

Efecto genotóxico e identificación de residuos de pesticidas en extracto de tomate *Solanum lycopersicum* (L.) cultivados en dos municipios de Norte de Santander

Betty Esther Morales Barbosa

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

2024

Efecto genotóxico e identificación de residuos de pesticidas en extracto de tomate *Solanum lycopersicum* (L.) cultivados en dos municipios de Norte de Santander

Betty Esther Morales Barbosa

Trabajo de grado como requisito para optar al título de

Bióloga

Director

Iván Meléndez Gélvez

Biólogo PhD.

Codirector

Luis Fabián Yáñez Urbina

Biólogo Msc.

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

2024

Dedicatoria

Con mucho amor a mi madre, por dotarme de la materia prima para construir mis sueños, por su incondicional apoyo, dedicación y enfoque, ya que has hecho de mí una persona con valores y principios, sencillamente eres mi pilar y mi inspiración constante.

A mi tía, por ofrecerme su amor y ayuda ilimitada durante toda mi carrera, cuyo apoyo y comprensión han sido invaluable; a mi abuela, por su especial cuidado y ternura desde que tengo memoria, siempre brindándome su sabiduría y cariño.

A mi padre, aunque ya no está físicamente conmigo, cuyo espíritu viajero y cada lugar que me llevó a conocer han dejado una huella imborrable en mi corazón, gracias por enseñarme sobre salud y geografía de pequeña, y por tu ejemplo de curiosidad y exploración.

A mi hermano, por estar conmigo en cada etapa de mi vida, pues tu apoyo y compañía significan mucho para mí, siempre ha estado compartiendo cada paso del camino.

Y, por último, a mi familia y a todas aquellas personas que, de una u otra manera, colaboraron en este propósito y confiaron en mis capacidades, les agradezco por cada una de las palabras de aliento que siempre tuvieron para mí, por su fe inquebrantable en mi potencial y por ser parte de este viaje.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta donde me encuentro, motivándome a través del versículo que siempre ha resonado en mí "Y lo ha llenado del Espíritu de Dios, en sabiduría, en inteligencia, en ciencia y en todo arte" Éxodo 35:31.

A mi querida madre, por su amor, apoyo y sacrificio incondicional que fueron fundamentales en cada etapa de mi vida y especialmente en este proceso, porque sin su constante aliento y motivación, este logro no sería posible. Gracias, mamá, por ser mi inspiración.

A mis familiares por su incondicional apoyo, al brindarme apoyo físico y emocional. Agradezco a mi tía, mi novio, mi abuela, mi prima y mi hermano, quienes con amor y comprensión fueron un pilar fundamental para sacar adelante mi carrera.

A mi tutor, Iván Meléndez Gélvez por compartir su invaluable conocimiento, identificar las falencias y fortalecer el proyecto, guiándome de manera efectiva hacia una exitosa culminación.

A mi codirector, Luis Fabián Yañez, por su contribución en la selección de los métodos, evaluadores, en la gestión del material, documentos guías y permisos para el ingreso de las instalaciones.

A mis evaluadores, Enrique Pardo y Mauricio Figueroa, por aceptar mi trabajo de investigación, brindar comentarios constructivos y realizar la respectiva evaluación.

Al semillero de investigación en Biología Molecular y Genética (BIOMOGEN) por permitir el acceso a los materiales, equipos y reactivos, que facilitaron la realización del proceso metodológico.

Al Centro Experimental de Diagnóstico e Investigación Molecular en Enfermedades Parasitarias, Tropicales e Infecciosas (CEDIMOL), a la directora y a cada profesional calificado que nos permitía el acceso y hacer uso de sus equipos especializados.

Al laboratorio de Control de calidad por permitir el espacio para utilizar los materiales y equipos, al igual que a las auxiliares Gabriela, Yolanda y al docente José Quintana.

A mi compañera Durley Calderón por estar durante toda la fase de laboratorio, siendo de gran ayuda y apoyo en cada intento.

A Angela Suarez por ser la amiga que estuvo durante toda la carrera, por cada anécdota, experiencia y conocimiento que compartimos en todo momento.

A cada compañera que estuvo a lo largo del programa siendo claves en acompañamiento, conocimiento y estudio en actividades académicas.

A la Universidad de Pamplona, por acogerme y brindarme la oportunidad de crecer como profesional, haciendo parte de mi desarrollo académico y personal.

A los profesores del Programa de Biología que a través de su pedagogía, ética y experiencia profesional crearon un conocimiento que perdurará en el tiempo.

Información general del proyecto

Línea de Investigación: mutagénesis ambiental	
Lugar de ejecución del proyecto: El proyecto se llevó a cabo en el Departamento de Norte de Santander, específicamente en los municipios de Ábrego y la Playa de Belén, donde se recolectaron las muestras. Posteriormente, estas fueron analizadas en la Universidad de Pamplona y la Universidad Industrial de Santander	
Duración del proyecto (en meses): 12 meses	
Valor total del proyecto:	\$32.000.000 (en pesos)
Área: Mutagénesis, Biología molecular, biotecnología	
Línea estratégica: Mutagénesis y genotoxicidad	
Descriptores/Palabras claves: <i>Solanum lycopersicum</i> , viabilidad celular, ensayo cometa, residuos de pesticidas, cromatografía de gases.	
Universidad de Pamplona, Pamplona Julio de 2024	

Tabla de contenido

Resumen.....	14
Abstract	15
Introducción	16
Planteamiento del problema y Justificación	19
Objetivos e hipótesis	21
Objetivo general	21
Objetivos específicos	21
Pregunta de Investigación	23
Marco Referencial.....	24
Antecedentes	24
Internacionales.....	24
Nacionales	26
Regionales	27
Marco Teórico	29
Generalidades del tomate	29
Agricultura convencional	39
Los plaguicidas	39
Metodología para detectar la presencia de residuos de pesticida	44
Agroecología	46
Fundamentos jurídicos.....	46

Genotoxicidad.....	51
Agentes genotóxicos.....	52
Metodología para evaluar la genotoxicidad	52
Viabilidad celular.....	54
Metodología para Verificar la viabilidad celular	54
Diseño metodológico	56
Área de estudio.....	56
Toma de la muestra	59
Preparación del extracto	60
Extracción de linfocitos.....	61
Prueba de exclusión con colorante azul de tripano	62
Determinación de multirresiduos de plaguicidas organoclorados (OCP) en alimentos, por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD)	63
Detección de daño del ADN por el Ensayo Cometa	65
Resultados	69
Viabilidad celular mediante la prueba de exclusión con colorante azul de tripano	69
Detección de daño del ADN por el Ensayo Cometa	72
Cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD)	90
Discusión.....	99
Conclusiones	103

Recomendaciones	104
Referencias.....	105
Apéndices.....	113

Lista de Tablas

Tabla 1 Principales departamentos productores de tomate en Colombia para el año 2014.....	30
Tabla 2 Clasificación taxonómica de <i>Solanum lycopersicum</i>	31
Tabla 3 Municipios con mayor producción de tomate en el departamento de Norte de Santander.	33
Tabla 4 Principales áreas de aplicación frecuente de plaguicidas.	40
Tabla 5 Clasificación toxicológica de los pesticidas basado en la DL50 o CL50.	41
Tabla 6 Clasificación de los plaguicidas, según la familia química.	43
Tabla 7 Técnicas de análisis para la detección y control biológico de plaguicidas.	45
Tabla 8 Rangos estandarizados para los tipos de daño en el ADN.....	68
Tabla 9 Porcentaje de viabilidad celular previa y posterior al tratamiento para Ábrego y la Playa de Belén Norte de Santander.....	70
Tabla 10 Promedio de daño inducido en el ADN de linfocitos humanos por diferentes dosis de extracto de tomate cultivado en Ábrego Norte de Santander.	72
Tabla 11 Promedio de daño inducido en el ADN de linfocitos humanos por diferentes dosis de extracto de tomate cultivado en la Playa de Belén Norte de Santander.....	78
Tabla 12 Resultados del extracto de tomate orgánico con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.....	93
Tabla 13 Resultados del extracto de tomate de Ábrego con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.	95
Tabla 14 Resultados del extracto de tomate de la Playa de Belén con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.	97

Lista de Figuras

Figura 1 Principales patógenos fúngicos del tomate.	34
Figura 2 Principales patógenos bacterianos del tomate.	35
Figura 3 Principales patógenos por virus en la planta de tomate.....	36
Figura 4 Manifestaciones por deficiencias en macronutrientes.	37
Figura 5 Manifestaciones por deficiencias en micronutrientes.	38
Figura 6 Retícula Hemocitométrica de la Cámara de Neubauer.	55
Figura 7 Ubicación geográfica del municipio de La Playa de Belén, Norte de Santander, Colombia.....	57
Figura 8 Ubicación geográfica del municipio de Ábrego Norte de Santander, Colombia.	58
Figura 9 Frutos obtenidos en Ábrego y la Playa de Belén Norte de Santander.....	59
Figura 10 Procedimiento gráfico de la preparación del extracto de tomate.	60
Figura 11 Procedimiento detallado de extracción de linfocitos.....	61
Figura 12 Procedimiento de viabilidad celular	63
Figura 13 Procedimiento detallado del ensayo cometa.	67
Figura 14 Porcentaje de viabilidad en linfocitos humanos antes e inducida por extracto de tomate de Ábrego.	70
Figura 15 Porcentaje de viabilidad en linfocitos humanos antes e inducida por extracto de tomate de la Playa de Belén.	72
Figura 16 Matriz de correlación de Pearson en la longitud del cometa, área del cometa, diámetro de la cabeza, porcentaje de ADN en la cabeza, longitud de la cola, porcentaje de ADN en la cola.	79

Figura 17 Distribución de la longitud del cometa en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.....	80
Figura 18 Distribución del área del cometa en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.....	82
Figura 19 Distribución del diámetro de la cabeza en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.....	84
Figura 20 Distribución del porcentaje de ADN en la cabeza en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.	85
Figura 21 Distribución de la longitud de la cola en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.....	86
Figura 22 Distribución del porcentaje de ADN en la cola en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.	88
Figura 23 Imágenes del daño inducido en linfocitos humanos por muestras de extracto de tomate, cultivados en Ábrego y la Playa de Belén, Norte de Santander.....	89
Figura 24 Tiempos de retención analizados en una muestra enriquecida con la mezcla de referencia certificada (MRC) para análisis de organoclorados.....	91
Figura 25 Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate orgánico identificado como 994424-01-CG-1F.D.....	92
Figura 26 Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate de Ábrego, identificado como 994424-02-CGF.D.	94
Figura 27 Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate de la Playa de Belén, identificado como 994424-03-CGF.D.....	96

Apéndices

Apéndice A Preparación de soluciones para la realización de ensayo cometa.	113
Apéndice B Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos de la longitud del cometa.	116
Apéndice C Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del área del cometa.	117
Apéndice D Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del diámetro de la cabeza.....	118
Apéndice E Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del porcentaje de ADN de la cabeza.	119
Apéndice F Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos de la longitud de la cola.	120
Apéndice G Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del porcentaje de ADN de la cola.....	121
Apéndice H Resultados de límites en multiresiduos de plaguicidas encontrados.	122
 Ecuación 1 Viabilidad celular.	 62
Ecuación 2 Porcentaje de viabilidad celular	63

Resumen

Los pesticidas constituyen uno de los mayores agentes contaminantes del medio ambiente, dado su uso extensivo en la agricultura para aumentar la producción de alimentos y gestionar las plagas. Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo reside en evaluar el efecto genotóxico y la identificación de residuos de pesticidas en extractos de *Solanum lycopersicum* (L.) en dos municipios del Norte de Santander. Se utilizó la viabilidad celular para descartar falsos positivos tras la exposición al extracto de tomate. El ensayo cometa se aplicó para evaluar la actividad genotóxica y la cromatografía de gases ECD para detectar residuos de pesticidas. Los resultados de viabilidad celular fueron superiores al 90%. El ensayo cometa reveló un daño genotóxico dosis-dependiente en los extractos de Ábrego y un patrón heterogéneo en los extractos de Playa de Belén; sin embargo, no superó el tipo de daño bajo en todos los tratamientos. En la cromatografía se detectaron señales de pesticidas como delta-lindano, aldrin, endrin, endosulfan II y metoxiclor. Debido a la variabilidad de la respuesta celular, se destaca la necesidad de un monitoreo continuo. Dado que el tomate es un producto de consumo frecuente, la posible presencia de pesticidas podría representar un riesgo para la salud de la población, subrayando la importancia de prácticas agrícolas sostenibles y métodos de control de calidad efectivos.

Palabras Clave: *Solanum lycopersicum*, viabilidad celular, ensayo cometa, residuos de pesticidas, cromatografía de gases.

Abstract

Pesticides constitute one of the major environmental pollutants due to their extensive use in agriculture to increase food production and manage pests. Therefore, the main objective of this work is to evaluate the genotoxic effect and identify pesticide residues in extracts of *Solanum lycopersicum* (L.) from two municipalities in Norte de Santander. Cell viability was used to rule out false positives after exposure to the tomato extract. The comet assay was applied to evaluate genotoxic activity, and gas chromatography ECD was used to detect pesticide residues. The cell viability results were above 90%. The comet assay revealed dose-dependent genotoxic damage in extracts from Ábrego and a heterogeneous pattern in extracts from Playa de Belén; however, it did not exceed low damage levels in all treatments. Chromatography detected signals of pesticides such as delta-hexachlorocyclohexane (delta-HCH), aldrin, endrin, endosulfan II, and methoxychlor. Due to the variability of the cellular response, the need for continuous monitoring is highlighted. Since tomatoes are a frequently consumed product, the possible presence of pesticides could pose a health risk to the population, underscoring the importance of sustainable agricultural practices and effective quality control methods.

Palabras Clave: *Solanum lycopersicum*, cell viability, comet assay, pesticide residues, and gas chromatography.

Introducción

La agricultura es una actividad fundamental para la supervivencia humana, ya que proporciona alimentos, empleo e ingresos a millones de personas en todo el mundo. Sin embargo, la agricultura convencional ha sido ampliamente criticada por su impacto negativo en el medio ambiente y la salud humana, debido al uso excesivo de agroquímicos, como pesticidas y fertilizantes sintéticos, que puede causar daños a la biota edáfica responsable del ciclo de nutrientes, contaminar los recursos hídricos y acumularse en los alimentos, presentando potenciales efectos adversos para la salud de los consumidores (Medina, 2018)

La producción de tomate es uno de los cultivos más importantes en el mundo y en Colombia su consumo se extiende por todo el país. Sin embargo, la producción de tomate en el departamento de Norte de Santander se ve afectada por la presencia de fitopatógenos y enfermedades, lo que puede reducir significativamente la producción y la calidad de los cultivos. Por lo que la detección de residuos de pesticidas en alimentos es un tema de gran relevancia, ya que estos compuestos pueden causar efectos adversos para la salud, especialmente en niños y personas con sistemas inmunológicos debilitados (Monroy, 2021)

La exposición a plaguicidas ha sido vinculada con una serie de graves problemas de salud, incluyendo cáncer, enfermedades neurodegenerativas y alteraciones en la respuesta inmune (Trujillo *et al.*, 2019). El manejo y uso incorrecto de estos compuestos químicos representan un riesgo significativo para la salud humana, manifestándose en intoxicaciones agudas y en efectos nocivos a mediano y largo plazo. Entre estos efectos se encuentran la carcinogénesis, la teratogénesis, la esterilidad y la mutagénesis, además de otros problemas de salud (Yañez *et al.*, 2019).

Los pesticidas tienen la capacidad inherente de inducir cambios genéticos que abarcan desde micromutaciones hasta macromutaciones. Estas variaciones genéticas pueden provocar alteraciones en las proteínas resultantes, comprometiendo su funcionalidad y resultando en consecuencias significativas para la salud humana. Las mutaciones genéticas desencadenadas por plaguicidas pueden dar lugar a una amplia gama de enfermedades hereditarias y anomalías congénitas. Además, existe una asociación documentada entre estas mutaciones y la incidencia de enfermedades como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas y los trastornos de la respuesta inmune (Morales *et al.*, 2014).

Los elementos nocivos pueden ingresar al organismo por medio de la ingestión oral, el tracto gastrointestinal, la inhalación y la absorción cutánea. Estos compuestos, una vez dentro del cuerpo, pueden ser absorbidos por los fluidos corporales y los órganos que contienen linfocitos. Una vez en circulación, pueden ser activados o transformados por diversos órganos, lo que determina la exposición de los linfocitos y aumenta el riesgo de daño químico al ADN (Fenech *et al.*, 2016).

En este contexto, los ensayos biológicos simples se posicionan como una herramienta valiosa en la detección de daños causados por sustancias tóxicas o contaminantes ambientales utilizando células modelo. En teoría, el ensayo de viabilidad celular con azul de tripano, es reconocido por su rapidez, eficiencia y bajo costo, se destaca por su capacidad para distinguir células viables de las no viables o dañadas. Por otro lado, el ensayo de cometa emerge como una opción igualmente destacada en investigaciones toxicológicas, debido a su rapidez, sensibilidad y costo asequible en la detección y análisis de roturas en el ADN a nivel celular (Tug *et al.*, 2024). Aunque la cromatografía de gases no se encuentra accesible como dos anteriores ensayos, presenta características similares, como su relativa rapidez, alta sensibilidad y costo

moderadamente accesible, la convierten en una herramienta esencial para detectar y cuantificar trazas mínimas de compuestos en este tipo de muestras.

Este estudio busca contribuir a la comprensión de los efectos de la producción agrícola convencional en la salud humana y a la promoción de estrategias más sostenibles para la agricultura, como la agroecología y el control biológico de plagas y enfermedades. La identificación de residuos de pesticidas en alimentos y su potencial genotoxicidad es fundamental para establecer medidas de control y regulación que garanticen la inocuidad de los alimentos y la protección de la salud pública. Además, los resultados de esta investigación podrían servir de base para el desarrollo de políticas públicas orientadas a promover una agricultura más sostenible y respetuosa con el medio ambiente y la salud de los consumidores.

Planteamiento del problema y Justificación

La producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Colombia destaca tanto por su extensión como por su relevancia económica y nutricional. En el año 2021, la producción mundial de tomates frescos superó los 180 millones de toneladas, con un incremento de 25 millones de toneladas respecto al año anterior, cifras que subrayan su importancia a nivel global (Zamora *et al.*, 2020). En el contexto colombiano, con una extensión de aproximadamente 11.000 hectáreas sembradas en 2020 y una producción de 600.000 toneladas, el tomate se erige como un elemento básico en la dieta del país, aportando vitaminas, minerales y antioxidantes vitales para la salud humana (Vallejo, 2018).

Sin embargo, en los municipios de Ábrego y Playa de Belén en Norte de Santander, donde el cultivo de tomate es un pilar fundamental tanto en la economía local como en la seguridad alimentaria regional, se enfrentan desafíos significativos derivados de la agricultura convencional. Esta práctica, caracterizada por el uso intensivo de agroquímicos, plantea preocupaciones ambientales y de salud pública, incluida la contaminación del suelo y el agua, así como la presencia de residuos de pesticidas en los alimentos. Aunque hay alternativas más sostenibles, como la agricultura orgánica, persisten inquietudes sobre la efectividad en el control de fitopatógenos y la gestión adecuada de los residuos de pesticidas en estos municipios.

Por consiguiente, esta investigación se centra en una evaluación integral del potencial genotóxico de los extractos de tomate cultivado en Ábrego y Playa de Belén. Además, busca identificar y cuantificar con precisión los residuos de pesticidas presentes en dichos extractos. Mediante el empleo de técnicas avanzadas, se pretende determinar el impacto de estos extractos en la integridad del ADN y en la detección de residuos, con el objetivo último de proporcionar

una comprensión detallada de los posibles riesgos asociados con el consumo de tomates cultivados en estas áreas.

Los resultados de esta investigación serán fundamentales para informar decisiones en políticas agrícolas y de salud pública, así como para promover prácticas agrícolas más seguras.

Al proteger la salud de los consumidores y preservar la integridad ambiental en Norte de Santander, este enfoque contribuirá al desarrollo sostenible y al bienestar general de la comunidad.

Objetivos e hipótesis

Objetivo general

Evaluar el efecto genotóxico e identificar los residuos de pesticidas en el extracto de tomate *Solanum lycopersicum* L. cultivado en dos municipios de Norte de Santander.

Objetivos específicos

Verificar la viabilidad celular de los linfocitos humanos expuestos a diferentes concentraciones de extracto de tomate mediante la prueba de exclusión con colorante azul de tripano.

