, M., ... & De Rudnicki, V. (2009). Influence des conditions et matériels de pulvérisation sur les pertes de pesticides au sol et dans l'air en viticulture Languedocienne.

Slimen, S., & El Faza Saloua, G. (2014). Oxidative stress and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, malathion in reproductive toxicology of male adolescent mice after acute exposure. *Iranian journal of basic medical sciences*, *17*(7), 522.

Smith, P., Cotrufo, M. F., Rumpel, C., Paustian, K., Kuikman, P. J., Elliott, J. A., ... & House, J. I. (2015). Biogeochemical cycles and biodiversity as key drivers of ecosystem services provided by soils. *Soil Discussions*, *2*(1), 537-586.

Soare, L., Păunescu, A., & Maria, P. (2019). The Morphophysiological, Histological, and Biochemical Response of Some Nontarget Organisms to the Stress Induced by the Pesticides in the Environment. In *Pesticides-Use and Misuse and Their Impact in the Environment*. IntechOpen.

Socorro, J., Durand, A., Temime-Roussel, B., Gligorovski, S., Wortham, H., & Quivet, E. (2016). The persistence of pesticides in atmospheric particulate phase: An emerging air quality issue. *Scientific reports*, *6*, 33456.

Sokal, R., Ehrlich, P., Hunter, P., & Schlager, G. (1960). Some factors affecting pupation site of *Drosophila*. *Annals of the Entomological Society of America*, *53*(2), 174-182.

Solomon, K. (2010). Ecotoxicological risk assessment of pesticides in the environment. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 1191-1217.

Soloneski, S., González, M., Piaggio, E., Reigosa, M. A., & Larramendy, M. L. (2002). Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro: III. Genotoxic evaluation on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 514(1-2), 201-212.

Sommer, S., Buraczewska, I., & Kruszewski, M. (2020). Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1534.

Song, Y., Zhu, L. S., Wang, J., Wang, J. H., Liu, W., & Xie, H. (2009). DNA damage and effects on antioxidative enzymes in earthworm (*Eisenia fetida*) induced by atrazine. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(5), 905-909.

Song, N. E., Lee, J. Y., Mansur, A. R., Jang, H. W., Lim, M. C., Lee, Y., ... & Nam, T. G. (2019). Determination of 60 pesticides in hen eggs using the QuEChERS procedure followed by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food chemistry*, 298, 125050.

Sparks, T., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 122-128.

Speit, G., & Hartmann, A. (2006). The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. *Methods Mol. Biol.* 314, 275-286.

Spradling, A. (1993). Developmental genetics of oogenesis. *Bate, Martinez Arias*, 1--70.

Spradling, A., De Cuevas, M., Drummond-Barbosa, D., Keyes, L., Lilly, M., Pepling, M., & Xie, T. (1997). The *Drosophila* germarium: stem cells, germ line cysts, and oocytes. *In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 62, 25-34.

Stone, W., Gilliom, R., & Ryberg, K. (2014). Pesticides in U.S. streams and rivers: occurrence and trends during 1992–2011. *Environmental Science and Technology*, 48(19), 11025–11030.

Storck, V., Karpouzas, D. G., and Martin-Laurent, F. (2017). Towards a better pesticide policy for the European Union. *Science of the Total Environment*, 575, 1027-1033.

Stringer, J. M., Winship, A., Zerafa, N., Wakefield, M., & Hutt, K. (2020). Oocytes can efficiently repair DNA double-strand breaks to restore genetic integrity and protect offspring health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(21), 11513-11522.

Suárez-Larios, K. (2008). Efectos de los polimorfismos de CYP1A1 y CYP2E1 en la frecuencia de micronúcleos en una población mestiza de Tlaxcala. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Suárez-Larios, K. (2019). Estudio sobre la capacidad de plaguicidas para inducir rompimientos de doble hélice y reparación por recombinación en células humanas. [Tesis de Doctorado]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Sun, H., Liu, C., Wang, S., Liu, Y., & Liu, M. (2013). Dissipation, residues, and risk assessment of spirodiclofen in citrus. *Environmental monitoring and assessment*, 185(12), 10473-10477.

