

Toxicidad y Riesgo Ambiental por Efecto de Insecticidas Organofosforados sobre Reproductor Macho de Lombriz de Tierra (*Eisenia foetida*)

Environmental Risk and Toxicity Effect of Organophosphorus Insecticides on Male Red Earthworm (*Eisenia foetida*)

Espinoza-Navarro, O.* & Bustos-Obregón E.**†

ESPINOZA, N. O. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Toxicidad y riesgo ambiental por efecto de insecticidas organofosforados sobre reproductor macho de lombriz de tierra (*Eisenia foetida*): una revisión. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):723-729, 2015.

RESUMEN: Los insecticidas organofosforados son ampliamente utilizados para eliminar las plagas en la agricultura. En Arica-Chile, se usaron para controlar y eliminar la plaga de la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*). Actúan como inhibidores de la acetilcolinesterasa e inducen daños en el ADN. El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de malation y metamidofos dos plaguicidas organofosforados, sobre los parámetros reproductivos de macho de lombriz de tierra *Eisenia foetida*. Una vez determinada la LD50 en mg por kilogramo de tierra (malation= 880 mg/kg y metamidofos= 85,3 mg/kg), se procedió a someter a *Eisenia foetida* a dosis de 1/10, 1/6, 1/3 y 2/3 de la LD50. Los grupos controles fueron asperjados con agua. Todos los grupos fueron analizados a 1, 6, 15 y 30 días post tratamiento. Se determinó el peso y cambios morfológicos externos. Recuento espermático se realizó en cámara de Neubaur, la integridad del ADN se determinó con el test de naranja de Acridina. El Comité de Ética/Bioética de la Universidad de Tarapacá, aprobó los protocolos de investigación. Los resultados muestran que ambos organofosforados expresan una disminución significativa del peso corporal en todos los individuos tratados con un 100% de cola enrollada. Se observó un alza significativa del número de espermatozoides a los 1, 6 y 15 días seguido de una disminución significativa entre los 15 a los 30 días. Se observó un aumento significativo de espermatozoides anormales metacromáticos (fluorescencia roja) en todos los animales tratados. Se concluye que malation y metamidofos, alteran la morfología externa, el recuento y la calidad espermática en lombriz de tierra *Eisenia foetida*. El uso de estos agroquímicos necesita de mejores procedimientos de manejo y almacenaje para no alterar el medio ambiente y la salud pública humana.

PALABRAS CLAVE: Toxicología reproductiva; Gusanos; Arica-Chile; Biocentinela.

INTRODUCCIÓN

El hombre en su constante afán de satisfacer sus propias necesidades actúa directamente modificando su entorno, perjudicando a otros organismos vivientes y a sí mismo. El uso de los insecticidas organofosforados (OP), permitió erradicar varias plagas en la agricultura, pero dejando graves efectos colaterales. Estos compuestos actúan por inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, alterando el funcionamiento de transmisión del impulso nervioso que van a los músculos y los que viajan por las fibras

colinérgicas. Esta inhibición enzimática produce acumulación de acetilcolina que es la responsable de las manifestaciones clínicas de la intoxicación, en animales y en la especie humana (Bello-Ramírez *et al.*, 2000; Kwong, 2002; Joshi & Sharma, 2011; Hashjin *et al.*, 2013). La exposición a organofosforados causan síntomas como náuseas, cefaleas, disnea, falta de coordinación, parálisis y espasmos musculares (Brenner, 1992) e incluso acción genotóxica (Sogorb & Vilanova, 2002; Baconi *et al.*, 2013).

* Profesor Titular, Departamento de Biología, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile.

** Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile (*in memoriam*).

En mamíferos la degradación de los OP ocurre a través de enzimas hidrolíticas tipo fosfatasas y carboxilesterasas. La toxicidad de malation y de metamidofos se debe a sus metabolitos, el malaoxón y metadoxón que pueden ser 40 veces más tóxicos que el mismo producto. Estudios *in vitro* describen que los organofosforados inducen rupturas del ADN en lugares donde se ubican oncogenes o genes supresores de tumores, por lo cual estos metabolitos podrían ser considerado como un potencial cancerígeno y mutágeno (Basiak *et al.*, 1999; Lu *et al.*, 1012).