Detectar la presencia de residuos de pesticida en extracto de tomate cultivado en los municipios de Playa de Belén y Ábrego, por cromatografía de gases μ ECD.

Evaluar el efecto en la integridad del ADN de linfocitos humanos bajo diferentes concentraciones de extracto de tomate cultivado en los municipios de Ábrego y la Playa de Belén a través de ensayo cometa.

Hipótesis Nula (H_0)

La exposición a diferentes concentraciones de extracto de tomate cultivado en el municipio de Ábrego no afecta la viabilidad celular de los linfocitos humanos, no se detectan residuos de pesticida en dichos extractos, y no se observa ningún efecto en la integridad del ADN de los linfocitos humanos.

$$H_0: \mu_{(50\mu\text{g})} \dots = \dots \mu_{(70\mu\text{g})}$$

Hipótesis Nula (H_0)

La exposición a diferentes concentraciones de extracto de tomate cultivado en los municipios de la Playa de Belén no afecta la viabilidad celular de los linfocitos humanos, no se detectan residuos de pesticida en dichos extractos, y no se observa ningún efecto en la integridad del ADN de los linfocitos humanos.

$$H_0: \mu_{(70\text{ug})} \dots = \dots \mu_{(90\text{ug})}$$

Hipótesis Alternativa (H_1)

La exposición a diferentes concentraciones de extracto de tomate cultivado en el municipio Ábrego afecta significativamente la viabilidad celular de los linfocitos humanos, se detectan residuos de pesticida en dichos extractos, y se observa un efecto significativo en la integridad del ADN de los linfocitos humanos.

$$H_0: \mu_{(50\text{ug})} \dots \neq \dots \mu_{(70\text{ug})}$$

Hipótesis Alternativa (H_1)

La exposición a diferentes concentraciones de extracto de tomate cultivado en el municipio la Playa de Belén afecta significativamente la viabilidad celular de los linfocitos humanos, se detectan residuos de pesticida en dichos extractos, y se observa un efecto significativo en la integridad del ADN de los linfocitos humanos.

$$H_0: \mu_{(70\text{ug})} \dots \neq \dots \mu_{(90\text{ug})}$$

Pregunta de Investigación

Dado que en el departamento de Norte de Santander se emplean diversos pesticidas en la producción de tomate y considerando, además, que es un producto ampliamente consumido y distribuido en todo el país, surge el siguiente interrogante: ¿es posible detectar la presencia de residuos de estos pesticidas en el extracto de tomate y podrían estos inducir algún tipo de daño genotóxico en linfocitos humanos?

Marco Referencial

Antecedentes

El uso de plaguicidas en la agricultura ha sido ampliamente utilizado para controlar la población de insectos y otros organismos que pueden dañar los cultivos, pero estos productos químicos pueden tener efectos negativos en la salud humana, incluyendo el daño genotóxico y citotóxico en los linfocitos humanos, lo que puede llevar a una disminución en la función inmunológica y a una mayor susceptibilidad a las infecciones, por lo que es importante investigar para entender mejor cómo estos productos químicos afectan la salud humana y desarrollar estrategias para minimizar su uso y reducir los riesgos para la salud humana. A continuación, se presentarán una serie de estudios enfocados en el análisis de los efectos de los plaguicidas en linfocitos humanos y demás organismos de estudio, evaluando la magnitud del daño genotóxico y citotóxico causado por estos productos químicos.

Internacionales

El estudio realizado por Nicoloff (2014) en Argentina, lleva por nombre “**Genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina**” que se centró en la toxicidad intrínseca del herbicida flurocloridona y dos de sus formulaciones comerciales, Twin Pack Gold® y Rainbow®. Donde Nicoloff utilizó modelos in vitro con líneas celulares CHO-K1 y HepG2, así como un modelo in vivo basado en larvas de anfibio *Rhinella arenarum*. Su investigación se enfocó en la detección y caracterización de efectos genotóxicos, utilizando varios biomarcadores, como la evaluación de la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas, ensayos cometa y el análisis de micronúcleos. Los resultados obtenidos mostraron claramente la capacidad de los compuestos examinados para inducir daño genético y citotóxico. Nicoloff enfatizó la importancia crítica de realizar una evaluación toxicológica completa antes de

considerar la aplicación generalizada de estos productos, especialmente teniendo en cuenta el riesgo potencial para los organismos expuestos, incluida la población humana.

Por otro lado, en el 2016 llevaron a cabo una investigación exhaustiva sobre la **“Evaluación de daño al ADN en leucocitos de sangre periférica humana expuestos al herbicida glifosato”** donde Barbosa, *et al.* (2017) utilizan el ensayo cometa y determinan la concentración de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), este estudio se centró en la detección de genotoxicidad y la cuantificación de la peroxidación lipídica, un proceso asociado al estrés oxidante. Los resultados mostraron que todas las concentraciones de la formulación comercial de glifosato (glifosato II-Atanor®, glifosato 43.8 %) provocaron un aumento estadísticamente significativo del momento de la cola en comparación con el control negativo. Además, se encontró una correlación entre el aumento de la lipoperoxidación y la fragmentación del ADN, lo que sugiere que el estrés oxidante podría ser uno de los principales factores que alteran el funcionamiento normal de las células, siendo esta la principal consecuencia de la exposición a glifosato.

Priya *et al.* (2024) en su artículo titulado **"Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro"**, evalúa en condiciones de laboratorio la genotoxicidad y el estrés oxidativo inducidos por la exposición a pesticidas en cultivos de linfocitos bovinos. Este estudio investiga los efectos del endosulfán, un pesticida conocido por causar daños severos a los órganos reproductivos y otros tejidos. Los experimentos se llevaron a cabo utilizando grupos de ratones albinos suizos expuestos a endosulfán durante diferentes periodos de tiempo (3, 5 y 7 semanas), observándose efectos negativos significativos a nivel histológico, hormonal y genotóxico. Los resultados mostraron una degeneración histológica notable en los folículos de Graaf, las células de la granulosa y el epitelio germinal en los ovarios

de ratones hembra, así como en los espermatoцитos primarios, espermatogonias, espermátidas y espermatozoides en los túbulos seminíferos de los ratones macho, sugiriendo la necesidad urgente de discontinuar el uso de este pesticida en la agricultura debido a los riesgos significativos para la salud reproductiva y general de la población expuesta.

Nacionales

Monroy *et al.* (2005) en su artículo titulado "**Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato**" analiza la genotoxicidad del glifosato en modelos animales, donde se observaron anormalidades funcionales en enzimas citosólicas y cambios morfológicos en el citoesqueleto de roedores expuestos a diferentes concentraciones de glifosato. Además, la exposición de renacuajos a concentraciones de Roundup® mostró daño en el ADN proporcional a la dosis utilizada. A pesar de que algunas investigaciones sugieren que el glifosato es un herbicida de bajo riesgo para la salud humana y animal, la controversia persiste, especialmente en países como Colombia donde se utiliza ampliamente en la erradicación de cultivos ilícitos y como desecante de cultivos de caña de azúcar. Es crucial avanzar en el conocimiento sobre la genotoxicidad y citotoxicidad de este herbicida para esclarecer su impacto en la salud y el medio ambiente.

El documento "**Evaluación de la genotoxicidad de una presentación comercial del glifosato para uso agrícola en la línea celular HEK 293**" realizado por Felizzola. (2022) se enfoca en la evaluación de la genotoxicidad de una presentación comercial del glifosato en la línea celular HEK 293, utilizando ensayos como el de micronúcleos y el ensayo cometa. Los resultados obtenidos indican que la presentación comercial del glifosato no mostró efectos genotóxicos significativos en esta línea celular, lo cual tiene implicaciones importantes para la seguridad del glifosato en el ámbito agrícola y su impacto en la salud humana.

Regionales

En el artículo “**Actividad genotóxica inducida por extracto de fresa fumigada con pesticidas en Pamplona, Norte de Santander, Colombia**” de Pabuena *et al.* (2015) evidenciaron que el extracto de fresas cultivadas bajo fumigación con pesticidas provocó un alto porcentaje de células dañadas, principalmente categorizadas en los tipos de daño medio y alto, mientras que el extracto de fresas cultivadas sin pesticidas y el control negativo no mostraron diferencias significativas en cuanto a daño genotóxico. Estos hallazgos sugieren que el daño genotóxico observado está directamente relacionado con la presencia de residuos de pesticidas en el extracto de fresa, siendo la combinación y tipo de pesticidas utilizados durante la fumigación factores determinantes en la magnitud del daño genotóxico. Estos resultados resaltan la importancia de considerar el impacto de los pesticidas en la actividad genotóxica y la necesidad de implementar medidas de protección para prevenir los efectos adversos de la exposición a pesticidas en la salud de la población consumidora.

En Pamplona se realizó un estudio sobre el “**Efecto citotóxico y genotóxico del glifosato en su formulación comercial Roundup sobre linfocitos humanos**”. La autora Almeida (2018), investigó la viabilidad celular y el daño genético utilizando métodos de exclusión celular por azul tripano y tinción con sulforodamina B en linfocitos humanos cultivados *in vitro*. Los resultados demostraron una concentración inhibitoria del crecimiento del 50% de la población celular, con valores promedio de 63.08 µg/ml para el azul tripano y 58.69 µg/ml para la sulforodamina B. Además, se observó una tendencia creciente de daño genotóxico con el aumento de la concentración de glifosato, lo cual está relacionado con un incremento en las alteraciones genéticas celulares. Estos hallazgos subrayan la necesidad de una evaluación

toxicológica exhaustiva antes de la aplicación generalizada de estos productos debido al potencial riesgo para los organismos expuestos, incluida la población humana.

En el estudio realizado por Verjel (2019) titulado **“Evaluación del efecto genotóxico inducido por exposición laboral a pesticidas en agricultores del municipio de Ábrego, Norte de Santander”** se encontró un alto nivel de daño genotóxico en agricultores expuestos a pesticidas en el municipio de Ábrego, Norte de Santander. El ensayo cometa realizado en muestras de sangre periférica de los agricultores reveló un daño genotóxico significativamente mayor en comparación con un grupo de control no expuesto. Se observó que la combinación y el tipo de pesticidas utilizados durante la fumigación estaban directamente relacionados con la magnitud del daño genotóxico, mostrando mayores niveles de daño a medida que aumentaba la combinación de pesticidas. Además, se encontró una relación proporcional entre la dosis de pesticidas aplicada y el nivel de daño en las células, siendo el glifosato el pesticida que causó el mayor daño en los linfocitos analizados. Estos resultados subrayan la importancia de implementar medidas de protección adecuadas para prevenir los efectos negativos de la exposición laboral a pesticidas en la salud de los agricultores.

Marco Teórico

Generalidades del tomate

Historia. El tomate, originario de la Región Andina de América del Sur, incluyendo Chile, Ecuador, Bolivia, Perú y Colombia, fue domesticado en el sur de México y el norte de Guatemala, de donde proviene su nombre náhuatl "tomatl". Introducido a Europa en el siglo XVI, primero en España y luego en Italia, Inglaterra, España y Francia, el tomate se cultivaba inicialmente como planta ornamental debido a la belleza y color de sus frutos. A finales del siglo XVIII, comenzó a producirse como alimento en Europa, mientras que en los Estados Unidos se cultivó primero como ornamental tras su llegada en 1711, comenzando su consumo como alimento alrededor de 1850. En el siglo XIX, el tomate adquirió gran importancia económica mundialmente, con la primera variedad comercial registrada en 1828 y la primera variedad mejorada, ‘ponderosa’, desarrollada en 1900, formando la base de muchas variedades actuales gracias a esfuerzos de mejoramiento durante las décadas de 1920 y 1930. (Jaramillo *et al.*, 2006)

En la actualidad, el tomate desempeña un papel fundamental en la economía agrícola global, siendo la hortaliza más cultivada a nivel mundial y un componente esencial en la dieta de diversas regiones, con un impacto significativo en la gastronomía. Los principales productores de tomate incluyen China, Estados Unidos, Turquía, Egipto, Italia, India, Irán, España, Brasil y México, que juntos representan aproximadamente el 70% de la producción mundial (Jaramillo *et al.*, 2012). Por otro lado, en Colombia, el cultivo del tomate está distribuido en 24 departamentos, aunque cerca del 89,7% de la producción se concentra en 9 departamentos y los 15 restantes contribuyen en un 10,3% observados en la **tabla 1**. (Minagricultura, 2014)

Tabla 1

Principales departamentos productores de tomate en Colombia para el año 2014

Departamento	Producción (t)	Producción (%)
Norte de Santander	118.281	19,5
Antioquia	108.792	17,9
Boyacá	79.816	13,2
Cundinamarca	58.579	9,7
Santander	57.589	9,5
Nariño	39.269	6,5
Valle del Cauca	28.986	4,8
Caldas	28.768	4,7
Huila	23.793	3,9
15 departamentos	62.251	10,3
Total	606.124	100

Nota. La producción de un año, provienen de las siembras del segundo semestre del año anterior y de las siembras del primer semestre del año en mención. Los 15 departamentos resumidos son; Tolima, Magdalena, Cauca, Vichada, Cesar, Quindío, La Guajira, Risaralda, Atlántico, Caquetá, Chocó, Casanare, Córdoba, Meta y Bolívar. Derechos de autor Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Secretarías de Agricultura Departamentales. Alcaldías Municipales, 2014.

Taxonomía. El tomate es una planta dicotiledónea de la familia Solanaceae, perteneciente al género *Solanum*, este abarca una amplia variedad de variedades silvestres asociadas. Los tomates cultivados se clasifican dentro del subgénero *Eulycopersicon*, cuyos frutos experimentan un cambio de color de verde a rojo durante la maduración. Por otro lado, las otras especies se encuentran dentro del subgénero *Eriopersicon*, donde los frutos permanecen verdes al madurar. Estas especies son significativas para el desarrollo de nuevas variedades, ya que se emplean como fuente de resistencia frente a numerosas enfermedades causadas por patógenos y factores fisiológicos. (Jaramillo *et al.*, 2012)

Tabla 2

Clasificación taxonómica de *Solanum lycopersicum*.

Taxón	Nombre
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Subfilo	Angiospermae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum lycopersicum</i>

Fuente: Garzón, 2011

Cultivo de tomate. Este alimento se ha cultivado utilizando diversas técnicas y prácticas a lo largo de los años, incluida la aplicación frecuente de pesticidas. Dado que, los tomates requieren de cuidado especial, se utiliza con frecuencia diversos tipos de pesticidas con la finalidad de controlar las plagas atraídas por las características organolépticas que presentan estas frutas en condiciones normales y dicho uso, contribuye evidentemente en un aumento de la producción para mantener las plagas bajo control y aumentar la productividad de los cultivos. (Ordoñez *et al.*, 2019). Sin embargo, a medida que aumenta el conocimiento de los posibles efectos negativos de los pesticidas en la salud humana y el medio ambiente, incentiva la necesidad de evaluar y comprender más estos efectos. (Romero y Tovar, 2019), por consiguiente, es necesario determinar si los pesticidas están presentes en el tomate producido en los dos municipios seleccionados de Norte de Santander y si pueden tener algún efecto sobre la salud humana.

Producción de tomate en Norte de Santander. Anualmente en Colombia se produce un valor aproximado a 632.268 toneladas, y específicamente en el departamento de Norte de Santander, se acerca a una producción de 62.945 toneladas. Donde los municipios que registran la mayor producción de tomate son; Ocaña, La playa de Belén, Ábrego y El Zulia (tanto en campo abierto como en invernadero), como se muestra en la **tabla 3** representando el 74% de la producción (Sepúlveda, 2016).

Tabla 3

Municipios con mayor producción de tomate en el departamento de Norte de Santander.

Municipio	Cantidad (ton)
Ocaña	31.520
La Playa	6.000
Ábrego	5.012
El Zulia	4.200

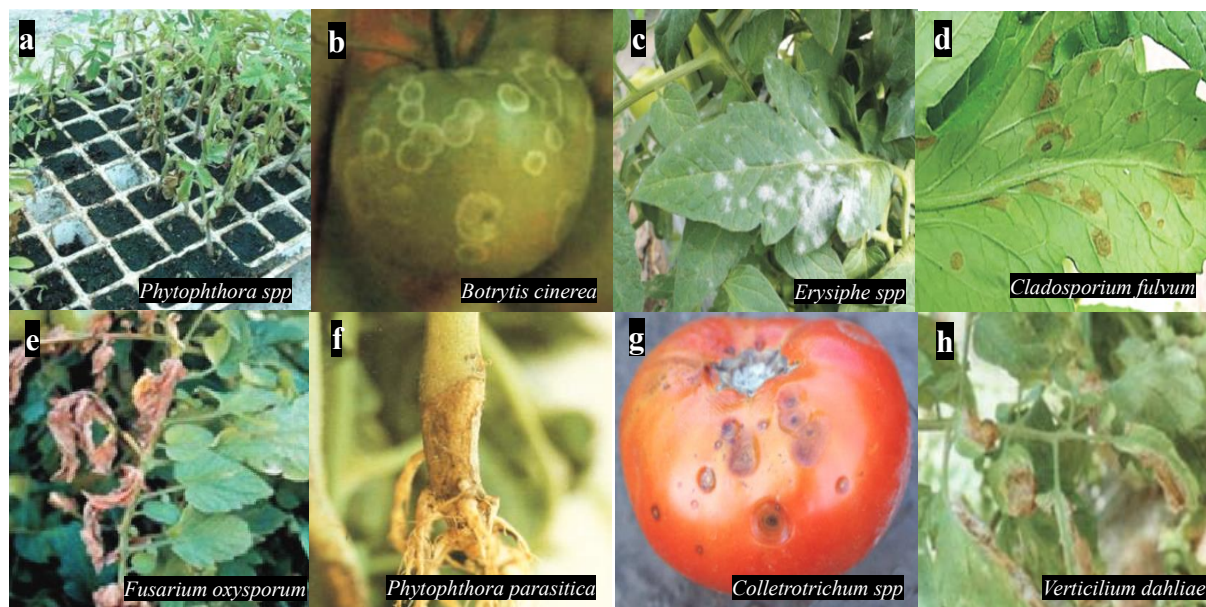
Nota. Los valores de la cantidad en tonelada están sujetos a la producción anual, el valor que se muestra fue el presentado para el año 2015. Fuente. Minagricultura, 2018.

Principales enfermedades. A continuación, se detallan las enfermedades más relevantes desde una perspectiva económica, causadas por diversos agentes y condiciones en el cultivo de tomate.

Causadas por Hongos. Las enfermedades causadas por hongos en el cultivo de tomates pueden incluir el mal de los almácigos, moho gris, oidio, tizón temprano, tizón tardío, fusariosis, verticiliosis, entre otras. Estas enfermedades pueden manifestarse a través de síntomas como manchas, moho en hojas y frutos, marchitamiento, amarilleo de hojas, y pudrición de tallos y raíces. El manejo de estas enfermedades suele implicar prácticas de saneamiento, rotación de cultivos, uso de fungicidas y variedades resistentes. (FAO, 2013)

Figura 1

Principales patógenos fúngicos del tomate.

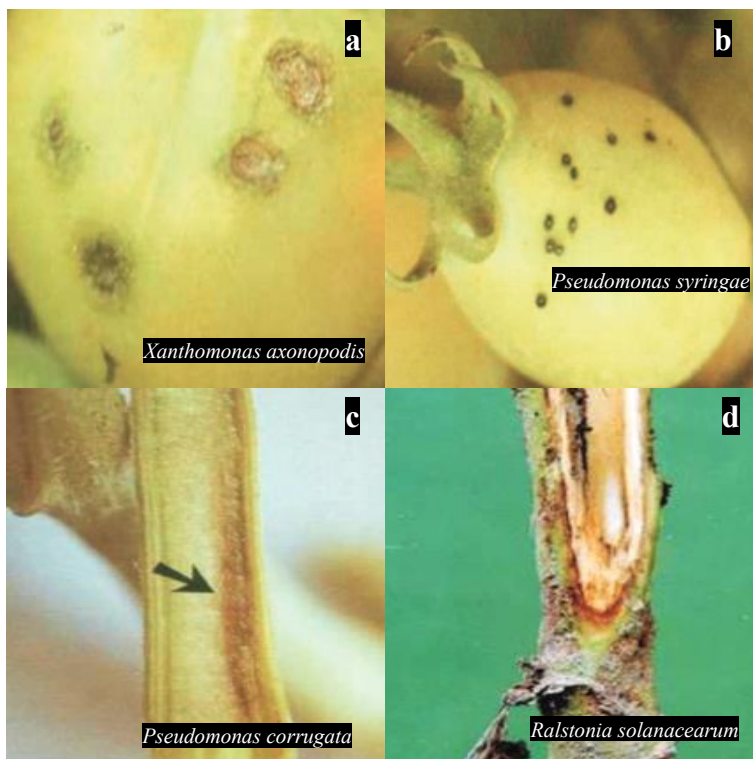


Nota. En la imagen superior **a**. Se observa la patología por el mal de los almácigos en plantines de tomate, la imagen **b**. Moho gris en plantas de tomate, la **c**. enfermedad foliar de oidio, la **d**. Moho de las hojas, la **e**. Fusariosis en distintos órganos, la **f**. Podredumbre del tallo y de la raíz, **g**. Antracnosis en el fruto, **h**. Verticiliosis en hojas y tallos en la planta de tomate. Fuente. FAO, 2013.