Sun, G., Du, Y., Yin, J., Jiang, Y., Zhang, D., Jiang, B., ... & Hu, J. (2019a). Response of microbial communities to different organochlorine pesticides (OCPs) contamination levels in contaminated soils. *Chemosphere*, 215, 461-469.

Sun, Y., Liang, J., Tang, L., Li, H., Zhu, Y., Jiang, D., Song, B., Cheng, M., & Zeng, G. (2019b). Nano-pesticides: A great challenge for biodiversity?. *Nano Today*, 28, 100757.

Sur, R. (2008). Metabolism of spirotetramat (Movento®) in plants. *Bayer CropScience Journal*, 61, 227-244.

Sverdrup, L. E., Bjørge, C., Eklo, O. M., Källqvist, T., Klingen, I., Låg, M., ... & Grung, M. (2011). Risk assessment of the pesticide Envidor with the active substance spiroadiclofen. Opinion of the Panel on plant protection products Norwegian Scientific Committee for Food Safety. *VKM Report*.

Sverdrup, L., Bjørge, C., Eklo, O. M., Grung, M., Källqvist, T., & Klingen, I. (2012). Risk assessment of the insecticide Movento 100 SC with the active substance spirotetramat. *Bayer CropScience*, 13, 1-25.

Swarzenski, P. W., Orem, W. H., McPherson, B. F., Baskaran, M., & Wan, Y. (2006). Biogeochemical transport in the Loxahatchee River estuary, Florida: The role of submarine groundwater discharge. *Marine Chemistry*, 101(3-4), 248-265.

Swevers, L., Raikhel, A. S., Sappington, T. W., Shirk, P., & Latrou, K. (2005). Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle.

Sobels, F. & Vogel, E. (1976). The capacity of *Drosophila* for detecting relevant genetic damage. *Mutation Research*, 41,95-106.

Tarazona, J. (2007). Manual de Evaluación y Gestión del Riesgo asociado a los COP. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia. Colombia. Obtenido de: http://siscop.inecc.gob.mx/descargas/pnis/colombia_evaluacion_y_gestion_del_riesgo.pdf

Teleman, A., & Perrimon, N. (2017). Open questions: completing the parts list and finding the integrating signals. *BMC biology*, 15(1), 47.

Terradas, M., Martín, M., & Genescà, A. (2016). Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Archives of toxicology*, 90(11), 2657-2667.

Tian, X., Hong, X., Yan, S., Li, X., Wu, H., Lin, A., & Yang, W. (2020). Neonicotinoids caused oxidative stress and DNA damage in juvenile Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110566.

Tice, R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J., & Sasaki, Y. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35(3), 206-221.

Tilman, D., Cassman, K., Matson, P., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671-677.

Timbrell, J. (1998). Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, 129(1), 1-12.

Tiwari, A., Pragma, P., Ram, K., & Chowdhuri, D. (2011). Environmental chemical mediated male reproductive toxicity: *Drosophila melanogaster* as an alternate animal model. *Theriogenology*, 76(2), 197-216.

Tiwari, R. K., Singh, S., & Pandey, R. S. (2019). Assessment of acute toxicity and biochemical responses to chlorpyrifos, cypermethrin and their combination exposed earthworm, *Eudrilus eugeniae*. *Toxicology reports*, 6, 288-297.

Tootle, T., & Spradling, A.C. (2008). *Drosophila* Pxt: a cyclooxygenase-like facilitator of follicle maturation. *Development* 135(5): 839--847.

Topal, A., Alak, G., Ozkaraca, M., Yeltekin, A. C., Comaklı, S., Acil, G., ... & Atamanalp, M. (2017). Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 175, 186-191.