Malation es un compuesto cuya fórmula química es 5-1,2-di (etoxicarbonil) etil 0,0-dimetil fósforo ditioato. Es considerado de baja toxicidad para mamíferos y fue ampliamente usado en higiene pública (EPA, 2012). Metamidofos con una fórmula muy similar es O,S-dimetilfosforoamidotioato, comúnmente usado como acaricida (García-Santos & Keller-Ferrer, 2011).

Sin embargo la literatura reporta que estos OP provocan alteraciones a los sistemas orgánicos de muchas especies. Malation en ratones altera el comportamiento del sistema reproductor masculino, con cambios en la cabeza y cola de los espermatozoides. También se ha reportado que causaría alteraciones ultraestructurales a nivel de los sustentocitos, provocando vacuolización. En ratas tratadas con malation también se ha observado un alto porcentaje de anomalías en cabeza y cola de espermatozoides. Las propiedades alquilantes de los OP podrían verse reflejadas en la interferencia con el ensamblaje normal de las proteínas flagelares (Espinoza-Navarro & Bustos-Obregón, 2014). Metamidofos también muestra efectos adversos en reproductor de ratones machos.

En trabajadores que manipulan estos tóxicos se ha observado alteración de la integridad de la cromatina espermática (Burrell *et al.*, 2000; Salazar-Arredondo *et al.*, 2008). El gusano de tierra *Eisenia foetida* ha sido incluido como una especie biocentinelas capaz de monitorear los cambios por contaminantes en los ecosistemas terrestres (OECD, 1984; Bustos-Obregón & Goicochea, 2002).

En Arica-Chile, malation fue ampliamente usado en la erradicación de la mosca de la fruta

(*Ceratitis capitata*), observándose el impacto en otras especies. El efecto de los plaguicidas sobre el medio ambiente y en la Salud Pública es un tema que demanda una mayor atención en el manejo de estos productos, para evitar los daños colaterales (Olalquiaga Fauré & Lobos Aguirre, 1993; Chirinos & Geraud-Pouey, 2011).

Dada la potencialidad tóxica del malation y del metamidofos sobre distintos sistemas biológicos, en este trabajo se analizan los efectos de dosis menores a la LD50 a diferentes días post-administración, sobre la morfología general, número y calidad espermática de *Eisenia foetida*, un organismo biocentinelas.

MATERIAL Y MÉTODO

Gusanos *Eisenia foetida*, sexualmente maduros con clitelo desarrollado, fueron utilizados en esta investigación, todos ellos colocados en tierra con condiciones de alimentación estandarizada (proteínas 20,5%, fibra 5%. Minerales, vitaminas y materia orgánica se obtiene del origen vegetal. Las condiciones de humedad (50%), pH (6,5) y temperatura se normaron según Cikutovic *et al.* (1999). El peso promedio de los individuos fue de 0,45 g.

El primer paso fue determinar la LD50 para cada uno de los compuestos. Para malation (Farmagro S.A. Perú) se utilizaron concentraciones de 1.200, 900, 600, 300 y 150 mg/kg de tierra (Espinoza-Navarro & Bustos-Obregón, 2005). Para metamidofos (Bayer Agricultural Products. P.O. Box 4913, Kansas City, USA), se utilizaron concentraciones de 200, 150, 10 y 50 mg/kg (EPA). Se observaron los porcentajes de supervivencia a los 14 días post tratamiento. Los resultados determinan que la LD50 para malation fue de 880 mg/kg y para metamidofos de 85,4 mg/kg. Posteriormente se procedió a aplicar el diseño experimental.