Causadas por Bacterias. Las enfermedades bacterianas en el cultivo de tomates incluyen el cancro bacteriano, mancha bacteriana, peca bacteriana, necrosis de la médula, marchitamiento bacteriano y podredumbre blanda del tallo. Estas enfermedades pueden provocar síntomas como marchitamiento irreversible, manchas en hojas, descomposición de tejidos y pudrición de tallos observe la figura 2. El control de estas enfermedades puede implicar la eliminación de plantas infectadas, desinfección de herramientas y uso de bactericidas. (FAO, 2013)

Figura 2

Principales patógenos bacterianos del tomate.



Nota. En la imagen **a.** Se observa la patología por el Cancro Bacteriano en diversos órganos, **b.** Peca Bacteriana **c.** Necrosis de la médula **d.** Marchitamiento Bacteriano. Fuente. FAO, 2013.

Causadas por Virus. Las enfermedades virales en el cultivo de tomates pueden incluir la peste negra, mosaico y virus de la cuchara. Estas enfermedades se manifiestan a través de síntomas como manchas, deformaciones, mosaicos en hojas y frutos, y anillos oscuros en los frutos, visualice la figura 3. El manejo de enfermedades virales implica el control de insectos vectores, eliminación de plantas enfermas y uso de variedades resistentes. (FAO, 2013)

Figura 3

Principales patógenos por virus en la planta de tomate.

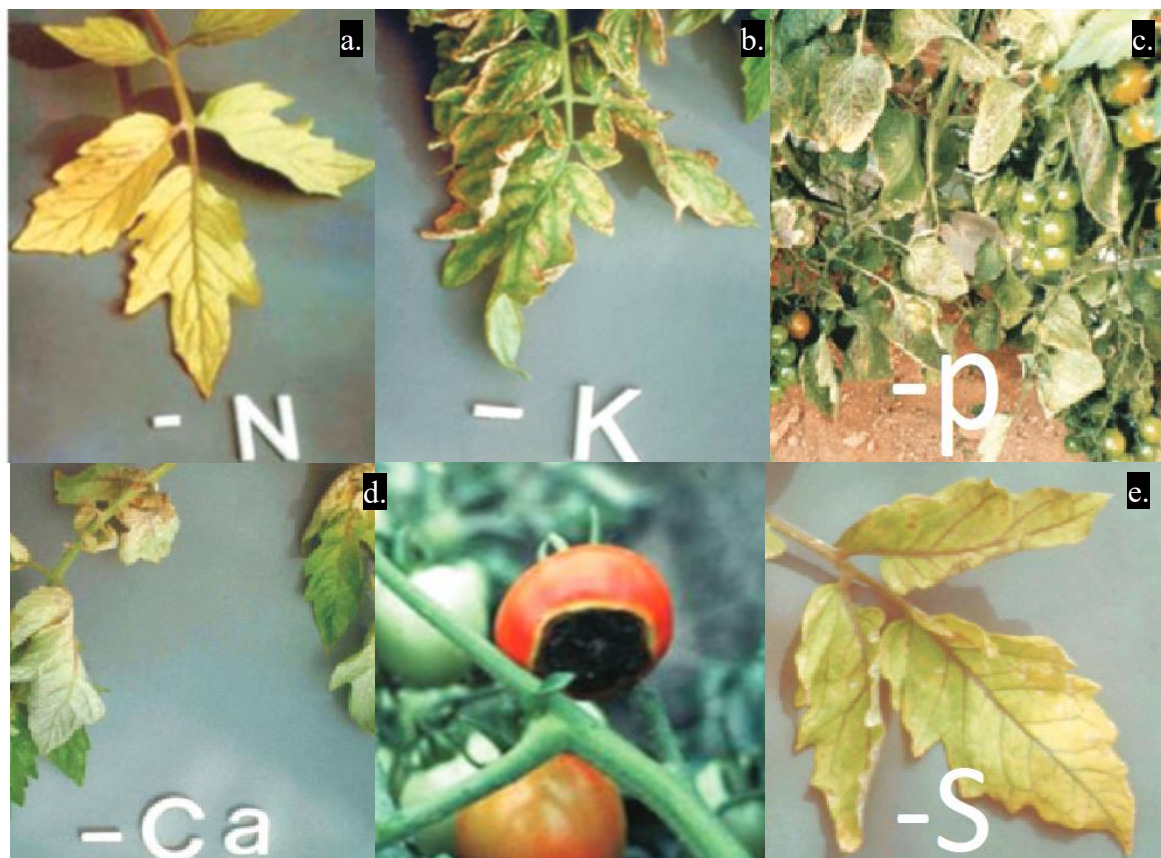


Nota. En las imágenes superiores se observa **a.** Virus del mosaico, **b.** Peste Negra en la planta de tomate; **c.** Virus de la cuchara. Fuente. FAO, 2013.

Por Macronutrientes. Las fisiopatías relacionadas con los macronutrientes en la producción de tomates pueden incluir deficiencias de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio. Estas deficiencias pueden manifestarse a través de síntomas como hojas amarillentas, retraso en el crecimiento, deformaciones en frutos y debilidad general de las plantas. El manejo de estas deficiencias implica la aplicación de fertilizantes balanceados y ajustes en la nutrición del suelo. (FAO, 2013)

Figura 4

Manifestaciones por deficiencias en macronutrientes.



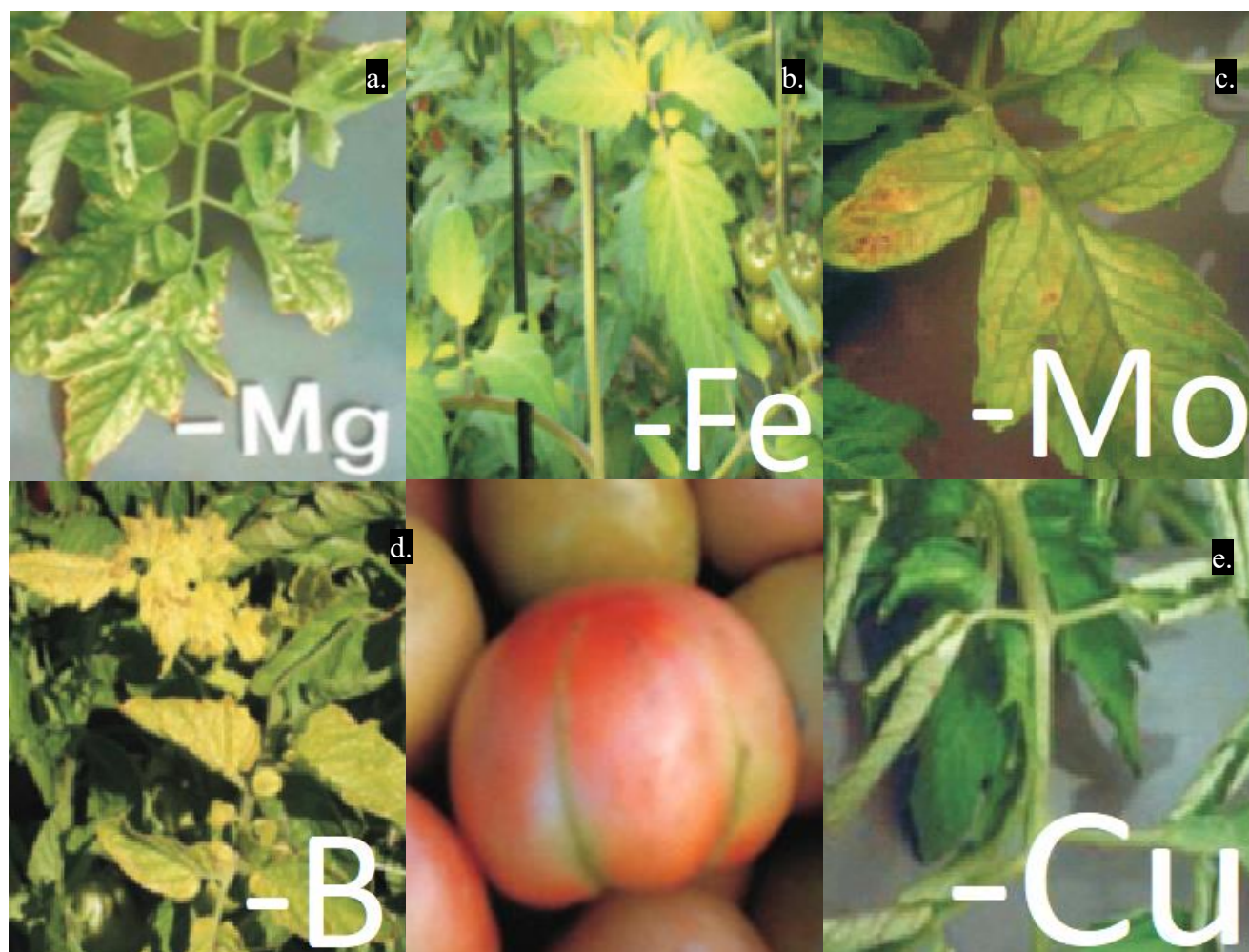
Nota. En la imagen se observa la deficiencia en **a.** Nitrógeno, **b.** Potasio, **c.** Fósforo, **d.** Calcio, **e.** Azufre. *Fuente.* FAO, 2013.

Por Micronutrientes. Los micronutrientes son elementos esenciales para el crecimiento de las plantas, y su deficiencia puede afectar la salud y productividad de los tomates. Entre los micronutrientes importantes se encuentran el hierro, zinc, manganeso, cobre, boro y molibdeno. Las deficiencias de estos micronutrientes pueden provocar síntomas como clorosis, necrosis, deformaciones en hojas y frutos, y retraso en el crecimiento. El manejo de las deficiencias de

micronutrientes implica la aplicación de fertilizantes específicos y ajustes en el pH del suelo para mejorar la disponibilidad de estos elementos. (FAO, 2013)

Figura 5

Manifestaciones por deficiencias en micronutrientes.



Nota. En la imagen se observa la deficiencia en **a.** Magnesio, **b.** Hierro, **c.** Molibdeno, **d.** Boro, **e.** Cobre. *Fuente.* FAO, 2013.

Agricultura convencional

Se muestra como el modelo de producción agrícola más extendido en el planeta, ya que persigue la eficiencia y la rentabilidad económica a través de plantaciones intensivas de monocultivo, recurriendo al uso extensivo de maquinaria agrícola y tratamientos químicos. Algunas de las principales características de la agricultura convencional son el uso de semillas tradicionales y mejoradas genéticamente, la integración de herramientas innovadoras y tecnológicas, la preparación intensiva de los terrenos de cultivo, la nutrición y protección de los cultivos con productos orgánicos y químicos, y la búsqueda de máxima producción y rentabilidad.

Los plaguicidas

Incluyen una gran variedad de sustancias que regulan el crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída temprana de la fruta, además de las sustancias aplicadas a los cultivos previo y posterior a la cosecha, para proteger el producto contra las desmejoras en el almacenamiento y traslado. Estos pueden estar compuestos química o biológicamente, de este modo, se encuentran aproximadamente 1000 principios activos de composición química con los que se desprenden 30000 formulados, por otro lado, los plaguicidas biológicos presentan cerca de 195 principios activos y se pueden producir hasta 780 productos diferentes. Esta considerable cantidad de agregados son elaborados desde diferentes principios activos a los que se mezclan con excipientes o diluyentes denominados ingredientes inertes, que constituyen gran parte del producto y que generalmente produce efectos que pueden ser más nocivos que el ingrediente activo, por lo que solo el contacto puede proporcionar un riesgo y conlleva a que se clasifiquen de varias formas para facilitar y permitir cierto control o conocimiento de los efectos adversos

sobre el ambiente y la salud a las personas que constantemente los manipulan (del Puerto *et al.*, 2014).

Aplicación. Estos compuestos químicos son utilizados para controlar plagas en la agricultura y en la salud pública. Siendo así, el 85% de la producción mundial de plaguicidas utilizado en la agricultura, mientras que el 10% se utiliza en la salud pública, principalmente para el control de enfermedades transmitidas por vectores y roedores. Sin embargo, el abuso de plaguicidas puede llevar a nuevos brotes de plagas, selección de poblaciones de plagas resistentes, riesgos para la salud humana y para el medio ambiente. Por lo tanto, en algunos países están reformando sus políticas para reducir estos problemas y garantizar una producción de alimentos intensificada mediante la aplicación de alternativas a los plaguicidas. Además, la exposición a los plaguicidas puede ser peligrosa para la salud humana, especialmente para aquellos que están directamente expuestos a ellos, como los trabajadores agrícolas. Por lo tanto, se han establecido límites máximos de residuos de plaguicidas en los alimentos y el agua para proteger la salud pública (del Puerto *et al.*, 2014).

Tabla 4

Principales áreas de aplicación frecuente de plaguicidas.

Actividad	Porcentaje (%)
Agricultura	85
Salud Pública	10
Ganadería, tratamiento de estructuras, cuidado de animales domésticos y mantenimiento de áreas verdes.	5

Fuente. del Puerto *et al.*, 2014

Clasificación toxicológica. Estos exhiben diversas clasificaciones dependiendo de la función de algunas de sus características principales, observe Tabla 5, en esencia, se tiene en cuenta la toxicidad aguda, la vida media, estructura química y el uso; con esto, en 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, definida como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un lapso de tiempo relativamente corto. Usualmente, la dosis se registra como el valor de Dosis Letal Media (DL50) o de la concentración letal media (CL 50), que es la dosis requerida para matar al 50% de la población de animales de prueba y se expresa en términos de mg/kg tomando como referencia, el peso del cuerpo del animal. Ambos parámetros varían conforme a múltiples factores como la presentación del producto (sólido, gel, líquido, gas, polvo), la vía de entrada (oral, dérmica, respiratoria), la temperatura, la dieta, la edad, el sexo, etc. Sin embargo, esta información no proporciona datos relacionados con los efectos crónicos ni con la citotoxicidad. (del Puerto *et al.*, 2014).

Tabla 5

Clasificación toxicológica de los pesticidas basado en la DL50 o CL50.

Clase	Por vía oral		Por vía dérmica	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Clase IA. Sumamente tóxico	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Clase IB. Muy tóxico	5-50	20-200	10-100	40-400
Clase II. Moderadamente tóxico	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Clase III. Ligeramente tóxico	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000

Fuente. del Puerto *et al.*, 2014

Clasificación química de los plaguicidas.

Organoclorados. Esta categoría incluye compuestos conocidos por su persistencia en el medio ambiente. Uno de los ejemplos más emblemáticos es el DDT (di-cloro difenil tricloroetano), que, aunque está prohibido en gran parte del mundo debido a su impacto ambiental y en la salud humana, todavía se usa en algunas regiones debido a su eficacia y bajo costo. Otros organoclorados notables son el lindano, metoxiclor, atracina, aldrin, dieldrin y simazina (del Puerto *et al.*, 2014).

Organofosforados. Principalmente empleados como insecticidas, los organofosforados son menos persistentes que los organoclorados y se caracterizan por su toxicidad más selectiva. Estos compuestos han reemplazado en gran medida a los organoclorados en aplicaciones agrícolas. Algunos ejemplos comunes incluyen el paratión, malatión, metidatión, fenitrotión y diazinón (del Puerto *et al.*, 2014).

Carbamatos. Utilizados en insecticidas, herbicidas y fungicidas, los carbamatos son menos tóxicos en comparación con los organoclorados. Entre los ejemplos más conocidos se encuentran el carbofurán, dimetoato, mobán y propoxur (del Puerto *et al.*, 2014).

Piretrinas. Aunque menos comunes en algunas regiones, las piretrinas se utilizan como insecticidas. Estas sustancias incluyen piretrinas naturales y sintéticas, estas últimas conocidas como piretroides. Un compuesto destacado es el pelitre, uno de los primeros insecticidas conocidos en la historia. Las piretrinas se caracterizan por su rápida degradación y su escasa acumulación en los organismos (del Puerto *et al.*, 2014).

Otros compuestos. Existen numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos que se utilizan como plaguicidas, especialmente en la agricultura, como herbicidas y fungicidas. Algunos ejemplos adicionales incluyen triazinas, anilinas y derivados de azufre, mercurio y

arsénico (del Puerto *et al.*, 2014).

Cada categoría de plaguicidas posee propiedades específicas y niveles de toxicidad, lo que subraya la importancia de una gestión adecuada y de la consideración de su impacto en la salud humana y el medio ambiente en general (del Puerto *et al.*, 2014).

Tabla 6

Clasificación de los plaguicidas, según la familia química.

Familia química	Ejemplos
Organoclorados	DDT, aldrín, endosulfán, Endrín
Organofosforados	Bromophos, diclorvos, malatión
Carbamatos	Carbaryl, methomyl, propoxur
Tiocarbamatos	Ditiocarbamato, mancozeb, maneb
Cypermethrin, fenvalerato, permetrín	Cypermethrin, fenvalerato, permetrín
Derivados Bipiridilos	Cloromequat, diquat, paraquat
Derivados del ácido fenoxiacético	Dicloroprop, piclram, silvex
Derivados cloronitrofenólicos	DNOC, dinoterb, dinocap
Derivados de triazinas	Atrazine, ametryn, desmetryn, simazine
Compuestos Orgánicos del Estaño	Cyhexatin, dowco, plictran
Compuestos Inorgánicos	Arsénico, pentóxido, obpa, fosfito de magnesio,
Compuestos de origen Botánico	Rotenona, nicotina, aceite de canola

Fuente. Yañez, 2017

Metodología para detectar la presencia de residuos de pesticida

La cromatografía de gases. (GC) es una técnica de separación muy utilizada en el análisis de residuos de plaguicidas, debido a su alta sensibilidad y selectividad gracias a los detectores que emplea, como el detector de captura de electrones (ECD), la micro captura de electrones (μ ECD), el detector de nitrógeno-fósforo (NPD) y la espectrometría de masas (MS), entre otros (Colume *et al.*, 2001). Cualquier método analítico para la determinación de plaguicidas debe ser rápido, económico y adaptable, con pocas modificaciones necesarias al cambiar la matriz.

Las técnicas de laboratorio empleadas para la biomonitorización de plaguicidas y sus metabolitos son variadas y especializadas. La tabla 7 proporciona una lista de las más comunes, clasificadas según las diferentes familias químicas de plaguicidas a las que se aplican, lo que facilita la selección del método adecuado para cada tipo de plaguicida (Organización Mundial de la Salud, 1990)

Tabla 7

Técnicas de análisis para la detección y control biológico de plaguicidas.

Método de análisis	Tipo de plaguicida detectado
Cromatografía de gases	Organoclorados, organofosforados y carbamatos.
Cromatografía líquida de gases	Organoclorados y piretroides.
Cromatografía líquida de alta resolución	Organoclorados y organofosforados.
Detección por electrón captura Organoclorados	Organoclorados.
Análisis de neutrón activación Organoclorados	Organoclorados.
Espectrofotometría de masas	Organoclorados, organofosforados y carbamatos.
Espectroscopia de masas de alta resolución	Espectroscopia de masas de alta resolución Organoclorados, organofosforados y carbamatos.
Dilución de isótopos	Dilución de isótopos Organoclorados, organofosforados y carbamatos

Fuente. Ramírez & Lacasaña, 2001

Del mismo modo, es posible analizar un mismo conjunto de muestras utilizando dos o tres pruebas simultáneas para mejorar tanto la sensibilidad como la especificidad (Al-Saleh I, 1994). Aunque la monitorización biológica puede ser considerada el método ideal para medir la exposición a plaguicidas, presenta algunas limitaciones importantes. Principalmente, las pruebas solo han sido desarrolladas para un número relativamente pequeño de ingredientes activos,

debido a la falta de información suficiente y adecuada sobre el metabolismo de muchos compuestos químicos en humanos (Hill *et al.*,1995).