Toro-Restrepo, B. (2011). Uso de los biomarcadores en la evaluación de la contaminación. *Revista Luna Azul*, (32), 121-127.

Torres, P. (2016). Diferencia de daños por herbívoros entre hojas jóvenes de color rojo y verde, ¿podría tratarse de mimetismo vegetal?. *Maskana*, 7(1), 90-95.

Transparency. (2019). Spirotetramat market to flourish with 4.4% CAGR due to awareness about its exceptional properties [WWW Document]. Transparency Market Research. <https://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/spirotetramat-market.htm/> (20/Dic/2020).

Tsygankov, V. Y., Boyarova, M. D., & Lukyanova, O. N. (2015). Bioaccumulation of persistent organochlorine pesticides (OCPs) by gray whale and Pacific walrus from the western part of the Bering Sea. *Marine pollution bulletin*, 99(1-2), 235-239.

Tucker, J., & Preston, R. (1996). Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 365(1-3), 147-159.

Tyler, M. (2000). *Developmental biology: a guide for experimental study*. Chapter 8: Development of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Sunderland, Massachusetts

Ugur, B., Chen, K., & Bellen, H. (2016). *Drosophila tools and assays for the study of human diseases*. *Diseases Models & Mechanisms*, 9(3), 235-244.

Urióstegui-Acosta, M., Tello-Mora, P., de Jesús Solís-Heredia, M., Ortega-Olvera, J. M., Piña-Guzmán, B., Tapia, D. M., ... & Quintanilla-Vega, B. (2020). Methyl parathion causes genetic damage in sperm and disrupts the permeability of the blood-testis barrier by an oxidant mechanism in mice. *Toxicology*, 152463.

Usher, M., Sier, A., Hornung, M., & Millard, P. (2006). Understanding biological diversity in soil: the UK's Soil Biodiversity Research Programme. *Applied Soil Ecology*, 33(2), 101-113.

Uçar, A., Parlak, V., Özgeriş, F. B., Yeltekin, A. Ç., Alak, G., & Atamanalp, M. (2020). Determination of Fipronil toxicity by different biomarkers in gill and liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 1-7.

Velentzas, A., Anagnostopoulos, A, Velentzas, P, Mpakou, V., & Sagioglou, N. (2015). Global proteomic profiling of *Drosophila* ovary: a high-resolution, unbiased, accurate and multifaceted analysis. *Cancer Genomics Proteomics*, 12, 369-384

Valderrama, J., Baena, J., & Pérez, F. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y ambiente*, 15(3), 27-37.

Vermeer, R., & Baur, P. (2008). Movento® product development: custom-made formulations for an exceptional active ingredient. *Bayer CropScience Journal*, 61(2), 141-157.

Vimal, D., Saini, S., Kristipati, R. R., & Chowdhuri, D. K. (2019). Atrazine or bisphenol A mediated negative modulation of mismatch repair gene, *mlh1* leads to defective oogenesis and reduced female fertility in *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 225, 247-258.

Volz, S. N., Hausen, J., Smith, K., Ottermanns, R., Schaeffer, A., Schiwy, S., & Hollert, H. (2020). Do you smell the danger? Effects of three commonly used pesticides on the olfactory-mediated antipredator response of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, *241*, 124963.

Voutsas, E., Vavva, C., Magoulas, K., Tassios, D. (2005). Estimation of the volatilization of organic compounds from soil surfaces. *Chemosphere*, *58*, 751-758.

Vogel, E. (1987). Evaluation of potential mammalian genotoxins using *Drosophila*: the need for a change in test strategy. *Mutagenesis*, *2*(3), 161-171.

Van Cauteren, H., de Kok, M., & Van Schooten, F. (1996). Cancer risk evaluation In Toxicology: Principles and applications. *CRC, New York*, 384---413.

Wachendorff, U., Nauen, R., Schnorbach, H. J., Stumpf, N., & Elbert, A. (2002). The biological profile of spirotetramat (Envidor®)-a new selective tetracycline acaricide. *Pflanzenschutz nachrichten-bayer-english edition*, *55*, 149-176.