Se conformaron cinco grupos de trabajo con animales con un peso promedio inicial de 0,45 g. Cada grupo (n= 40) fue asperjado con malation y metamidofos (separadamente) en dosis de 1/10, 1/6, 1/3 y 2/3 de la LD50, los grupos controles recibieron solo agua. Posteriormente fueron analizados a los días 1, 6, 15

y 30 post tratamiento. En cada dosis y período de análisis se ocuparon 8 individuos. Se determinó el peso al inicio y al final del tratamiento (Balanza MK-500C, USA). Los cambios morfológicos externos, se determinaron a simple vista y registrados en fotos. La cantidad y la calidad de los espermatozoides se obtuvo previo al anestesiado y muerte del animal en solución de alcohol al 5%, colocado en placa fría. Posteriormente se procedió a extraer testículo y vesículas seminales, ubicados en la zona entre el clitelo y el prostomium.

El recuento espermático se realizó en cámara de Neubauer, determinando el número de espermatozoides por mg de tejido reproductor de testículo y vesículas seminales (Cikutovic *et al.*). Cambios en el ADN espermático se determinó con el test de naranja de Acridina observando reacción de ortocromasia o metacromasia en la cabeza espermática, color verde o rojo respectivamente. Los porcentajes de metacromasia se realizaron en recuentos de 200 espermatozoides por campo de observación (Andreetta *et al.*, 1995).

El análisis estadístico de los resultados, se realizó utilizando la media \pm desviación estándar con el programa INSTAT y test no paramétrico Kruskal-Wallis. Se consideró un $p < 0,05$ como significativo.

RESULTADOS

Los individuos normales sin tratamiento con organofosforados, tuvieron un tamaño promedio de 0,6 cm y un peso aproximado de 0,45 g con cuerpo estirado (Fig. 1).



Fig. 1. Registro fotográfico de la estructuración corporal de *Eisenia foetida*, individuos normales.

En la Figura 2, se observa el registro fotográfico de la anomalía de contracción corporal con la característica cola enrollada que presentan todos los individuos tratados con malation y metamidofos.

A partir del primer día de tratamiento con malation, en dosis de 1/3 hubo una disminución significativa del peso corporal de los individuos tratados. Para metamidofos se observa esta disminución significativa a partir de los 6 días en dosis de 2/3 ($*p < 0,05$) (Tabla I).



Fig. 2. Se observa el registro fotográfico de la contracción corporal característica de cola enrollada que presentan todos los individuos tratados con malation y metamidofos.

Tabla I. Se registran los pesos corporales de individuos controles y tratados con dosis 1/10, 1/6, 1/3, 2/3 de malation y de metamidofos ($*p < 0,05$).

		Dosis de la LD ₅₀				
		0	1/10	1/6	1/3	2/3
Malation (LD ₅₀)	Día 1	0,48 \pm 0,03	0,42 \pm 0,02	0,41 \pm 0,02*	0,41 \pm 0,03*	0,40 \pm 0,02*
	Día 6	0,53 \pm 0,02	0,38 \pm 0,03*	0,37 \pm 0,04*	0,36 \pm 0,03*	0,35 \pm 0,03
	Día 15	0,55 \pm 0,03	0,38 \pm 0,02*	0,35 \pm 0,03*	0,32 \pm 0,02*	0,30 \pm 0,04*
	Día 30	0,56 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02*	0,29 \pm 0,03*	0,28 \pm 0,03*	0,28 \pm 0,04*
Metamidofos (LD ₅₀)	Día 1	0,48 \pm 0,02	0,44 \pm 0,03	0,43 \pm 0,04	0,43 \pm 0,05	0,43 \pm 0,04
	Día 6	0,48 \pm 0,03	0,45 \pm 0,03	0,44 \pm 0,02	0,43 \pm 0,03	0,42 \pm 0,02*
	Día 15	0,47 \pm 0,03	0,41 \pm 0,03*	0,33 \pm 0,03*	0,29 \pm 0,04*	0,29 \pm 0,03*
	Día 30	0,46 \pm 0,03	0,36 \pm 0,04*	0,33 \pm 0,03*	0,27 \pm 0,03*	0,29 \pm 0,04*

La Tabla II muestra un incremento significativo en el número de espermatozoides en el primer día de tratamiento con malation, en dosis de 1/6 y 1/3, igual comportamiento se observó al día 6 en dosis 1/6. A los 15 y 30 días se observó una disminución en el número de espermatozoides, siendo significativa a dosis de 2/3 de malation. El tratamiento con metamidofos muestra aumentos significativos en el recuento espermático a los 1, 6 y 15

días en todas las dosis de tratamiento. En día 30 se observa una disminución significativa de espermatozoides a dosis de 1/6, 1/3 y 2/3 (*p <0,05).