Agroecología

En contraste, esta rama se presenta como un enfoque interdisciplinario que busca abordar los desafíos derivados de la agricultura convencional y los modelos de desarrollo económico aplicados a los sistemas de producción. Así mismo se fundamenta en la aplicación de principios ecológicos para promover la sostenibilidad en los sistemas productivos, integrando aspectos sociales, económicos y políticos en su análisis. Este enfoque se define como el manejo ecológico de los recursos naturales a través de acciones colectivas que buscan alternativas a la crisis de modernidad, fomentando la participación y la sostenibilidad en la producción y consumo, mientras fortalece los sistemas de producción con un enfoque respetuoso hacia las estructuras ecológicas y sociales (Monje, 2011).

Fundamentos jurídicos

La reglamentación es una herramienta fundamental para mostrar los cambios, perspectivas y acciones en relación con los contextos económicos, sociales, políticos y ambientales de un país. En este sentido, para cumplir con los estándares de calidad, cada nación establece sus propias regulaciones específicas. A continuación, se ofrece un resumen de las principales leyes, decretos, resoluciones y normas que regulan la comercialización de frutas y hortalizas en Colombia.

A nivel nacional

Marco legal

Ley 101 de 1993 - Congreso de Colombia. Ley General de Desarrollo Agropecuario y Pesquero. Esta ley desarrolla los artículos 64, 65 y 66 de la Constitución Nacional, con el

propósito de proteger el desarrollo de las actividades agropecuarias y pesqueras, promoviendo la mejora del ingreso y calidad de vida de los productores rurales. Esta ley establece los principios y directrices para fomentar el desarrollo sostenible en estos sectores estratégicos.

Ley 2046 de 2020 - Congreso de Colombia. Esta ley establece mecanismos para incentivar la participación de pequeños productores locales agropecuarios y de la agricultura campesina, familiar y comunitaria en los mercados de compras públicas de alimentos, promoviendo la inclusión y fortalecimiento de estos sectores en la economía nacional.

Anotación de decreto

Decreto 1076 de 2015 - Presidencia de la República de Colombia. Este decreto emite el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible, unificando y consolidando la normativa ambiental del país para facilitar su comprensión y aplicación, asegurando un marco legal coherente para la protección del medio ambiente y el desarrollo sostenible.

Catálogo de resoluciones

Resolución 001806 del 7 de septiembre de 2004 - Instituto Colombiano Agropecuario. Esta resolución establece disposiciones para el registro y manejo de predios de producción de fruta fresca para exportación y el registro de exportadores, asegurando la trazabilidad y calidad de los productos destinados a mercados internacionales.

Resolución 148 de 2004 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Esta resolución crea el Sello de Alimento Ecológico y regula su otorgamiento y uso, promoviendo la producción y consumo de alimentos ecológicos, incentivando prácticas agrícolas sostenibles y amigables con el medio ambiente.

Resolución 187 de 2006 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Adopta el Reglamento para la producción primaria, procesamiento, empaquetado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación y comercialización de productos agropecuarios ecológicos, estableciendo un marco normativo para asegurar la calidad y sostenibilidad de estos productos en el mercado.

Resolución 2964 de 2008 - Instituto Colombiano Agropecuario. Establece disposiciones para el registro y manejo de predios de producción de hierbas aromáticas y hortalizas para exportación en fresco y el registro de exportadores, facilitando la exportación de estos productos y asegurando su cumplimiento con las normas internacionales de calidad.

Resolución 199 de 2016 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Modifica parcialmente el Reglamento para la producción primaria, procesamiento, empaquetado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación y comercialización de productos agropecuarios ecológicos, adoptado mediante la Resolución 187 de 2006, actualizando los estándares para mejorar la competitividad y sostenibilidad del sector.

Resolución 448 de 2016 - Instituto Colombiano Agropecuario. Establece los requisitos para el registro de predios de producción de vegetales para exportación en fresco, el registro de exportadores y plantas empacadoras, asegurando la calidad y trazabilidad de los productos agrícolas exportados.

Resolución 20009 de 2016 - Instituto Colombiano Agropecuario. Establece los requisitos para la certificación en Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en producción primaria de vegetales y otras especies para consumo humano, promoviendo prácticas agrícolas seguras y sostenibles que aseguren la calidad de los alimentos.

Resolución 464 de 2017 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Establece los lineamientos estratégicos de política pública para la agricultura campesina, familiar y comunitaria, reconociendo la soberanía alimentaria, la agroecología y los sistemas participativos de garantía, fortaleciendo el desarrollo de estos sectores y promoviendo su inclusión en la economía nacional.

Resolución 068370 del 27 de mayo de 2020 - Instituto Colombiano Agropecuario. Establece los requisitos para el registro de productores, productores por contrato, envasadores, importadores y departamentos técnicos de ensayos de eficacia agronómica de bioinsumos para uso agrícola, regulando el uso de bioinsumos y promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles.

Resolución 75486 de 2020 - Instituto Colombiano Agropecuario. Establece los requisitos y procedimientos para el registro o ampliación de uso de plaguicidas químicos de uso agrícola y bioinsumos a través del mecanismo de historial de uso, asegurando el uso seguro y eficaz de estos productos en la agricultura.

Resolución 00017822 de 19 de septiembre de 2022 - Instituto Colombiano Agropecuario. Modifica el anexo 1 de la Resolución ICA 75486 de 2020, actualizando las normas para el registro de plaguicidas y bioinsumos para asegurar su eficacia y seguridad.

Documento de Normas Técnicas Colombianas

NTC 1103-1 de 1995. Armonizada con la norma UN/ECE FFV-36, establece los requisitos de calidad del tomate para el consumo en fresco en cuanto a grados de madurez, clasificación, tamaño, tolerancia y contenido de pesticidas, garantizando la calidad y seguridad del producto para los consumidores.

NTC 5522-2007. Buenas prácticas agrícolas. Trazabilidad en la cadena alimentaria para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas, asegurando la transparencia y control de la cadena de suministro desde la producción hasta el consumo.

NTC 5400-2012. Buenas prácticas agrícolas para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas. Requisitos generales, estableciendo directrices para la producción segura y sostenible de estos productos.

NTC 4103. Frutas Frescas. Especificaciones para la fresa variedad Chandler, asegurando que estas frutas cumplan con los estándares de calidad necesarios para su comercialización.

A nivel internacional

Los reglamentos internacionales sirven como referencia para actualizar y ejecutar las normas nacionales, asegurando que los productos colombianos cumplan con los estándares globales. Entre estas se incluyen las Normas de calidad del Codex Alimentarius, las Normas de calidad de la Unión Europea y las Normas de calidad vigentes en Estados Unidos. A continuación, se destacan las más relevantes:

Codex Alimentarius - CODEX STAN 297-2007. Con especificaciones en las **CAC/RCP 44-1995-CAC/RCP 53-2003.** Establecido por la FAO, este código alimentario de referencia internacional garantiza alimentos inocuos y de calidad, proporcionando lineamientos para las labores de empaque, transporte e higiene de frutas y hortalizas frescas, contribuyendo a la inocuidad, calidad y equidad en el comercio internacional de alimentos.

Reglamento (CE) 834 de 2007. Este reglamento establece la obligación de someter a los agricultores, importadores y transformadores que deseen comercializar productos de producción ecológica a un régimen de control para garantizar que se respeten las normas de producción y que no se utilicen técnicas incompatibles con este sistema de gestión agraria y producción.

Asegura que los productos ecológicos cumplan con los estándares de calidad y sostenibilidad exigidos en el mercado europeo.

Norma GLOBALG.A.P. En cuanto a frutas y hortalizas, se abordan todas las fases de la producción, abarcando desde las actividades previas a la cosecha, como el manejo del suelo y el uso de productos fitosanitarios, hasta el procesamiento posterior a la cosecha, incluyendo el empaque y almacenamiento. Se tienen en cuenta factores como la seguridad alimentaria, el impacto ambiental, y la salud, seguridad y bienestar tanto de los trabajadores como de los animales. Esta normativa garantiza que los productos agrícolas cumplan con los más altos estándares internacionales de calidad y sostenibilidad.

Genotoxicidad

Es el término utilizado para describir la capacidad de ciertos agentes químicos, físicos o biológicos de causar daño a la información genética y al contenido relacionado con el funcionamiento y comportamiento de los cromosomas dentro de las células, incluidas las afectaciones en la división celular con la aparición de micronúcleos, aberraciones cromosómicas como; el rompimiento cromosómico, número irregular de cromosomas homólogos e intercambio de cromátidas hermanas, daños premutagénicos como; el rompimiento de una o ambas hebras de ADN, al igual que la formación de ADN aductos y daños mutagénicos con el erróneo emparentamiento de bases nitrogenadas. Los efectos de las sustancias químicas genotóxicas y mutagénicas son comparables y ambos tienen el potencial de producir mutaciones que provocan cáncer y otros trastornos. (Ren *et al.*, 2017)

La genotoxicidad se desarrolla en tres etapas: en la primera, llamada iniciación, la célula experimenta alteraciones genómicas debido a la acción de un procancerígeno, conocido como agente iniciador o carcinógeno incompleto. La segunda etapa, llamada promoción, es provocada

por un agente promotor que causa la expansión selectiva de las células iniciadas, resultando en alteraciones en la transducción de señales celulares. Finalmente, la etapa de progresión ocurre debido a un agente progresor que transforma las células afectadas por el xenobiótico en células potencialmente malignas, siendo este un proceso irreversible (Boada, 2004). Por otro lado las lesiones en el ADN pueden provocar tres posibles respuestas en la célula. En primer lugar, la reparación del daño celular, que previene las mutaciones. En segundo lugar, la apoptosis, que sucede cuando la replicación celular se ve obstaculizada. Por último, la replicación de las mutaciones, lo que puede resultar en procesos cancerosos o malformaciones congénitas (Jiménez & Repetto, 2009)

Agentes genotóxicos

Estos agentes pueden ser de naturaleza física, química o biológica. Entre los agentes físicos se encuentran la temperatura, la luz ultravioleta, y las radiaciones ionizantes y electromagnéticas. Los agentes químicos incluyen alquilantes, acridinas, oxidantes, agentes redox, compuestos alifáticos y aromáticos, entre otros. Finalmente, los agentes biológicos comprenden esporas micóticas, virus, bacterias y ciertos parásitos. En otro aspecto los agentes genotóxicos pueden inducir procesos cancerígenos a través del metabolismo de xenobióticos, convirtiendo sustancias procancerígenas en cancerígenas, lo que impide la reparación del material genético y estimula la proliferación celular. Este efecto es principalmente causado por sustancias químicas que forman enlaces covalentes, resultando en mutaciones irreversibles (Abrevaya, 2008).

Metodología para evaluar la genotoxicidad

El ensayo cometa. se considera una herramienta ideal en estudios toxicológicos por varias razones. Su rapidez y sencillez lo hacen accesible para diversos tipos de análisis, mientras

que su alta sensibilidad permite detectar incluso pequeñas roturas en el ADN de células individuales. Además, su bajo costo lo hace asequible para laboratorios con recursos limitados. Este método no solo es eficaz para identificar roturas en el ADN, sino también para analizar la gravedad del daño a través de la fragmentación causada por dichas roturas. Esto permite calificar y cuantificar con precisión el daño genético, proporcionando información valiosa sobre la integridad del ADN y los posibles efectos genotóxicos de diferentes sustancias (Brendler *et al.*, 2005).

Una de las ventajas del ensayo Cometa es su alta sensibilidad para detectar daño en el ADN, incluso en niveles muy bajos (0,1 rupturas de ADN por 10^9 daltons), superando a las pruebas de aberración cromosómica y el ensayo de micronúcleos (Gedik & Ewen, 1992). Además, requiere un número reducido de células (~10,000) por muestra, y ofrece flexibilidad al permitir el uso tanto de células en proliferación como de células no proliferantes. Es un método de bajo costo, fácil de aplicar y de corta duración (Tice *et al.*, 2000). El ensayo Cometa, también conocido como electroforesis en gel de células individuales, permite evaluar los niveles de lesión y reparación del ADN en cualquier población celular sin necesidad de que las células estén en proliferación. Este método es versátil y sensible, capaz de medir roturas de cadena sencilla y doble del ADN, así como sitios álcali-lábiles. El procedimiento consiste en montar las células de interés sobre un portaobjeto, embebidas en un gel de agarosa, y luego lisarlas para liberar el material genético, permitiendo la relajación y expansión de la cromatina, lo que expone las lesiones previamente generadas por el agente genotóxico. (Muchut, *et al.*, 2011)

Al someter los nucleoides a un campo electroforético, los fragmentos se mueven hacia el ánodo (Collins *et al.*, 1997), lo que da lugar a la aparición de pequeños "cometas" que se pueden observar con un microscopio, preferentemente de fluorescencia. Cuanto mayor es el daño en la

doble hélice de ADN, mayor es la longitud del cometa. La versión alcalina del ensayo permite detectar rupturas de cadena simple, sitios sensibles al álcali, entrecruzamientos ADN-ADN/ADN-proteína y rupturas de cadena simple asociadas a sitios de reparación por escisión incompletos (Tice *et al.*, 2000). El Ensayo Cometa es aplicable a casi todos los grupos de organismos y a pequeñas muestras de células, y ha sido adaptado en varios aspectos para estudiar el daño y la reparación del ADN. Es una herramienta ideal para estudios de genotoxicidad y biomonitorización ambiental (Cortés *et al.*, 2011).

Viabilidad celular

Hace referencia al número o porcentaje de células vivas y saludables en una población seleccionada. Esta medida es indicativa de la salud general de las células y se utiliza para determinar cuántas células viables permanecen antes de la exposición para descartar falsos positivos y después de estar expuestas a sustancias tóxicas o compuestos experimentales. Los ensayos de viabilidad celular desempeñan un papel crucial en la optimización de las condiciones experimentales o de cultivo, así como en la evaluación de la supervivencia celular tras la exposición a compuestos. Además, los ensayos de viabilidad celular permiten evaluar la toxicidad celular, proporcionando información sobre los marcadores de muerte celular por la pérdida de integridad de la membrana (Adan *et al.*, 2016).

Metodología para Verificar la viabilidad celular

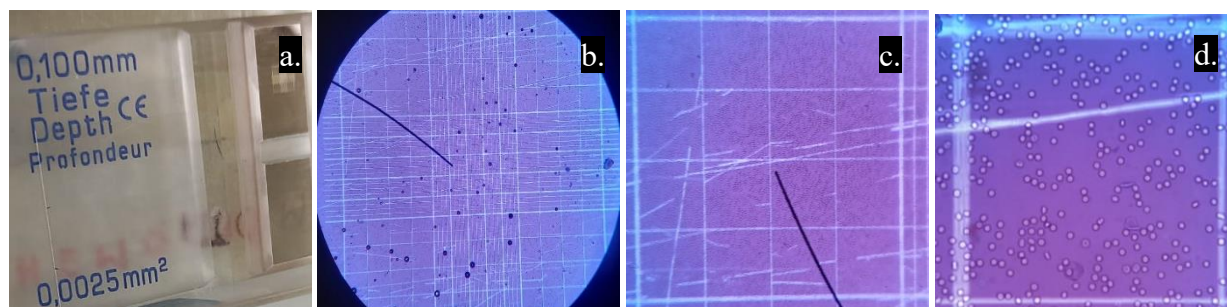
El azul de tripán. Es un colorante derivado de la toluidina, conocido por su capacidad para teñir tejidos y células muertas, tal como lo demostró Ehrlich (1904). Se le denomina así por su efectividad para eliminar tripanosomas, parásitos que provocan enfermedades como el mal de

Chagas en América, la enfermedad del sueño en África y la leishmaniasis. Este colorante se utiliza para evaluar la viabilidad celular a través de la exclusión de captación, ya que no puede atravesar las membranas de las células vivas. Aunque no es indispensable para conteos celulares básicos, resulta crucial para diferenciar entre células vivas y muertas, estas últimas con membranas comprometidas.

El hemocitómetro es un portaobjetos especializado con dos retículas grabadas con láser. Su diseño permite contar las células en una muestra líquida bajo el microscopio. La retícula está formada por nueve cuadros de 1 mm^2 cada uno. Los cuatro cuadros de 1 mm^2 situados en cada esquina contienen 16 cuadros de 0.0625 mm^2 . El cuadro central, también de 1 mm^2 , está subdividido en 25 cuadros de 0.04 mm^2 , que a su vez se dividen en cuadros más pequeños de 0.0025 mm^2 . Con una profundidad de cámara de solo 0.1 mm .

Figura 6

Retícula Hemocitométrica de la Cámara de Neubauer.



Nota: En el apartado se observa **a.** Hemocitómetro físico con el grabado en láser. **b.** Nueve cuadrantes y el cuadrante central con 25 cuadrículas, **c.** Cuadrante superior izquierdo con 16 cuadrículas, **d.** Primera cuadrícula de conteo.

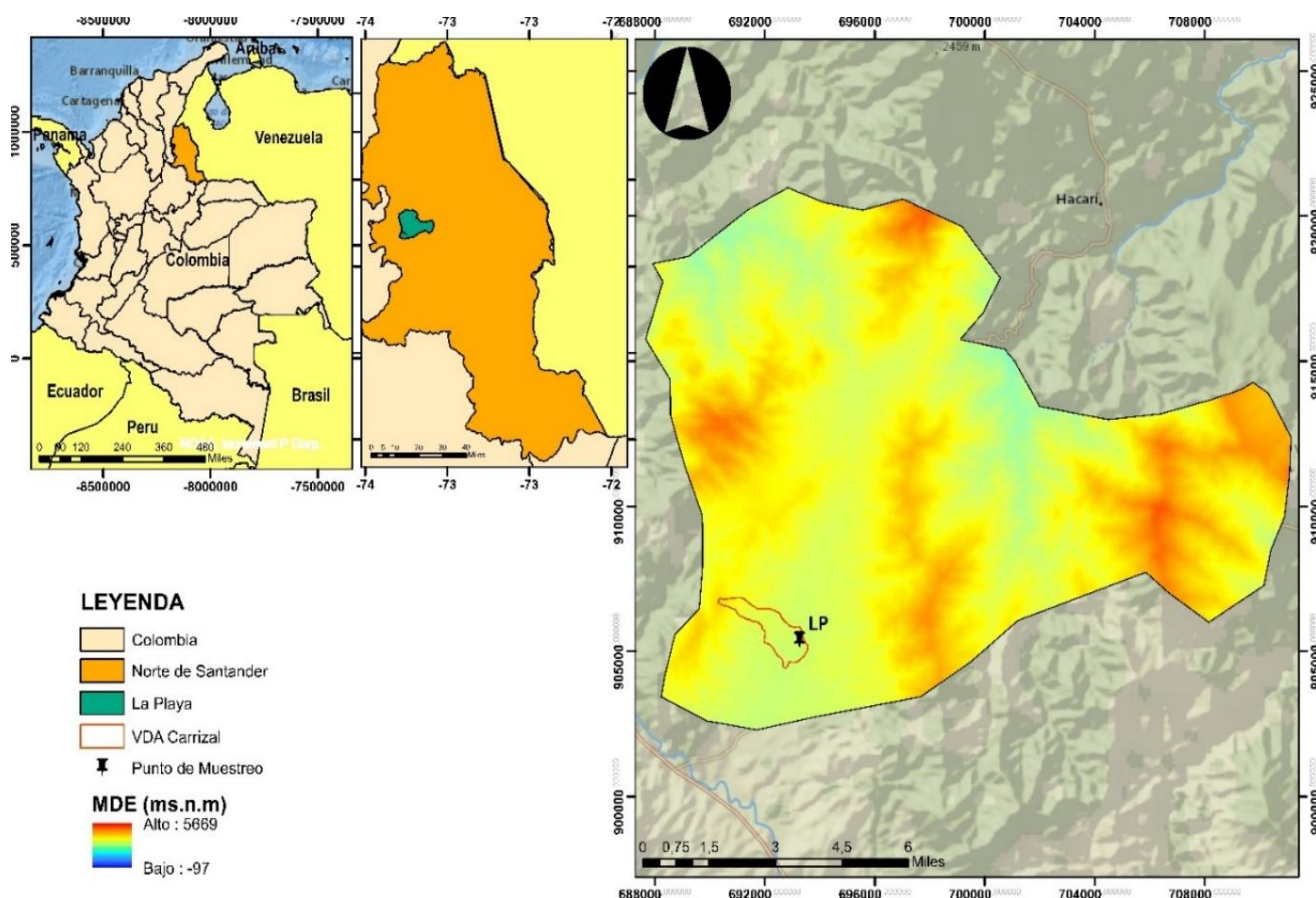
Diseño metodológico

Área de estudio

Las muestras de tomate fueron recolectadas en cultivos pertenecientes a dos municipios del departamento de Norte de Santander. El municipio de la Playa de Belén Se encuentra en el noreste colombiano sobre la cordillera oriental de los Andes, con una superficie de 241.25 km², ubicado geográficamente a 8°12'47" de latitud norte 73°14'17" de longitud oeste. Tiene una altitud media de 1450 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas cercanas a los 20 °C, por lo que presenta bosques húmedos en su estructura vegetal. El lugar de toma de la muestra fue la finca la Abundancia de la vereda el Carrizal ubicado exactamente en 8° 11' 12.73" N 73° 14' 44.504" W con una altitud de 1.381 m.s.n.m. Visualice la **figura 7**.