Wang, H., Sthiannopkao, S., Du, J., Chen, Z., Kim, K., Mohamed, M., Yasin, M., Hashim, J., Wong, C. & Wong M. (2011). Daily intake and human risk assessment of organochlorine pesticides (OCPs) based on Cambodian market basket data. *Journal of Hazardous Materials*, *192*(3), 1441-1449

Wang, Y., Xu, C., Wang, D., Weng, H., Yang, G., Guo, D., ... & Wang, Q. (2020). Combined toxic effects of fludioxonil and triadimefon on embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, *260*, 114105.

Wells, P., McCallum, G., Lam, K., Henderson, J., & Ondovcik, S. (2010). Oxidative DNA damage and repair in teratogenesis and neurodevelopmental deficits. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, *90*(2), 103-109.

WHO & IPCS- World Health Organization & International Programme on Chemical Safety. (2010) . The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. World Health Organization.

Wieschaus, E. & Szabad, J. (1979). The development and function of the female germ line in *Drosophila melanogaster*: a cell lineage study. *Developmental Biology*, *68*(1), 29-46.

Wolpert, L. (2009). Principios del desarrollo. 3a Ed. España: Médica Panamericana. Pp. 33-34, 48-52.

Worm, B., Barbier, E. B., Beaumont, N., Duffy, J. E., Folke, C., Halpern, B. S., ... & Sala, E. (2006). Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science*, *314*(5800), 787-790.

Wright, C., Milne, S., & Leeson, H. (2014). Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. *Reproductive biomedicine online*, *28*(6), 684-703.

Wu, J., & Jones, N. (2012). Assessment of DNA interstrand crosslinks using the modified alkaline comet assay. In Genetic Toxicology (pp. 165-181). Springer, New York, NY.

Wu, H., Rao, Q., Zheng, J., Mao, C., Sun, Y., Gu, D., ... & Liu, X. (2018). Biochemical and histological alterations in adult zebrafish (*Danio rerio*) ovary following exposure to the tetracycline insecticide spirotetramat. *Ecotoxicology and environmental safety*, *164*, 149-154.

Xiaofei, W., Dianzhong, W., Xiaofei, Q., & Xiaobai, X. U. (2008). Residues of organochlorine pesticides in surface soils from college school yards in Beijing, China. *Journal of Environmental Sciences*, *20*(9), 1090-1096.

Yadav, I., Devi, N., Syed, J., Cheng, Z., Li, J., Zhang, G., & Jones, K. (2015). Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: A comprehensive review of India. *Science of the Total Environment*, 511, 123-137.

Yadav, I., & Devi, N. (2017). Pesticides classification and its impact on human and environment. *Environmental Science and Engineering*, 6, 140-158.

Yang D., Qi S., Zhang J., Wu C. y Xing X. (2013). Organochlorine pesticides in soil, water and sediment along the Jinjiang river mainstream to Quanzhou bay, southeast China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 59-65.

Yang, G., Yuan, X., Jin, C., Wang, D., Wang, Y., Miao, W., & Jin, Y. (2020). Imidacloprid disturbed the gut barrier function and interfered with bile acids metabolism in mice. *Environmental Pollution*, 266, 115290.

Yates, S., Ashworth, D., Zheng, W., Zhang, Q., Knuteson, J., & Van Wessenbeeck, I. (2015). Emissions of 1, 3-dichloropropene and chloropicrin after soil fumigation under field conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(22), 5354-5363.

Ye, M., Beach, J., Martin, J., & Senthilselvan, A. (2017). Pesticide exposures and respiratory health in general populations. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 361-370.

Ye, J., Cui, X., Loraine, A., Bynum, K., Kim, N. C., White, G., ... & Ruden, D. M. (2007). Methods for nutrigenomics and longevity studies in *Drosophila*. In *Biological Aging* (pp. 111-141). Humana Press.