En la Tabla III se observa un aumento significativo de metacromasia en individuos tratados con malation y con metamidofos en todos los días de tratamiento y casi en todas las dosis de exposición (*p <0,05).

Tabla II. Se observan los cambios en el recuento espermático de los individuos tratados con malation y metamidofos a dosis de 0, 1/10, 1/6, 1/3, 2/3 de la LD50, por los períodos de 1, 6, 15 y 30 días de tratamiento.

		Dosis de la LD ₅₀				
		0	1/10	1/6	1/3	2/3
Malation (LD ₅₀)	Día 1	23±05	32±0,2	45±2,0*	43±1,8*	33±1,0
	Día 6	33±1,2	34±1,3	54±4,0*	31±3,0	36±3,0
	Día 15	28±3,0	27±2,0	21±3,0	18±4,0	15±4,0*
	Día 30	41±3,0	45±4,0	38±3,0	35±4,0	22±3,0*
Metamidofos (LD ₅₀)	Día 1	7±2,0	24±1,5*	18±4,0*	28±5,0*	30±4,0*
	Día 6	8±4,0	16±5,0*	29±5,0*	33±5,0*	38±4,0*
	Día 15	10±5,0	25±4,0*	37±4,0*	38±4,0*	45±5,0*
	Día 30	11±4,0	12±3,0	7±2,0*	6±2,0*	4±2,0*

(*p<0,05).

Tabla III. Se observan los porcentajes de metacromasia en individuos tratados con malation y metamidofos a dosis de 0, 1/10, 1/6, 1/3, 2/3 de la LD50, por los períodos de 1, 6, 15 y 30 días de tratamiento.

		Dosis de la LD ₅₀				
		0	1/10	1/6	1/3	2/3
Malation (LD₅₀)	Día 1	12	15	25*	16	27*
	Día 6	13	18	19*	25*	34*
	Día 15	10	17	21*	31*	42*
	Día 30	11	26*	40*	33*	43*
Metamidofos (LD₅₀)	Día 1	9	21*	17*	27*	30*
	Día 6	8	17*	29*	33*	38*
	Día 15	11	27*	36*	38*	46*
	Día 30	11	38*	44*	42*	43*

(*p<0,05).

DISCUSIÓN

En el mundo existe actualmente mucha preocupación de los efectos adversos de agentes químicos ambientales sobre los sistemas biológicos. Es el caso de los compuestos organofosforados comúnmente utilizados en agricultura (Toppari *et al.*, 1996).

Para monitorear estos efectos se utilizan

las llamadas especies biocentinelas. Lombriz de tierra, *Eisenia foetida*, es un organismo que cumple una labor importantísima en la estructura y fertilidad de los suelos, siendo considerado uno de los mejores modelos para estudios de ecotoxicidad (OECD; Espinoza-Navarro & Bustos-Obregon; Lin *et al.*, 2010; Phugare *et al.*, 2012).

Malation y metamidofos son dos compuestos organofosforados comúnmente usados para el control de plagas en la agricultura. Sin embargo su acción también afecta a otros organismos que comparten el mismo ecosistema tales como las lombrices de tierra. Estos compuestos alteran la función neuromuscular lo cual explicaría cambios en la morfología externa con contracción muscular y enrollamiento de la cola, este fenómeno es sumativo al disminuir la locomoción, afectando el desplazamiento hacia el alimento e influyendo en la pérdida de peso de *Eisenia foetida*. Este efecto se observa en las Figuras 1 y 2 y en la Tabla I en los individuos tratados con malation y metamidofos (Yasmin & D'Souza, 2010; Chen *et al.*, 2012; Dureja & Tanwar, 2002).