Figura 7

Ubicación geográfica del municipio de La Playa de Belén, Norte de Santander, Colombia.



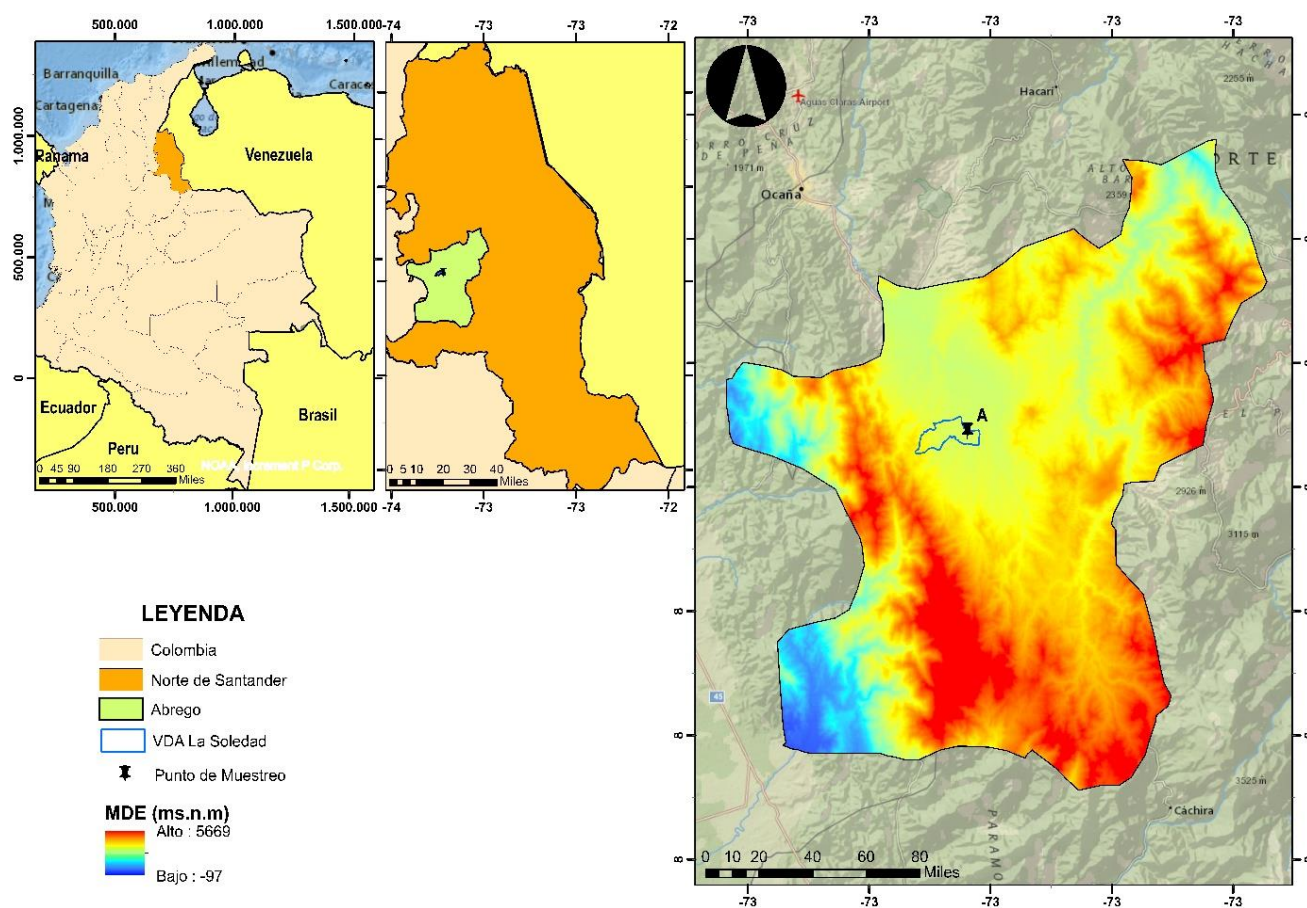
Nota. En el mapa se evidencia la coordenada exacta donde se realizó el muestreo, localizado en finca la Abundancia de la vereda el Carrizal del municipio de la Playa de Belén, Norte de Santander.

El municipio de Ábrego se encuentra ubicado en el occidente de Norte de Santander y abarca un área total de 141.341 km². El municipio presenta una variedad de pisos climáticos, que van desde cálidos, templados hasta fríos, incluyendo también zonas de páramo. La precipitación media anual en esta región es de alrededor de 1100 mm, está situada en las coordenadas 08°0'00" de latitud norte y 73°14'00" de longitud oeste. Su altitud es de 1398 metros sobre el nivel del mar. La temperatura promedio es de alrededor de 21 °C, y se encuentra a una distancia de 26 km de la

ciudad de Ocaña. La zona más poblada de Ábrego se encuentra en un valle prácticamente plano. Debido a su ubicación, el municipio se clasifica como bosque húmedo. Las muestras de tomate se tomaron en el Campanario véase **figura 8**, perteneciente a la vereda la Soledad, ubicado exactamente en $8^{\circ} 2' 41.521'' \text{ N } 73^{\circ} 13' 8.884'' \text{ W}$ con una altitud de 1416 m.s.n.m.

Figura 8

Ubicación geográfica del municipio de Ábrego Norte de Santander, Colombia.



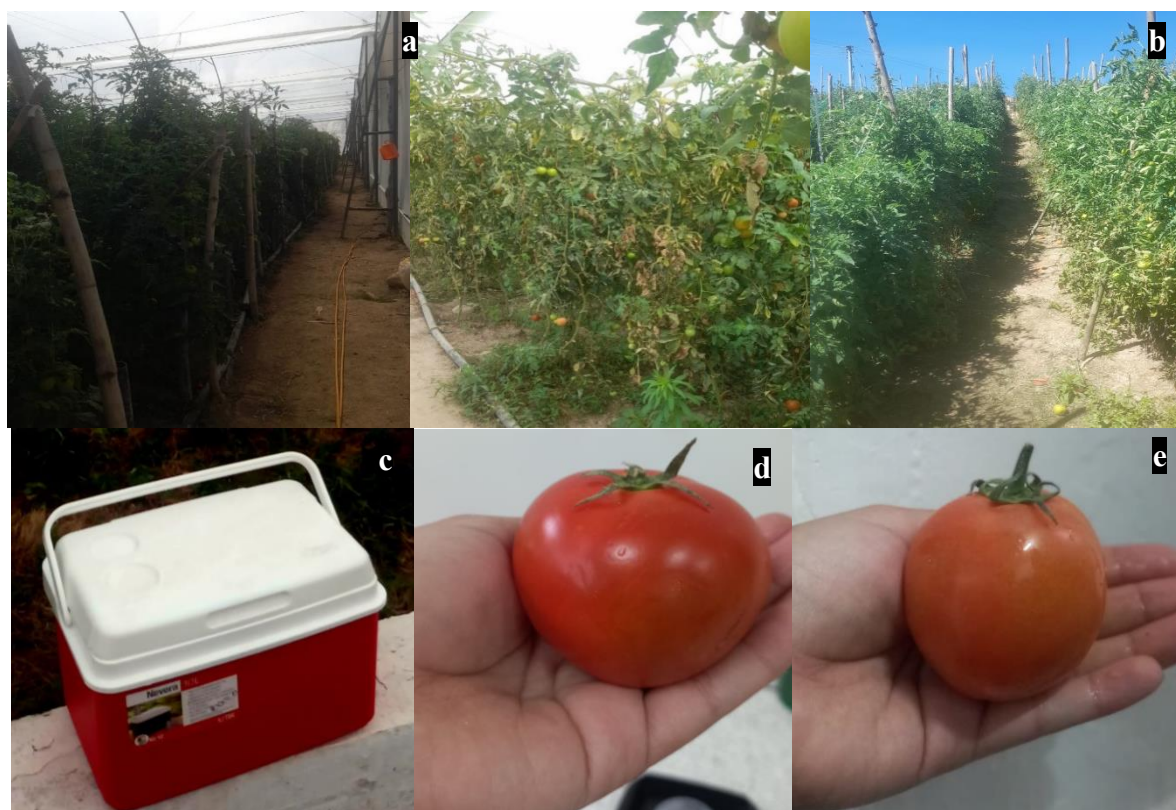
Nota. En el mapa se evidencia la coordenada exacta donde se realizó el muestreo, localizado en la finca el Campanario perteneciente a la vereda la Soledad del municipio de Ábrego, Norte de Santander.

Toma de la muestra

Se realizaron dos muestreos por cada municipio, donde para cada muestreo, se recolectaron 20 tomates maduros completamente sanos y de tamaño uniforme, seleccionados aleatoriamente del cultivo. Estos frutos se depositaron cuidadosamente en un termo con gel refrigerante por su capacidad para mantener la integridad de las muestras y protegerlas de posibles contaminantes ambientales. Una vez recolectados y empaquetados, los tomates se almacenaron a bajas temperaturas, garantizando así la conservación de sus propiedades hasta el momento de su procesamiento en el laboratorio.

Figura 9

Frutos obtenidos en Ábrego y la Playa de Belén Norte de Santander.



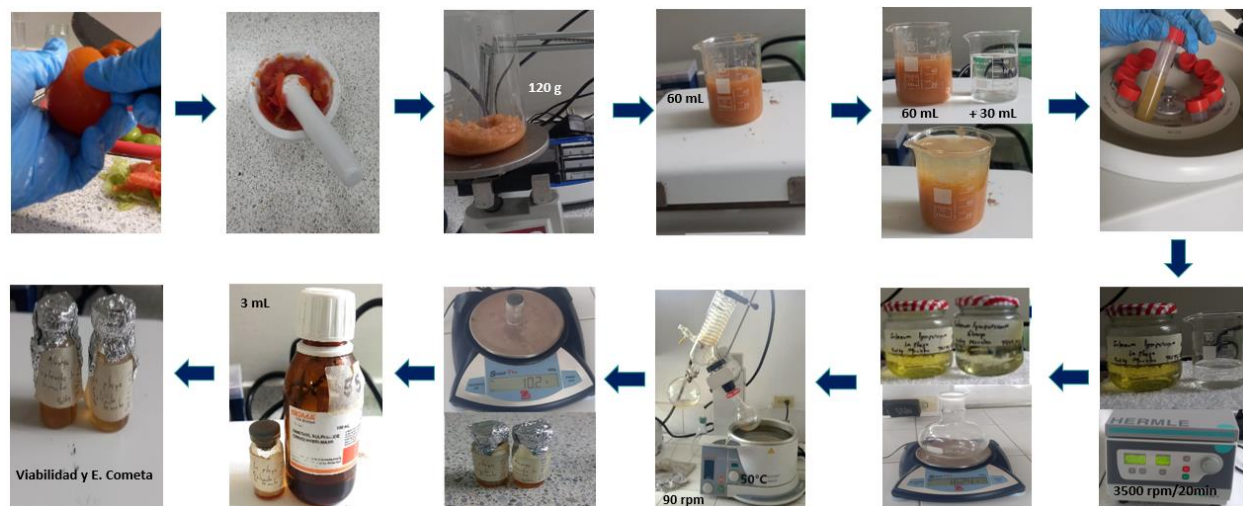
Nota. Se observa en **a.** Cultivo ubicado en Ábrego, **B.** Cultivo de la Playa de Belén, **C.** Termo de almacenamiento, **d.** Fruto fresco, **e.** Fruto después de preservarse a bajas temperaturas.

Preparación del extracto

Inicialmente se maceraron 120 g de cascara de tomate ligeramente gruesa con pulpa. Posteriormente, se le añadió 30 mL de acetona y se llevaron a centrifugar a 3500 rpm durante 20 minutos para retirar el precipitado y almacenar el sobrenadante. Este proceso se realizó un total de 3 veces. Para concentrar los componentes presentes en el extracto. Una vez obtenido el extracto, se depositó en un balón aforado previamente pesado y se introdujo al evaporador rotatorio (modelo Heidolph Laborota 4001-efficient) precalentado a una temperatura de 50 °C y una velocidad de 90 rpm, a su vez equipado con una bomba de vacío (Büchi Vac V-500) que se utilizó hasta secar por completo. Posteriormente, se cuantificó el extracto seco, equivalente a los 120 gramos iniciales de tomate. El extracto obtenido se diluyó en 3 mL de dimetil sulfóxido al 1%.

Figura 10

Procedimiento gráfico de la preparación del extracto de tomate.



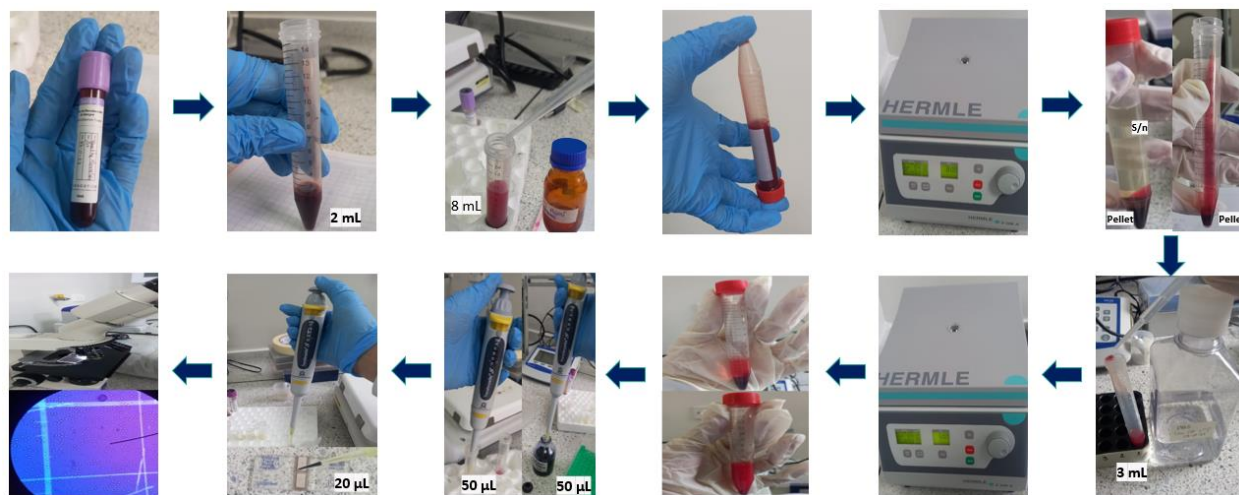
Nota. En las imágenes se observa el proceso realizado en tres ocasiones en la Laboratorio de Biología Molecular y genética.

Extracción de linfocitos

Los linfocitos fueron obtenidos de una persona joven y sana, donde en un tubo eppendorf se adicionaron 2 mL de sangre y 8 mL de lisis de glóbulos rojos, luego se agitaron levemente por inversión y posterior a esto se llevó a centrifugar a 3000 rpm durante 8 minutos, así mismo se descartó el sobrenadante y se conservó el pellet, al que se le adicionó 3 mL de PBS y se llevó a centrifugar nuevamente a 3000 rpm durante 5 minutos, finalmente se descartó el sobrenadante y se resuspendió en 4 mL de PBS, para continuar tomando 50 μ L del linfocito preparado y 50 μ L de azul de tripano, de modo que de esta dilución se tomaron 20 μ L y se depositaron en la cuadrícula central de la cámara de Neubauer a la que se le puso un cubre objeto para llevarlo al microscopio y verificar que esté optima la muestra y realizar preconteo inicial.

Figura 11

Procedimiento detallado de extracción de linfocitos.



Nota. En las imágenes se observa el proceso realizado en 18 ocasiones en la Laboratorio de Biología Molecular y Genética.

Prueba de exclusión con colorante azul de tripano

Previamente a la aplicación de la prueba de viabilidad, se determinaron las variables, considerando las dosis estandarizadas de 100µg, 200µg y 300µg de extracto de *Solanum lycopersicum* (tomate). Sin embargo, se observaron células totalmente dañadas y una elevada cantidad de residuo celular, de modo que se redujo la concentración de la dosis hasta encontrar daños parciales, por lo cual, se optó por utilizar las siguientes concentraciones: 50 µg, 60µg y 70µg para Ábrego y 70µg, 80µg y 90µg para la Playa de Belén.

En esta prueba se empleó el protocolo empleado por Yañez (2017), con algunas modificaciones: Se trataron 100.000 células o linfocitos expuestos a las tres concentraciones de extracto de tomate seleccionadas. Adicionalmente, para el control positivo se consideró la concentración de peróxido de hidrógeno al 0,15mM y para el control negativo se utilizó extracto de tomate orgánico. Cada experimento se realizó por triplicado. Posteriormente, se incubaron a 37°C durante una hora. Se tomaron 50 µL de células tratadas más 50 µL de azul tripano 0,4%, seguido de esto se esperó a que actuara el colorante durante 10 minutos y se observó bajo el microscopio utilizando un hemocitómetro de Neubauer. Finalmente, se determinó el porcentaje de viabilidad celular, véase la ecuación 1, cuyos datos se presentaron como el valor medio obtenido. Cabe resaltar que la viabilidad se determinó antes y después del tratamiento.

Ecuación 1

Viabilidad celular.

$$\frac{\text{número células viables}}{\text{número de cuadrantes}} * \text{factor de dilución} * 10^4$$

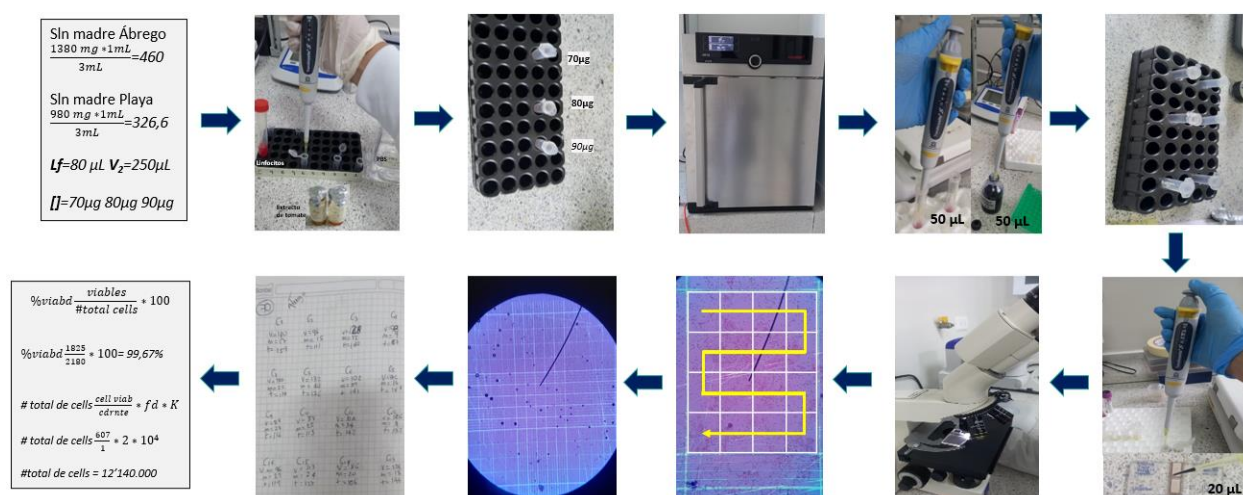
Ecuación 2

Porcentaje de viabilidad celular

$$\text{Porcentaje (\%) de viabilidad celular} = \frac{\text{número total de células vivas}}{\text{número total de células}} * 100$$

Figura 12

Procedimiento de viabilidad celular



Determinación de multirresiduos de plaguicidas organoclorados (OCP) en alimentos, por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD)

Para la realización del proceso cromatográfico se solicitó la realización en el laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de Masas de la UIS en vista que el cromatógrafo del laboratorio de Control de calidad de la Universidad de Pamplona no se encuentra en uso.

Para el análisis se utilizó el extracto de tomate obtenido y una mezcla certificada de OCP Part N° M-8081-SC, proporcionada por AccuStandard, Inc., como material de referencia. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases modelo AT 7890A de Agilent Technologies, equipado con un detector de captura de electrones (ECD). La columna cromatográfica utilizada

fue una Zebron ZB-5, que contiene 5%-Ph-PDMS y tiene dimensiones de 30 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película.