Yin X, Jiang S, Yu J, Zhu G, Wu H, Mao C. (2014). Effects of spirotetramat on the acute toxicity, oxidative stress, and lipid peroxidation in Chinese toad (*Bufo bufo gargarizans*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(3), 1229-1235.

Young, H., Denecke, S., Robin, C., & Fournier-Level, A. (2019). Sublethal larval exposure to imidacloprid impacts adult behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology*, 33(2), 151-164.

Yu, Y., Wang, B., Wang, X., Liu, W., Cao, J., Wong, M., & Tao, S. (2013). Temporal trends in daily dietary intakes of DDTs and HCHs in urban populations from Beijing and Shenyang, China. *Chemosphere*, 91, 1395-1400

Yu, Y., Hua, X., Chen, H., Li, Z., Han, Y., & Xiang, M. (2020). Toxicity of lindane induced by oxidative stress and intestinal damage in *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Pollution*, 114731.

Zaldivar, G. (2016). Evaluación genotóxica y citotóxica de una nueva clase de insecticidas cetoenoles, en linfocitos periféricos humanos. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Zeljezic, D., & Garaj-Vrhovac, V. (2001). Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (Comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Mutagenesis*, 16(4), 359-363.

Zepeda, M. Y. S., Herrera, M. L., Martínez, A. J. G., Oyarzún, J. C. G., García, F. P., & Aguilar, P. O. (2019). Micronúcleos, índice mitótico y aberraciones cromosómicas como biomarcadores de genotoxicidad en haba (*vicia faba* L.) por efecto de cadmio. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 10(1), 27-40

Zhang, J., Qian, L., Teng, M., Mu, X., Qi, S., Chen, X., ... & Wang, C. (2019). The lipid metabolism alteration of three spirocyclic tetramic acids on zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Pollution*, 248, 715-725.

Zhang, Q., Zhang, G., Yin, P., Lv, Y., Yuan, S., Chen, J., ... & Wang, C. (2015). Toxicological effects of soil contaminated with spirotetramat to the earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 139, 138-145.

Zhang, C., Zhang, J., Zhu, L., Du, Z., Wang, J., Wang, J., ... & Yang, Y. (2020a). Fluoxastrobin-induced effects on acute toxicity, development toxicity, oxidative stress, and DNA damage in *Danio rerio* embryos. *Science of The Total Environment*, 715, 137069.

Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Chen, Xuefeng, L., & Wang, C. (2020b). UPLC-TOF-MS/MS metabolomics analysis of zebrafish metabolism by spirotetramat. *Environmental Pollution*, 266, 115310.

Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Zhou, Y., ... & Li, X. (2020c). Dysregulation of endocrine disruption, apoptosis and the transgenerational toxicity induced by spirotetramat. *Chemosphere*, 240, 124900.

Zhu, Y., Liu, X., Xu, J., Dong, F., Liang, X., Li, M., ... & Zheng, Y. (2013). Simultaneous determination of spirotetramat and its four metabolites in fruits and vegetables using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1299, 71-77.

Zhukova, M., & Kiseleva, E. (2012). The virulent *Wolbachia* strain wMelPop increases the frequency of apoptosis in the female germline cells of *Drosophila melanogaster*. *BMC microbiology*, 12(S1), S15.

Zortéa, T., Baretta, D., Maccari, A., Segat, J., Boiago, E., Sousa, J., & Da Silva, A. (2015). Influence of cypermethrin on avoidance behavior, survival and reproduction of *Folsomia candida* in soil. *Chemosphere*, 122, 94-98.

Zorrilla García, A. E., Eirez Izquierdo, M., & Izquierdo Expósito, M. (2004). Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 23(1), 51-57.

Zuñiga, L. (2009). Optimizaciones metodológicas del ensayo cometa y su aplicación en biomonitorización humana [Tesis Doctoral]. Universidad Autónoma de Barcelona, España.

Östling, O., & Johanson, K. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291-298.