En gusanos la espermatogénesis atraviesa un período de mórula con agrupación de hasta 10 espermatozoides, en el interior de la espermateca. Malation y metamidofos tendrían un efecto disruptor sobre los filamentos de actina, rompiendo las uniones morulares, lanzando una gran cantidad de espermatozoides inmaduros en la espermateca (Sorour & Larink, 2001). Esto explicaría el aumento inicial en el recuento espermático en los individuos tratados, seguida de una baja considerable en el recuento (Tabla II).

La literatura también informa que los organofosforados poseen un efecto inhibitorio de la síntesis de ADN, debido sus características de liposolubilidad que lo capacita para atravesar las membranas biológicas e ingresar al núcleo (Karunaratne & Hemingway, 2001). El efecto de estos químicos en la calidad espermática, se demuestra en la Tabla III, donde se observa una directa relación entre el aumento del porcentaje de metacromasia (fluorescencia roja) y el aumento progresivo de las concentraciones de malation y metamidofos (efecto dosis-respuesta). Además la liberación temprana de espermatozoides inmaduros tendría un efecto sinérgico en el ensamblaje ADN-histonas (Salazar-Arredondo *et al.*).

El uso de agropesticidas suele asociarse a mezclas químicas de diferentes presentaciones, ejerciendo una acción sinérgica en los sistemas orgánicos, por lo cual a pesar de su toxicidad, resulta difícil determinar cual de ambos

organofosforado en estudio, malation o metamidofos, resulta más tóxico o menos tóxico. Sin embargo es importante destacar que estos tipos de estudios sobre el uso de pesticidas en la agricultura, son muy necesarios para implementar mejores políticas en el manejo, bioseguridad y biocontención de estos contaminantes, de manera que no alteren el medio ambiente y la Salud Pública humana (Chirinos & Geraud-Pouey; Strada *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Se concluye que malation y metamidofos, compuestos organofosforados, alteran la morfología externa, provocando una baja significativa en el peso corporal y expresando contracción muscular en forma de cola enrollada en *Eisenia foetida*.

Malation y metamidofos alteran las estructuras reproductivas de la espermateca y morula de *Eisenia foetida*, con un aumento significativo inicial de espermatozoides inmaduros seguido de una disminución significativa en el recuento espermático.

La calidad espermática en lombriz de tierra *Eisenia foetida*, por acción de estos compuestos, provoca un aumento significativo de espermatozoides metacromáticos con ADN alterado (fluorescencia roja).

El uso de estos agroquímicos necesita de mejores procedimientos de manejo y bioseguridad para no alterar el medio ambiente y la salud pública humana.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto UTA Mayor N° 4712-13, de la Universidad de Tarapacá, Arica-Chile.

Todos los resultados fueron obtenidos en el Laboratorio de Biología de la Reproducción, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile a cargo del Dr. Eduardo Bustos-Obregón (Maestro y Tutor).

ESPINOZA, N. O. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Environmental risk and toxicity effect of organophosphorus insecticides on male red earthworm (*Eisenia foetida*). A review. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 2(4):723-729, 2015.

SUMMARY: Organophosphate pesticides are widely used to eliminate pests in agriculture. In Arica-Chile, they were used to control and eliminate the plague of fruit fly (*Ceratitis capitata*). They act as acetylcholinesterase inhibitors and induce DNA damage. The aim of this study was to analyze the effects of malathion and methamidophos two organophosphate pesticides on male reproductive parameters of red earthworm *Eisenia foetida*. After determining the LD50 in mg per kilogram of soil (malathion= 880 mg/kg and methamidophos= 85.3 mg/kg), we proceeded to subdue *Eisenia foetida* at a dose of 1/10, 1/6, 1/3 and 2/3 of the LD50. The control groups were sprayed with water. All groups were analyzed at 1, 6, 15 and 30 days post treatment. The weight and external morphological changes was determined. Sperm count was held in camera Neubaur, DNA integrity was determined with Acridine orange test. The Ethics / Bioethics Committee at the University of Tarapaca, approved the research protocols. The results show that both organophosphate express a significant decrease in body weight in all animals treated with 100% of coiled tail. A significant rise in the number of sperm at 1, 6 and 15 days followed by a significant decrease from 15 to 30 days was observed. A significant increase of abnormal metachromatic sperm (red fluorescence) in all treated animals was observed. It is concluded that malathion and methamidophos, alter the external morphology, sperm count and quality of *Eisenia foetida* red earthworm. The use of these chemicals needs better handling and storage procedures to avoid altering human health and the environment.