El análisis cromatográfico se realizó bajo condiciones estrictamente controladas para asegurar la precisión y reproducibilidad de los resultados. La inyección de las muestras se llevó a cabo en modo splitless, utilizando un volumen de inyección de 1 μL . La temperatura del inyector se mantuvo a 250°C para garantizar la completa vaporización de los compuestos de interés. El gas de arrastre empleado fue helio, con un flujo constante de 20 mL/min. Para la detección, el detector μECD operó a una temperatura de 320°C, y se utilizó una mezcla de gases compuesta por aire a 400 mL/min, hidrógeno a 30 mL/min y nitrógeno a 45 mL/min, lo que permitió una eficiente captura de electrones y una alta sensibilidad para los plaguicidas organoclorados.

El programa de temperatura del horno se diseñó para optimizar la separación de los compuestos analizados. La temperatura inicial fue de 45°C y se mantuvo durante 0.8 minutos. Posteriormente, la temperatura se incrementó a una tasa de 45°C/min hasta alcanzar los 200°C. A partir de este punto, la temperatura se incrementó a una tasa de 2.50°C/min hasta llegar a 225°C, y luego a 3°C/min hasta alcanzar los 266°C. La temperatura continuó incrementándose a una tasa de 5°C/min hasta llegar a 300°C, y finalmente a una tasa de 10°C/min hasta alcanzar los 320°C, donde se mantuvo durante 4.5 minutos. Este complejo perfil de temperatura permitió una separación eficiente de los diferentes plaguicidas, logrando una adecuada resolución de los picos en el cromatograma. El tiempo total de análisis por muestra fue de aproximadamente 41.21 minutos. (Yañez, 2017)

Durante el proceso de separación en la columna cromatográfica, los diferentes compuestos fueron detectados por el ECD. La identificación cualitativa de los plaguicidas

presentes en el extracto se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención de los picos obtenidos con los de patrones puros inyectados individualmente.

Detección de daño del ADN por el Ensayo Cometa

Para detectar el daño o la ruptura del ADN, se empleó el ensayo cometa en microgel de agarosa. Donde inicialmente se lija el 75% de una cara del portaobjetos en una misma dirección, se lavan y secan muy bien con la finalidad de que no queden residuos, posteriormente se recubre con una capa de agarosa de punto de fusión normal (Sigma) al 1% dejando secar al aire libre por un tiempo mínimo de 24 horas antes de iniciar el procedimiento. Para este procedimiento se trataron aproximadamente 100.000 células o linfocitos con tres concentraciones de extracto de tomate, en el municipio de Ábrego se tomaron las concentraciones de (50 µg, 60µg y 70µg,) y para el municipio de la Playa de Belén a (70µg, 80µg y 90µg). Se realizaron los controles positivos con (0,5 y 1,0) de H₂O₂ y el negativo con extracto de tomate orgánico. Cada experimento se realizó por duplicado, y, los cuales se incubaron durante 1 hora a 37°C.

Cabe destacar que seguido de cada procedimiento se iba verificando el estado de las células, Posteriormente, se tomaron 25 µL de suspensión celular y se mezclaron con 75 µL de agarosa de bajo punto de fusión (Sigma) al 0.5% a 37°C. Esta mezcla se depositó sobre el portaobjetos previamente recubierto con una capa de agarosa de punto de fusión normal (Sigma) al 1%. Luego, se cubrió la suspensión celular con un cubreobjetos y se refrigeró a 4°C durante 8 minutos. Trascurrido el tiempo se removió cuidadosamente el cubreobjetos con la yema de los dedos y se le agregó la segunda capa de agarosa de bajo punto de fusión. Nuevamente, se cubrió con un cubreobjetos y se refrigeró a 4°C durante otros 8 minutos.

Después de la solidificación se le retiró el cubreobjetos y se rotuló la cámara de tinción

por la parte externa para llevar un orden, donde sumergieron las placas durante 1 hora en la solución de lisis recién preparada. Después de este tiempo, se lavaron las placas con PBS y se sumergieron en una cámara de electroforesis horizontal con buffer de pH>13 previamente ajustado, así mismo se organizaron las placas y se incubaron por un tiempo de 30 minutos a 4°C. Posteriormente, se inició la electroforesis programándolo a 25V y 300 mA durante 30 minutos. Después de la electroforesis, las placas se lavaron con buffer neutralizante recién preparado y ajustado, finalmente se tiñen las placas que se van a observar con 50 µl de bromuro de etidio (0.02 mg/mL). Las observaciones se llevaron a cabo en el microscopio de fluorescencia (Olympus Cx41) equipado con un filtro de 515-560 nm y un filtro de barrera de 590 nm. Se realizaron tres experimentos por cada tratamiento, y en cada uno se contaron 300 células de las cuales las que presentaban demasiado daño o poca visibilidad se depuraron. Para medir la ocurrencia de daño en el DNA se utilizará software (Tritek Comet Score™ freeware v1.5) midiendo la longitud total del cometa, teniendo en cuenta las siguientes mediciones: longitud total del cometa, área del cometa, diámetro de la cabeza (µm), %DNA en la cabeza, Longitud de la cola (µm), %DNA en cola. Si la longitud mide más de 39 µm como longitud total, es producto de rupturas en el ADN. Existe un rango para los tipos de daño de la siguiente manera, observe tabla 8. (Pabuena & *et al* 2015)

Tabla 8

Rangos estandarizados para los tipos de daño en el ADN.

Nivel de daño	Tipo de daño	Rango mínimo	Rango máximo
0	Sin daño	0	38
1	Bajo	39	80
2	Medio	81	117
3	Alto	118	>118

Fuente: Pabuena & et al 2015

Resultados

Viabilidad celular mediante la prueba de exclusión con colorante azul de tripano

Las concentraciones evaluadas para determinar la viabilidad celular resultaron ser efectivas, dado que, se obtuvo un elevado porcentaje de viabilidad, superando el 90%, el cual nos permite descartar falsos positivos, véase la tabla 9.

En la figura 14 se observa la viabilidad celular antes y después del tratamiento con la media del porcentaje de viabilidad celular frente a las concentraciones de los extractos de tomate de Ábrego. Estos resultados presentaron una variabilidad estadísticamente significativa en respuesta a las distintas concentraciones evaluadas. Inicialmente, se registró una viabilidad de 96.3% a una concentración de 50 μg , mientras que la concentración de 60 μg mostró la viabilidad más alta con un 99.7%. Sin embargo, a una concentración de 70 μg , se observó una ligera disminución en la viabilidad, que alcanzó el 99.4%.

Para el municipio de La Playa de Belén, se observó un patrón inversamente proporcional entre la concentración del extracto y el porcentaje de viabilidad celular. En particular, al aumentar progresivamente la concentración del extracto, se observó una reducción correspondiente en la viabilidad celular. Inicialmente, la concentración de 70 μg mostró la viabilidad más alta con un 99.8%, comparativamente equiparable al porcentaje de viabilidad del control negativo según se muestra en la tabla 9. A una concentración de 80 μg , se registró una ligera disminución en la viabilidad celular al 99.1% y finalmente, la concentración de 90 μg resultó en una significativa disminución en la viabilidad celular, alcanzando un 95.5%, lo que indica una leve toxicidad celular a esta concentración, aunque cabe resaltar que se conserva un nivel de viabilidad superior al 90%.

Tabla 9

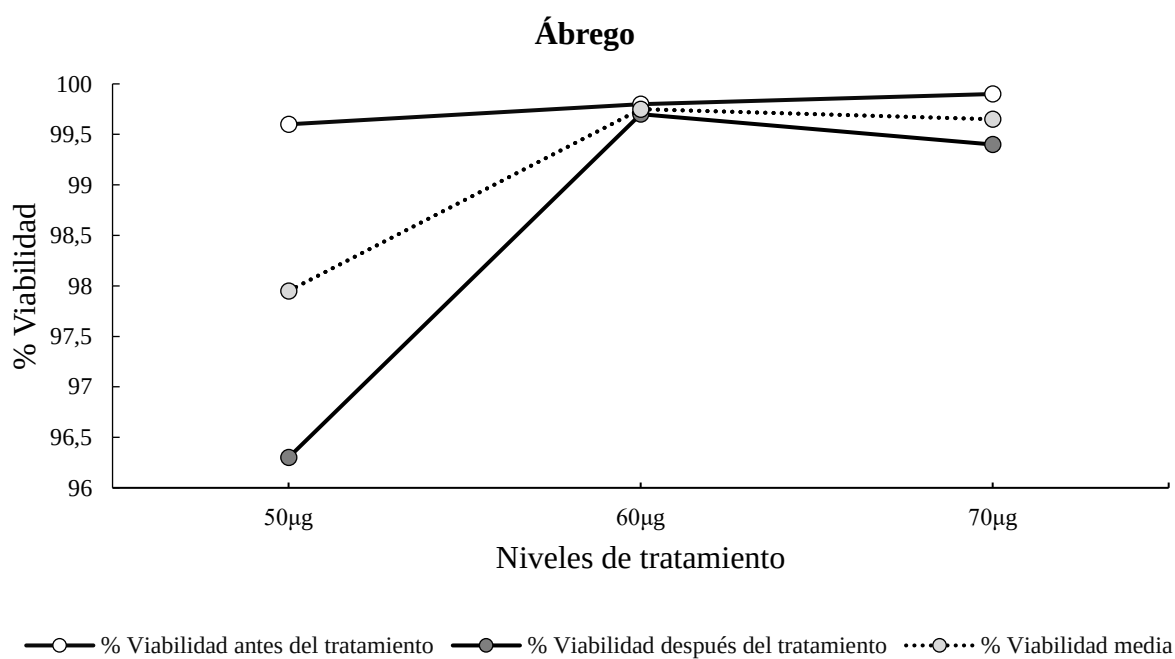
Porcentaje de viabilidad celular previa y posterior al tratamiento para Ábrego y la Playa de Belén Norte de Santander.

Lugares y niveles de tratamiento	% de viabilidad antes del tratamiento	% de viabilidad después del tratamiento
Ábrego		
50µg	99,6	96,3
60µg	99,8	99,7
70µg	99,9	99,4
Control -	99,9	99,9
La Playa de Belén		
70µg	99,9	99,8
80µg	99,6	99,1
90µg	99,7	95,5
Control-	99,9	99,8

Nota. Se presentan las concentraciones en las que se notó una disminución mínima de viabilidad después del tratamiento y es de aclarar que el control negativo es la exposición de las células en extracto de tomate orgánico neto.

Figura 14

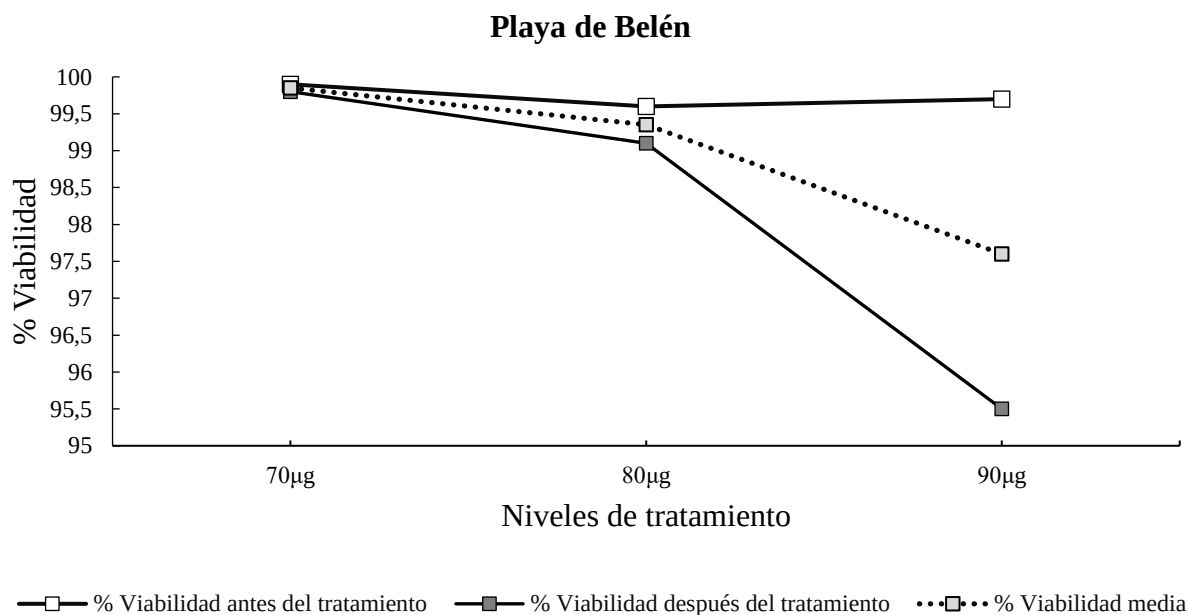
Porcentaje de viabilidad en linfocitos humanos antes e inducida por extracto de tomate de Ábrego.



Nota. En el grafico se presentan los tres niveles de tratamiento con sus respectivos porcentajes de viabilidad y en especial se observa el comportamiento después de la exposición y el correspondiente promedio.

Figura 15

Porcentaje de viabilidad en linfocitos humanos antes e inducida por extracto de tomate de la Playa de Belén.



Nota. En el grafico se presentan los tres niveles de tratamiento con sus respectivos porcentajes de viabilidad y en especial se observa el comportamiento después de la exposición y el correspondiente promedio.

Detección de daño del ADN por el Ensayo Cometa

El ensayo cometa reveló la presencia de genotoxicidad en linfocitos humanos expuestos a extractos de tomate de Ábrego, como se detalla en la Tabla 10. Considerando los criterios establecidos para los tipos de daño observados en la tabla 8, donde de 0 a 38 µm se clasifica como tipo de daño 0 (sin daño), de 39 a 80 µm como tipo de daño 1 (daño bajo), de 81 a 117 µm como tipo de daño 2 (daño medio) y mayor a 118 µm como tipo de daño 3 (daño alto), indican que las concentraciones de 50 µg, 60 µg y 70 µg provocaron un leve daño genotóxico. Esto se evidenció por las longitudes promedio del cometa de 63.11 µm, 68.64 µm y 71.77 µm,

respectivamente, todas dentro del rango de daño bajo. Comparado con el control negativo de tomate orgánico, que mostró una longitud del cometa de 39.06 μm , cercana al rango de daño 0 (sin daño genotóxico).

También se muestran resultados significativos en las áreas del cometa bajo diferentes condiciones experimentales. El control negativo con tomate orgánico presenta un área promedio del cometa de 1400.43 μm^2 , indicando una mínima dispersión de ADN y alta integridad del ADN celular en ausencia de agentes genotóxicos. Las concentraciones de 50 μg , 60 μg y 70 μg exhiben áreas promedio del cometa de 3006.31 μm^2 , 3473.27 μm^2 y 4375.15 μm^2 respectivamente. Estos resultados sugieren variaciones en el daño genotóxico: la concentración de 50 μg muestra el área del cometa más pequeño, seguida por la concentración de 60 μg , mientras que la concentración de 70 μg muestra un área más amplia.

Además, se registraron parámetros adicionales como el diámetro de la cabeza, donde el control negativo compuesto por tomate orgánico presenta un diámetro promedio de 35,56 μm , que se encuentra dentro del rango 0 (sin daño) interpretado en una integridad alta del DNA presente en las células, y posteriormente las concentraciones de 50 μg , 60 μg y 70 μg presentan promedios de 49.00 μm , 55.84 μm y 58.85 μm lo que representa un rango de daño bajo en la integridad del DNA celular.

Los porcentajes de ADN en la cabeza representan la cantidad de ADN intacto después del ensayo cometa bajo diversas condiciones experimentales. El control negativo (tomate orgánico) muestra un promedio de 92.32%, indicando una alta integridad del ADN cuando las células no están expuestas a agentes genotóxicos. Las concentraciones de 50 μg , 60 μg y 70 μg exhiben promedios de 90.02%, 84.24% y 90.38% respectivamente. Aunque muestran variaciones comparado con el control negativo, estos resultados sugieren que las células mantienen una

capacidad razonable para preservar la integridad del ADN bajo estas condiciones experimentales específicas.

En el análisis de los resultados de la longitud de la cola del cometa, el control negativo compuesto por tomate orgánico muestra una longitud promedio de 3.69 μm , indicando una mínima migración de ADN fuera del núcleo y, por ende, poca o ninguna fragmentación del ADN. En las concentraciones de 50 μg , 60 μg y 70 μg , se observan longitudes promedio de 14.11 μm , 12.79 μm y 12.93 μm , lo que sugiere una migración notable de ADN fuera del núcleo celular en comparación con el control negativo, indicando un incremento en el daño genotóxico conforme aumenta la concentración evaluada.

Los resultados del ensayo cometa muestran el porcentaje de ADN en la cola del cometa bajo diversas condiciones experimentales. El control negativo presenta un promedio de 7.68% de ADN en la cola, indicando una mínima migración de ADN fragmentado y alta integridad del ADN celular en ausencia de agentes genotóxicos. Las concentraciones de 50 μg , 60 μg y 70 μg exhiben porcentajes promedio de 9.98%, 15.76% y 9.62% respectivamente. Estos resultados sugieren que se presentan variaciones en el daño genotóxico: la concentración de 60 μg muestra el mayor porcentaje de ADN en la cola, seguida por la concentración de 50 μg , mientras que la concentración de 70 μg muestra un porcentaje similar al control negativo. Los datos indican que las concentraciones intermedias pueden inducir un daño genotóxico levemente mayor, mientras que las concentraciones extremas tienen efectos variables en la integridad del ADN celular.

Tabla 10

Promedio de daño inducido en el ADN de linfocitos humanos por diferentes dosis de extracto de tomate cultivado en Ábrego Norte de Santander.

Tratamiento	Longitud cometa (μm)	Área del cometa (μm ²)	Diámetro cabeza (μm)	%DNA cabeza	Longitud cola (μm)	%DNA cola
Negativo	39,06	1400,43	35,56	92,32	3,69	7,68
Positivo	96,85	8736,62	89,87	98,96	7,23	1,04
50μg	63,11	3006,31	49,00	90,02	14,11	9,98
60μg	68,64	3473,27	55,84	84,24	12,79	15,76
70 μg	71,77	4375,15	58,85	90,38	12,93	9,62

Nota. En el contenido de la tabla se muestra el promedio de cada medida posterior al ensayo cometa, resaltando que el control negativo está compuesto de tomate orgánico, el control positivo H₂O₂ al 0.5% y las dosis empleadas de extracto de tomate de Ábrego en los linfocitos humanos fue de 50μg, 60μg y 70μg.

Los resultados del ensayo cometa, detallados en la Tabla 11, demostraron la genotoxicidad en linfocitos humanos expuestos a extractos de tomate de la Playa de Belén. De acuerdo con los parámetros establecidos en la Tabla 8 para clasificar los tipos de daño, se observó que las concentraciones de 70 μg, 80 μg y 90 μg indujeron un daño genotóxico leve. Esto se evidenció por las longitudes promedio del cometa de 64.51 μm, 73.35 μm y 61.54 μm, respectivamente, todas dentro del rango de daño bajo. Un aspecto notable de estos resultados es la falta de una relación dosis-respuesta, ya que la concentración más alta (90 μg) presentó una longitud del cometa menor que las dos concentraciones inferiores, y la mayor longitud del cometa se registró a la concentración de 80 μg.

El análisis del área del cometa proporciona una medida directa de la dispersión del ADN fuera del núcleo celular, reflejando el nivel de daño genotóxico y la integridad del ADN en diversas condiciones experimentales. El control negativo con un valor de $1400.43 \mu\text{m}^2$ representa una mínima dispersión del ADN y una alta integridad del ADN celular en ausencia de agentes genotóxicos. Las concentraciones de $70 \mu\text{g}$, $80 \mu\text{g}$ y $90 \mu\text{g}$ muestran áreas del cometa de $3374.40 \mu\text{m}^2$, $4388.48 \mu\text{m}^2$ y $2569.02 \mu\text{m}^2$, respectivamente. Estos resultados sugieren variaciones en el daño genotóxico inducido: la concentración de $80 \mu\text{g}$ muestra el área del cometa más amplio, seguida por la concentración de $70 \mu\text{g}$, mientras que la concentración de $90 \mu\text{g}$ muestra un área más pequeña.

Por consiguiente, el diámetro de la cabeza proporciona información sobre la integridad del ADN en la región más densa del núcleo celular. En el control negativo con tomate orgánico, se observa un diámetro promedio de la cabeza de $35.56 \mu\text{m}$, indicando una alta integridad del ADN sin exposición a agentes genotóxicos. Las concentraciones de $70 \mu\text{g}$, $80 \mu\text{g}$ y $90 \mu\text{g}$ presentan diámetros de la cabeza de $53.00 \mu\text{m}$, $62.25 \mu\text{m}$ y $42.57 \mu\text{m}$, donde la concentración de $80 \mu\text{g}$ muestra el mayor diámetro de la cabeza, seguida por la concentración de $70 \mu\text{g}$, mientras que la concentración de $90 \mu\text{g}$ presenta el diámetro más pequeño entre las tres concentraciones.

En el caso de los porcentajes de ADN en la cabeza el control negativo presenta un porcentaje promedio de ADN en la cabeza de 92.32% , lo que indica una alta integridad del ADN sin exposición a agentes genotóxicos, además para las concentraciones de $70 \mu\text{g}$, $80 \mu\text{g}$ y $90 \mu\text{g}$, los porcentajes de ADN en la cabeza son 92.73% , 93.09% y 87.42% , respectivamente. Las concentraciones de $70 \mu\text{g}$ y $80 \mu\text{g}$ muestran porcentajes de ADN en la cabeza ligeramente superiores al control negativo, lo que sugiere que las células son capaces de mantener una integridad del ADN razonable bajo estas condiciones. Sin embargo, la concentración de $90 \mu\text{g}$

muestra un porcentaje menor de ADN en la cabeza, de 87.42%, lo que indica una mayor fragmentación del ADN y un daño genotóxico más significativo.

Los datos de la longitud de la cola del cometa indican el nivel de fragmentación del ADN bajo diversas condiciones experimentales. El control negativo con tomate orgánico presenta una longitud promedio de la cola de 3.69 μm , sugiriendo un daño mínimo al ADN y las concentraciones de 70 mg, 80 mg y 90 mg presentan longitudes de la cola de 11.54 μm , 11.10 μm y 18.97 μm , respectivamente. Estos resultados indican que tanto las concentraciones de 70 μg como de 80 μg provocan un daño considerable al ADN, pero la concentración de 90 μg muestra el mayor daño genotóxico, con una longitud de la cola de 18.97 μm , reflejando la mayor fragmentación y dispersión del ADN.

El porcentaje de ADN en la cola del cometa proporciona información sobre el grado de fragmentación del ADN en diferentes condiciones experimentales. El control negativo con muestra un promedio de 7.68% de ADN en la cola, lo cual indica un daño moderado al ADN en ausencia de agentes genotóxicos, y para las concentraciones de 70 μg , 80 μg y 90 μg , se observan porcentajes de ADN en la cola de 7.27%, 6.91% y 12.58%, respectivamente. Estos resultados indican que las concentraciones de 70 μg y 80 μg mantienen niveles de daño al ADN similares al control negativo, con una fragmentación moderada. Sin embargo, la concentración de 90 μg muestra un mayor porcentaje de ADN en la cola, indicativo de una mayor fragmentación y daño genotóxico bajo estas condiciones experimentales.

Tabla 11

Promedio de daño inducido en el ADN de linfocitos humanos por diferentes dosis de extracto de tomate cultivado en la Playa de Belén Norte de Santander.

Tratamiento	Longitud cometa (μm)	Área del cometa (μm²)	Diámetro cabeza (μm)	%DNA cabeza	Longitud cola (μm)	%DNA cola
Negativo	39,06	1400,43	35,56	92,32	3,69	7,68
Positivo	96,85	8736,62	89,87	98,96	7,23	1,04
70 μg	64,51	3374,40	53,00	92,73	11,54	7,27
80 μg	73,35	4388,48	62,25	93,09	11,10	6,91
90 μg	61,54	2569,02	42,57	87,42	18,97	12,58

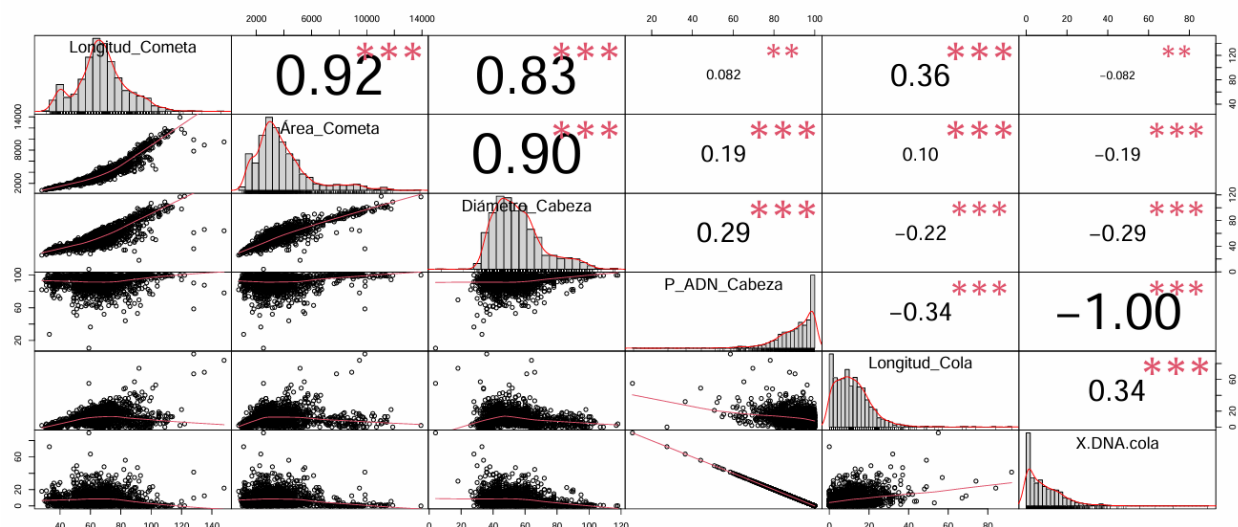
Nota. En el contenido de la tabla se muestra el promedio de cada medida posterior al ensayo cometa, resaltando que el control negativo está compuesto de tomate orgánico, el control positivo H₂O₂ al 0.5% y las dosis empleadas de extracto de tomate de la Playa de Belén en los linfocitos fue de 70μg, 80μg y 90μg.

Matriz de correlaciones

Se presenta a continuación el gráfico de correlación de Pearson en la figura 16, el cual ilustra las relaciones entre las diversas variables de los cometas evaluadas en este estudio. Este gráfico proporciona una representación visual de cómo se interrelacionan medidas clave de daño en el ADN, como la longitud del cometa, el área del cometa, el diámetro de la cabeza, el porcentaje de ADN en la cabeza, la longitud de la cola y el porcentaje de la cola en la cabeza.

Figura 16

Matriz de correlación de Pearson en la longitud del cometa, área del cometa, diámetro de la cabeza, porcentaje de ADN en la cabeza, longitud de la cola, porcentaje de ADN en la cola.



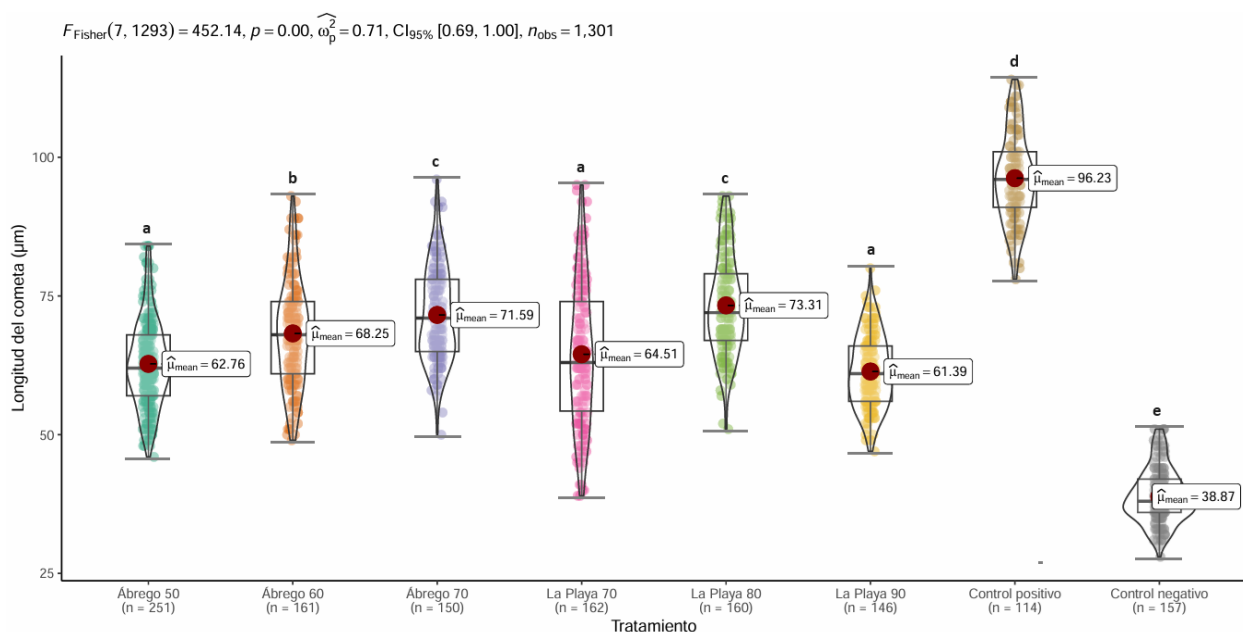
Nota. En la figura se observan las líneas de tendencia de color rojizo en el parte diagonal inferior del recuadro de acuerdo con la distribución de los datos, en la parte diagonal superior los asteriscos representan el grado de significancia, los valores cercanos a 0 no hay correlación entre las variables, cercanos a 1 si presenta correlación y cercanos a -1 una correlación inversa.

En la Figura 16, se identifican correlaciones significativamente fuertes entre varias medidas obtenidas del ensayo cometa. Se observa una correlación directamente proporcional entre la longitud del cometa y el área del cometa $r = 0.92$, indicando que el área aumenta conforme lo hace la longitud. Del mismo modo, se encuentra una correlación fuerte entre la longitud del cometa y el diámetro de la cabeza $r = 0.83$, sugiriendo que el diámetro de la cabeza también incrementa con la longitud del cometa. Además, se registra una correlación entre el área del cometa y el diámetro de la cabeza $r = 0.90$, lo cual indica que un aumento en el tamaño de la cabeza está asociado con un incremento en el área total del cometa. Por otro lado, se observa una correlación inversamente proporcional entre el porcentaje de ADN en la cabeza y el porcentaje

de ADN en la cola $r = -1.0$. Este resultado sugiere que un aumento en el porcentaje de ADN en la cabeza refleja una mayor integridad del ADN, con una disminución proporcional en el porcentaje de ADN en la cola, indicativo de una mayor fragmentación del ADN. Finalmente, las demás correlaciones exhiben datos débiles con coeficientes menores a $|0.5|$, tanto de proporcionalidad como de inversa proporcionalidad, pero con un alto grado de significancia estadística.

Figura 17

Distribución de la longitud del cometa en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



Nota. En el eje X del gráfico se muestran los diferentes tratamientos y controles aplicados, etiquetados como Ábrego 50, Ábrego 60, Ábrego 70, La Playa 70, Playa 80, La Playa 90, que hace referencia al lugar y la concentración de los tratamientos en (μg), el "Control positivo" de H_2O_2 al 0,15 mM y "Control negativo" de tomate orgánico, con el número de muestras (n) indicado para cada uno. El eje Y representa la longitud del cometa en micrómetros (μm) en este caso desde 25 μm a 125 μm .

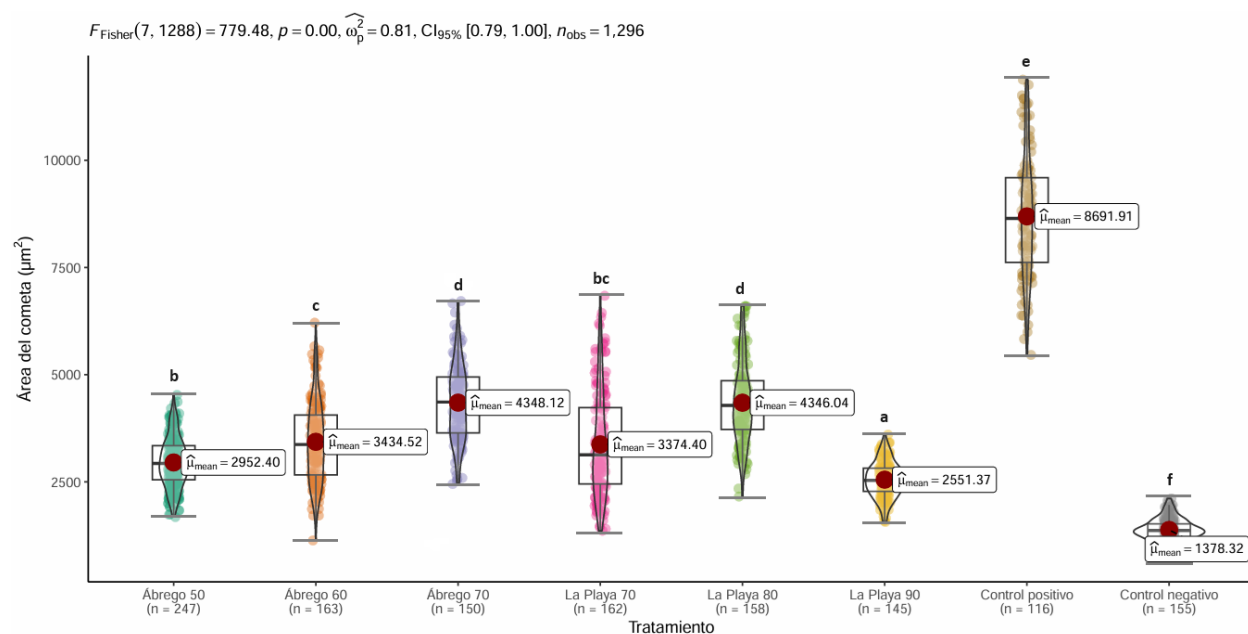
Los resultados mostraron que para el tratamiento de A 50 μg se observó una menor longitud del cometa en comparación con A 60 μg , con valores de 62.76 μm y 68.25 μm respectivamente. Sin embargo, la longitud del cometa fue mayor en A 70 μg , con un promedio de 71.59 μm . Por lo tanto, a medida que aumentó la concentración para los tratamientos de Ábrego, la longitud del cometa también aumentó, lo que sugiere un incremento en el daño al ADN, visualice la figura 17.

Un comportamiento diferente se observó en los tratamientos de la Playa de Belén. La concentración de PB 70 μg presentó una longitud del cometa de 64.51 μm , menor que la observada en PB 80 μg , que tuvo un promedio de 73.31 μm . Por otro lado, PB 90 μg mostró una menor longitud del cometa que PB 80 μg , con un valor de 61.39 μm . Así, la longitud más larga de los cometas se presentó en los promedios de los cometas observados en PB 80 μg , indicando que esta concentración causó el mayor daño al ADN en este grupo.

Comparativamente entre los tratamientos, la longitud más larga del cometa se encontró en la concentración de PB a 80 μg y la menor longitud se reportó en PB 90 μg . Sin embargo, se observó una similitud muy cercana en 4 de 21 tratamientos entre de A 50 μg , PB 70 μg y PB 90 μg con un valor de $p > 0.1$. De igual forma se encontró una cercanía entre A 70 μg y PB 80 μg con un valor de $p > 0.1$, los datos específicos se muestran en el apéndice B, todos estos representan aproximadamente el doble de la longitud del cometa en comparación con el control negativo, lo que indica que estos tratamientos indujeron un daño significativo al ADN.

Figura 18

Distribución del área del cometa en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



Nota. El eje X del gráfico muestra los tratamientos y controles etiquetados con el número de muestras (n) indicado para cada uno, y el eje Y representa el área del cometa en micrómetros cuadrados (μm²) desde 0 a 12500 μm².

En Ábrego (A), el área del cometa de A 50 μg fue la menor, con un promedio de 2952.40 μm². Al pasar a la dosis de A 60 μg, el área del cometa incrementó a 3434.52 μm², y la mayor área reportada fue A 70 μg con 4348.12 μm², indicando que el aumento en el área fue directamente proporcional al incremento en la concentración, como se observa en la figura 18. En La Playa de Belén (PB), la concentración de 70 μg mostró un área del cometa de 3374.40 μm², más pequeño que en la concentración de 80 μg con 4346.04 μm². Finalmente, al aumentar la dosis a 90 μg, el área del cometa se redujo a 2551.37 μm², presentando el área más pequeña para los tratamientos de PB, lo que sugiere un comportamiento independiente de la dosis.

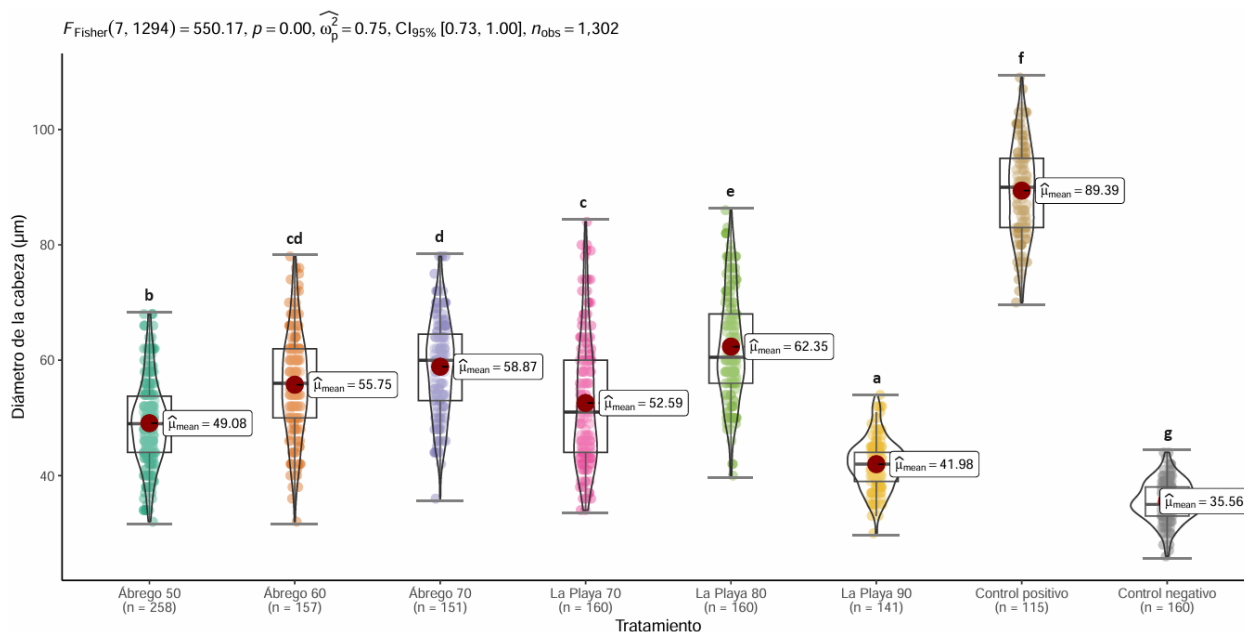
Comparativamente, entre los tratamientos de A y PB, la menor área del cometa se presentó en A 50 μg y PB 90 μg , mientras que la mayor área se observó en A 70 μg y PB 80 μg . Estos resultados mostraron similitud entre los tratamientos con un valor de p 0.9999, y entre A 80 μg y PB 80 μg , se conservó una similitud con un valor de p 0.9847, sin diferencias estadísticamente significativas, véase apéndice C.

El patrón del diámetro de la cabeza exhibió que el diámetro más pequeño de la cabeza en Ábrego a una concentración de 50 μg fue de 49.08 μm , lo que indicó una menor integridad del ADN. Al aumentar la concentración a 60 μg , aumentó el diámetro de la cabeza a 55.34 μm y, por lo tanto, la integridad del ADN fue superior en comparación con la concentración mínima. Sin embargo, al pasar a A 70 μg , el diámetro de la cabeza incrementó aún más a 58.67 μm , indicando una mayor integridad del ADN, véase la figura 19.

Por otro lado, en los tratamientos de la Playa de Belén, a una concentración de 70 μg se presentó un diámetro de 52.59 μm , más reducido y, por lo tanto, una menor integridad del ADN o un aumento en el daño en comparación con el diámetro presentado en PB 80 μg , que fue de 62.35 μm . Al aumentar la dosis a 90 μg , disminuyó considerablemente el diámetro de la cabeza a 50.72 μm , lo que indicó una mayor fragmentación del ADN y, por ende, una reducción en su diámetro, en contraste, todos los tratamientos representaron diferencias significativas con un p valor altamente significativo desde $p < 0,0000$ hasta $p < 0,05$ ligeramente significativo, observe el apéndice D.