KEY WORDS: Reproductive toxicology; Worms; Arica-Chile; Biocentinela.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andreetta, A. M.; Stockert, J. C. & Barrera, C. A simple method to detect sperm chromatin abnormalities: cytochemical mechanism and possible value in predicting semen quality in assisted reproductive procedures. *Int. J. Androl.*, 18(Suppl. 1):23-8, 1995.
- Baconi, D. L.; Bârca, M.; Manda, G.; Ciobanu, A. M. & Balalau, C. Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in a repeated dose study in rats. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 54(2):349-56, 2013.
- Bello-Ramírez, A. M.; Carreón-Garabito, B. Y. & Nava-Ocampo, A. A. A theoretical approach to the mechanism of biological oxidation of organophosphorus pesticides. *Toxicology*, 149(2-3):63-8, 2000.
- Basiak, J.; Jaoszynski, P.; Trzeciak, A. & Szyfter, K. *In vitro* studies on the genotoxicity of the organophosphorus insecticide malathion and its two analogues. *Mutat. Res.*, 445(2):275-83, 1999.
- Brenner, L. Malathion fact sheet. *J. Pestic. Reform*, 12(4):29-37, 1992.
- Bustos-Obregón, E. & Goicochea, R. I. Pesticide soil contamination mainly affects earthworm male reproductive parameters. *Asian J. Androl.*, 4(3):195-9, 2002.
- Burrue, V. R.; Raabe, O. G.; Overstreet, J. W.; Wilson, B. W. & Wiley, L. M. Paternal effects from methamidophos administration in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 165(2):148-57, 2000.
- Cikutovic, M. A.; Fitzpatrick, L. C.; Goven, A. J.; Venables, B. J.; Giggelman, M. A. & Cooper, E. L. Wound healing in earthworms *Lumbricus terrestris*: a cellular-based biomarker for assessing sublethal chemical toxicity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62(4):508-14, 1999.
- Chen, L.; Lu, X. & Ma, Y. Enantioselective effects of methamidophos on the coelomocytes lysosomal membrane stability of *Eisenia foetida*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 89(6):1161-4, 2012.
- Chirinos, D. T. & Geraud-Pouey, F. El manejo de plagas agrícolas en Venezuela. Análisis y reflexiones sobre algunos casos. *Interciencia*, 36(3):192-9, 2011.
- Dureja, P. & Tanwar, R. *Pesticide residues in soil, invertebrates*. In: *Pesticides: Evaluation of Environmental Pollution*. Rathore, H. S. & Nollet, L. M. L. (Eds.). Boca Raton, C. R. C. Press, 2002. pp.337-60.
- Environmental Protection Agency (EPA). *The EPA publishes amended Azinphos-Methyl cancellation order allowing use of existing stocks through September 2013*. Pesticide News Story, Environmental Protection Agency (EPA), 2012. Available in: <http://archive.epa.gov/pesticides/news/web/html/azm-cancellation.html>

- Espinoza-Navarro, O. & Bustos-Obregón, E. Effect of malathion on the male reproductive organs of earthworms, *Eisenia foetida*. *Asian J. Androl.*, 7(1):97-101, 2005.
- Espinoza-Navarro, O. & Bustos-Obregón, E. Effects of malathion on cellularity and sperm differentiation in testis and epididymis of adult rats. *Int. J. Morphol.*, 32(1):119-24, 2014.
- García-Santos, G. & Keller-Forrer, K. Avoidance behaviour of *Eisenia foetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia. *Chemosphere*, 84(5):651-6, 2011.
- Hashjin, G.; Dizaj, F. S.; Attaran, H. & Koohi, M. K. Malathion induces anxiety in the male adult mouse. *Arch. Med. Sci.*, 9(2):368-71, 2013.
- Joshi, S. C. & Sharma, P. Male reproductive toxicity of organophosphorous compounds: a review. *Toxicol. Environ. Chem.*, 93(7):1486-507, 2011.
- Karunaratne, S. H. & Hemingway, J. Malathion resistance and prevalence of the malathion carboxylesterase mechanism in populations of mosquito vectors of disease in Sri Lanka. *Bull. World Health Organ.*, 79(11):1060-4, 2001.
- Kwong, T. C. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Ther. Drug Monit.*, 24(1):144-9, 2002.
- Lin, D.; Zhou, Q.; Xie, X. & Liu, Y. Potential biochemical and genetic toxicity of triclosan as an emerging pollutant on earthworms (*Eisenia foetida*). *Chemosphere*, 81(10):1328-33, 2010.
- Lu, X. T.; Ma, Y.; Wang, C.; Zhang, X. F.; Jin, da Q. & Huang, C. J. Cytotoxicity and DNA damage of five organophosphorus pesticides mediated by oxidative stress in PC12 cells and protection by vitamin E. *J. Environ. Sci. Health B.*, 47(5):445-54, 2001.
- Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). *Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Effects on Biotic Systems, 1984.
- Olalquiaga Fauré, G. & Lobos Aguirre, C. *La mosca del Mediterráneo en Chile, introducción y erradicación*. Santiago de Chile, Ministerio de Agricultura, 1993.
- Phugare, S. S.; Gaikwad, Y. B. & Jadhav, J. P. Biodegradation of acephate using developed bacterial consortium and further toxicological analysis using earthworm (*Lumbricus terrestris*) as a model animal. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 69:1-9, 2012.
- Salazar-Arredondo, E.; de Jesús Solís-Heredia, M.; Rojas-García, E.; Hernández-Ochoa, I. & Quintanilla-Vega, B. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reprod. Toxicol.*, 25(4):455-60, 2008.
- Sogorb, M. A. & Vilanova, E. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol. Lett.*, 128(1-3):215-28, 2002.
- Sorour, J. & Larink, O. Toxic effects of benomyl on the ultrastructure during spermatogenesis of the earthworm *Eisenia foetida*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 50(3):180-8, 2001.
- Strada, J.; Ricca, A.; Conles, M.; Silva, M.; Rojas, D.; Casini, C.; Piatì, F. & Martínez, M. J. Evaluación de residuos de plaguicidas en granos de maíz (*Zea mays* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.) posterior a la aplicación en el almacenamiento y en el campo. *Interciencia*, 37(6):412-7, 2012.
- Toppari, J.; Larsen, J. C.; Christiansen, P.; Giwercman, A.; Grandjean, P.; Guillelte, L. J. Jr.; Jégou, B.; Jensen, T. K.; Jouannet, P.; Keiding, N.; Leffers, H.; McLachlan, J. A.; Meyer, O.; Müller, J.; Rajpert-De Meyts, E.; Scheike, T.; Sharpe, R.; Sumpter, J. & Skakkebaek, N. E. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ. Health Perspect.*, 104(Suppl. 4):741-803, 1996.
- Yasmin, S. & D'Souza, D. Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. *App. Environ. Soil Sci.*, 2010:678360, 2010.

Dirección para Correspondencia:
Prof. Dr. Omar Espinoza Navarro
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Universidad de Tarapacá
Avenida. General Velásquez N 1775
Arica
CHILE

Fono: +56 58 205415
Fax : +56 58 205381

Email: oespinoz@uta.cl

Recibido : 14-11-2015
Aceptado: 07-12-2015