Figura 19

Distribución del diámetro de la cabeza en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



Nota. El eje X del gráfico muestra los tratamientos y controles etiquetados, con el número de muestras (n) indicado para cada uno. El eje Y representa el diámetro de la cabeza en micrómetros (µm), desde 20 µm a 120 µm.

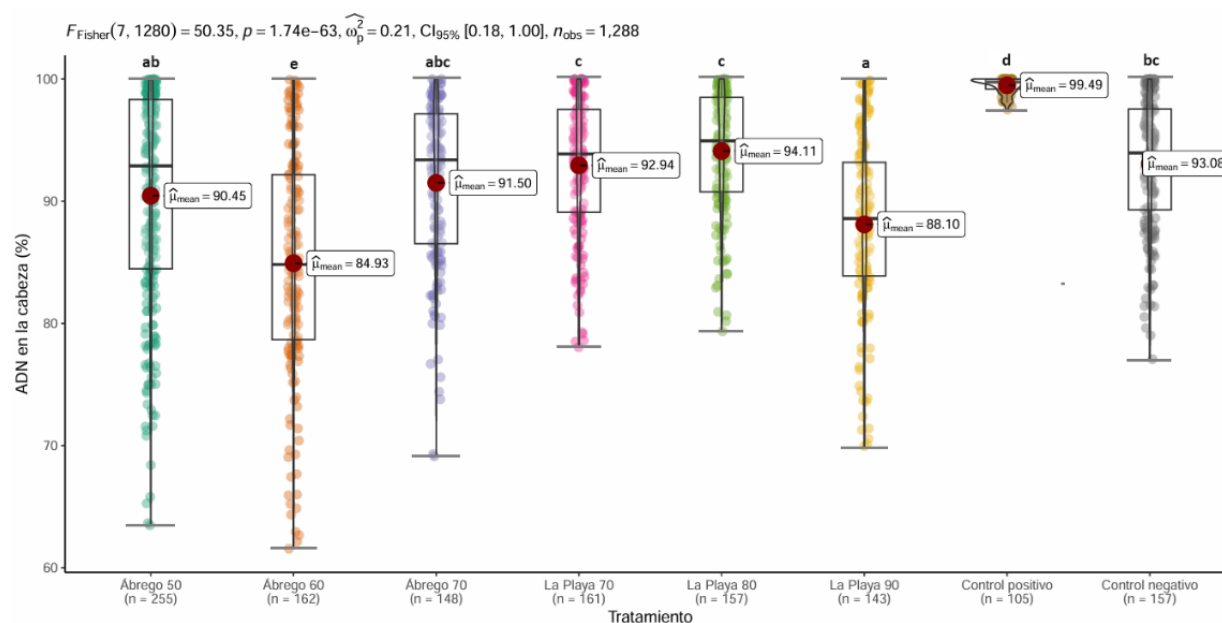
El porcentaje de ADN en cabeza mostrado en la figura 20 para los tratamientos de Ábrego y la Playa de Belén mostró un patrón variado. En A 50 µg, se observó un porcentaje de ADN en la cabeza de 90.45%, mientras que en A 60 µg, este porcentaje disminuyó a 84.93%, indicando un mayor daño en el ADN en comparación con la concentración anterior. Al pasar a A 70 µg, el porcentaje aumentó a 91.50%, lo que sugiere un menor daño en el ADN, véase figura 20. Por otra parte, en el primer tratamiento de la Playa de Belén (PB 70 µg), se observó un porcentaje de 92.94%. Al aumentar a PB 80 µg, el porcentaje incrementó a 94.11%, indicando

una disminución en el daño al ADN. Sin embargo, al subir la dosis a PB 90 μg , el porcentaje disminuyó a 88.10%, lo que indicó un mayor daño al ADN.

Todos los porcentajes de ADN en la cabeza se consideraron altos, presentando una similitud con un valor de $p > 0.1$ y cercanos al porcentaje del control negativo, que fue de 93.08%. Los tratamientos que mostraron los porcentajes más altos de ADN en la cabeza fueron A 50 μg , A 70 μg , PB 70 μg y PB 80 μg . En contraste, los porcentajes más bajos de ADN en la cabeza, aunque no muy alejados de los demás tratamientos, se encontraron en A 60 μg y PB 90 μg ., observe apéndice E.

Figura 20

Distribución del porcentaje de ADN en la cabeza en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



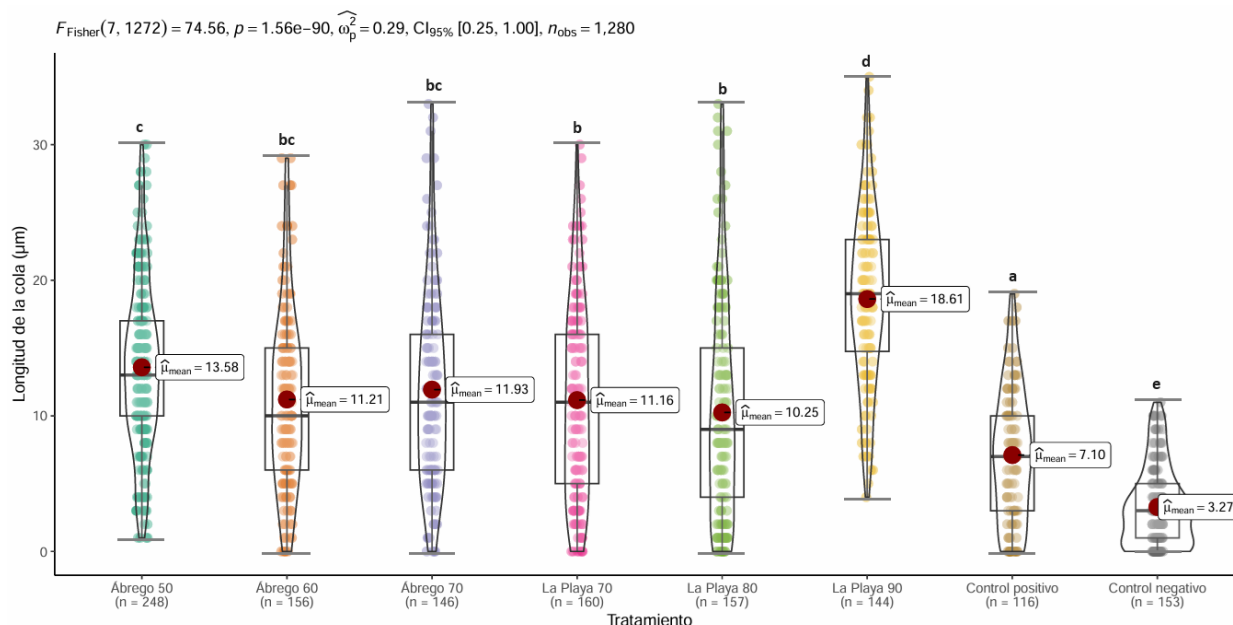
Nota. El eje X del gráfico muestra los tratamientos y controles etiquetados, con el número de muestras (n) indicado para cada uno. El eje Y representa el porcentaje de ADN en la cabeza, con un rango de 60% a 100%.

En la figura 21 los tratamientos de Ábrego (A) y La Playa de Belén (PB) mostraron variaciones en el daño al ADN. En la concentración de A 50 μg se presentó un mayor daño del ADN en comparación con A 60 μg , con una longitud de la cola promedio de 13.58 μm y 11.21 μm respectivamente. A 70 μg presentó una longitud mayor que A 60 μg , con 12.47 μm , lo que indicó que A 70 μg exhibió una fragmentación promedio entre estos tratamientos. Para el tratamiento de PB 70 μg , se observó una longitud de la cola de 15.62 μm , que fue mayor que la de PB 80 μg , con 12.89 μm , ubicando a PB 70 μg en una migración intermedia de daño. En la concentración de PB 90 μg se observó una longitud de 18.61 μm , representando el daño genotóxico más alto.

En contraste, el control negativo, con una longitud de cola de 3.27 μm , indicó el menor daño en el ADN, ya que se espera que este control negativo no presente afectación al ser extracto de tomate orgánico. Comparativamente, la concentración que presentó mayor daño genotóxico entre todos los tratamientos analizados fue la de PB 90 μg , con un daño en el ADN mayor que los de Ábrego. Entre las concentraciones intermedias de A 70 μg y PB 80 μg mostraron un daño genotóxico moderado. Sin embargo, todos los tratamientos se encontraron por encima del control negativo, presentando longitudes de cola entre 7 μm y 15 μm . Finalmente, los tratamientos de Ábrego comparados con los de La Playa de Belén (excluyendo PB 90 μg), no mostraron diferencias significativas, con un valor de $p > 0.1$, observe apéndice F.

Figura 21

Distribución de la longitud de la cola en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



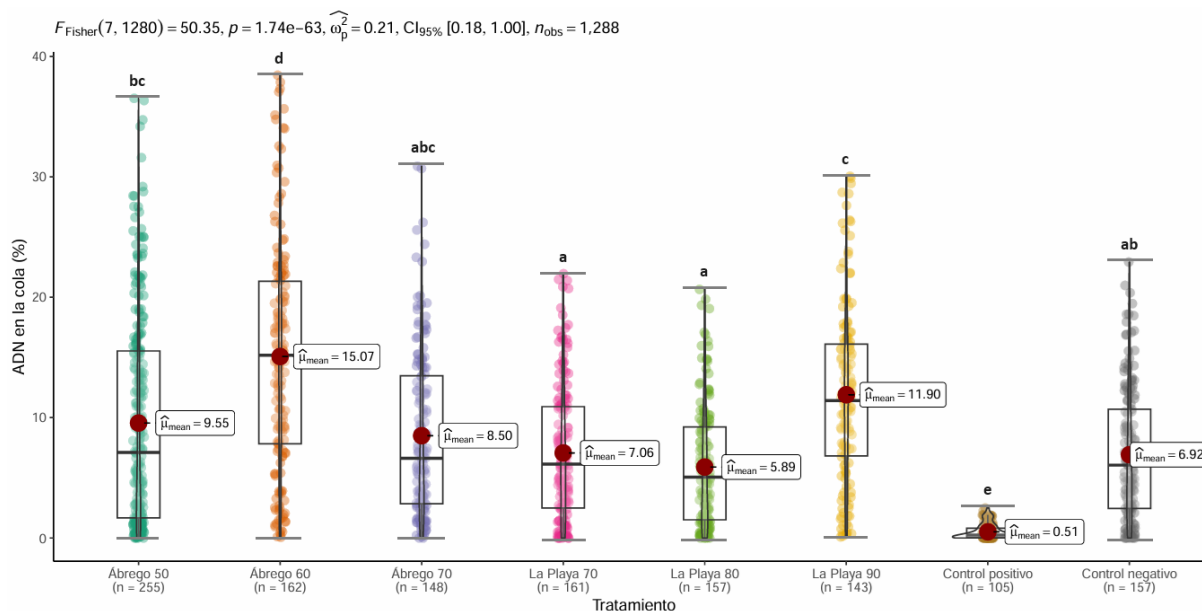
Nota. El eje X del gráfico muestra los tratamientos y controles etiquetados, con el número de muestras (n) indicado para cada uno. El eje Y representa la longitud de la cola en micrómetros (μm), desde 0 μm a 40 μm.

El porcentaje de ADN en la cola del cometa del primer tratamiento de Ábrego (A) a una concentración de 50 μg exhibió un porcentaje de 9.55%, lo que se constituye como un nivel bajo de daño en el ADN. Este valor podría considerarse dentro del rango de daño bajo del ADN. Al aumentar la concentración a A 60 μg, el porcentaje aumentó a 15.07%, presentando un daño mayor en el ADN. Sin embargo, al pasar a la concentración de 70 μg de Ábrego, el porcentaje de ADN en la cola disminuyó a un 8.50%, presentando así un menor daño o fragmentación del ADN, visualice la Figura 22.

Por otro lado, para el tratamiento de la Playa de Belén (PB) a una concentración de 70 μg , se mostró un porcentaje de 7.06%. Al aumentar la dosis a 80 μg , el porcentaje de ADN en la cola disminuyó a 5.89%, indicando un menor daño en el ADN. Al pasar a una dosis de 90 μg , el porcentaje aumentó a 11.90%, representando un mayor daño al ADN. Todos los tratamientos se encontraron dentro del rango bajo de daño al ADN. Entre estos, el daño más alto fue el de A 60 μg , mientras que el menor daño al ADN se produjo en PB 80 μg . Sin embargo, se presentaron similitudes en 8 de 21 comparaciones entre A 50 μg , A 70 μg , PB 70 μg y PB 80 μg , y su cercanía con el control negativo representada en valores estadísticamente no significativos con un p valor > 0.1 , observe el apéndice G.

Figura 22

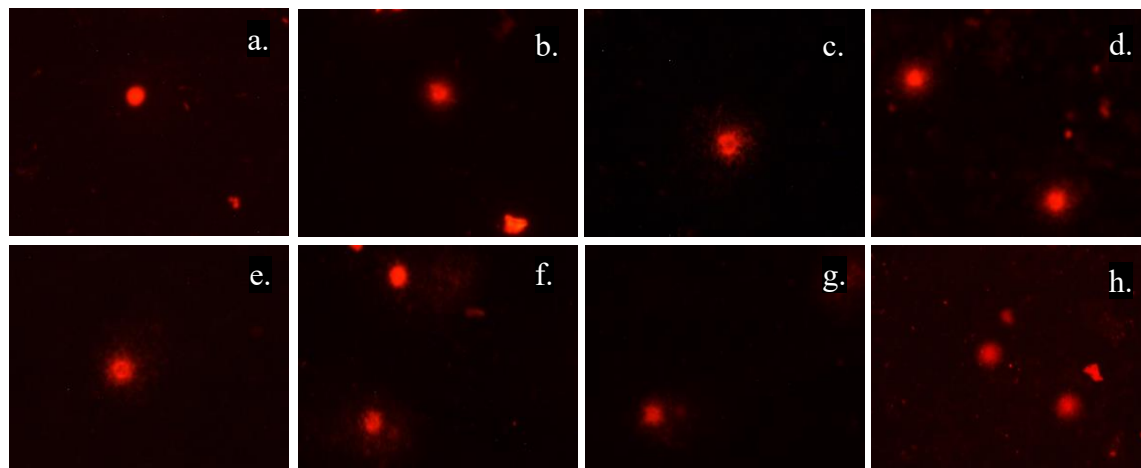
Distribución del porcentaje de ADN en la cola en diferentes tratamientos y controles con comparaciones múltiples.



Nota. El eje X del gráfico muestra los tratamientos y controles etiquetados, con el número de muestras (n) indicado para cada uno. El eje Y representa el porcentaje de ADN en la cola, con un rango de 0% a 40%.

Figura 23

Imágenes del daño inducido en linfocitos humanos por muestras de extracto de tomate, cultivados en Ábrego y la Playa de Belén, Norte de Santander.



Nota. A: Tomate orgánico, concentraciones de extracto de Ábrego B: 50 μ g, C: 60 μ g, D:70 μ g, concentración de extracto de la Playa de Belén E:70 μ g, F: 80 μ g G: 90 μ g, H: H₂O₂ al 0,15mM. Las imágenes fueron obtenidas usando un microscopio de fluorescencia Olympus Cx41 equipado con filtro de 515-560nm y un filtro de barrera de 590 nm, objetivo 10X.

Cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD)

Los resultados presentados a continuación se obtuvieron a partir del análisis de multiresiduos de plaguicidas organoclorados (OCP) en extracto de tomate, utilizando la técnica de cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD). En la Figura 24 se muestra el cromatograma patrón correspondiente al Nivel Mínimo de Cuantificación (NMC), establecido según la normativa colombiana, con un valor de 0,004 mg/kg. Este cromatograma sirve como referencia para determinar la presencia y cuantificación de OCP en las muestras analizadas. Los tiempos de retención de los compuestos fueron determinados utilizando una muestra enriquecida con la mezcla de referencia certificada (MRC), cuyos detalles se encuentran en el Apéndice H.

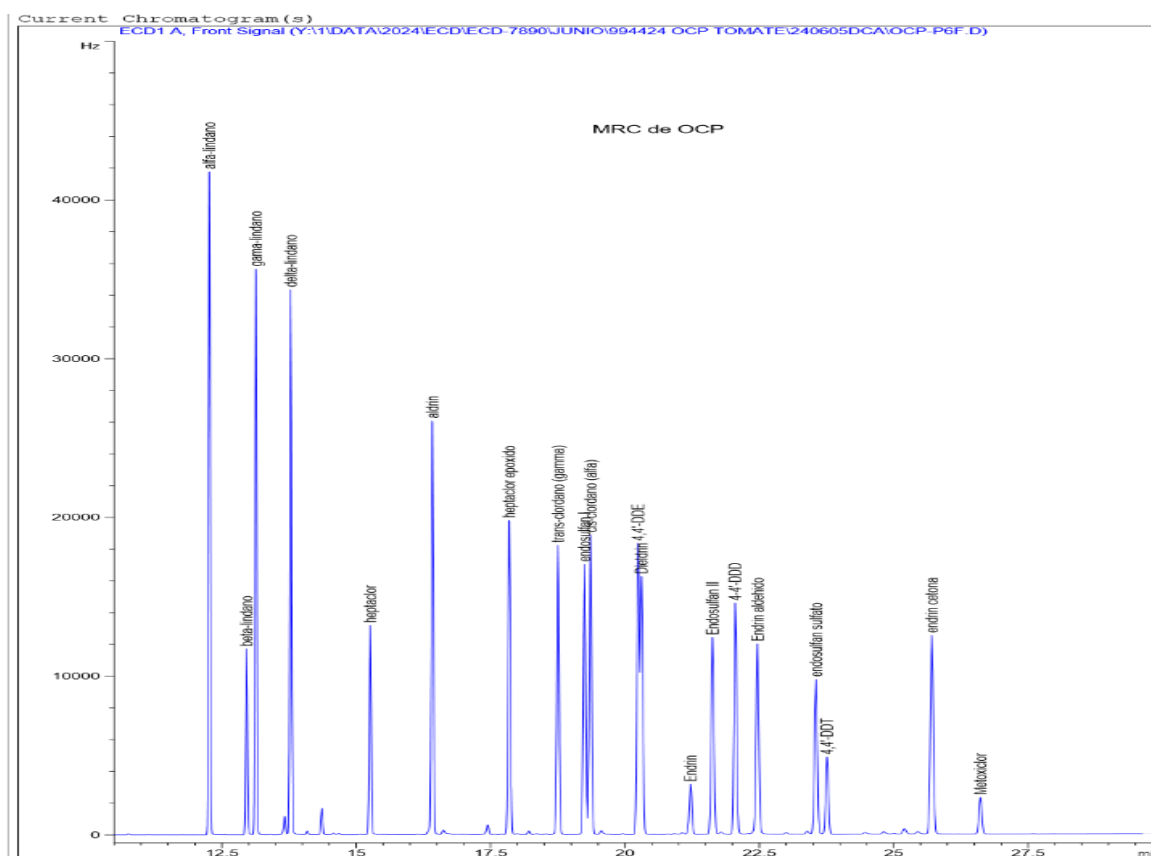
Para el primer análisis, se utilizó un control negativo de tomate orgánico, identificado como 994424-01-CG-1F.D. Los resultados de este control se presentan en la Figura 25, y los datos específicos se encuentran en la Tabla 13. Este control es crucial para establecer una línea base y asegurar que no haya contaminación de plaguicidas en las muestras orgánicas. En la muestra obtenida de Ábrego, Norte de Santander, identificada como 994424-02-CGF.D, se realizó un análisis detallado, cuyo cromatograma se presenta en la Figura 26. Los datos cuantitativos y cualitativos de esta muestra están plasmados en la Tabla 14. Este análisis permite evaluar la presencia y concentración de OCP en tomates provenientes de esta región específica.

Finalmente, se analizó una muestra de tomate de la Playa de Belén, Norte de Santander, identificada como 994424-03-CGF.D. Los resultados de este análisis se ilustran en la Figura 27, y los datos correspondientes se encuentran en la Tabla 15. Este estudio proporciona información valiosa sobre la contaminación por plaguicidas en tomates de diferentes regiones, lo cual es

fundamental para garantizar la seguridad alimentaria y el cumplimiento de las normativas vigentes.

Figura 24

Tiempos de retención analizados en una muestra enriquecida con la mezcla de referencia certificada (MRC) para análisis de organoclorados.



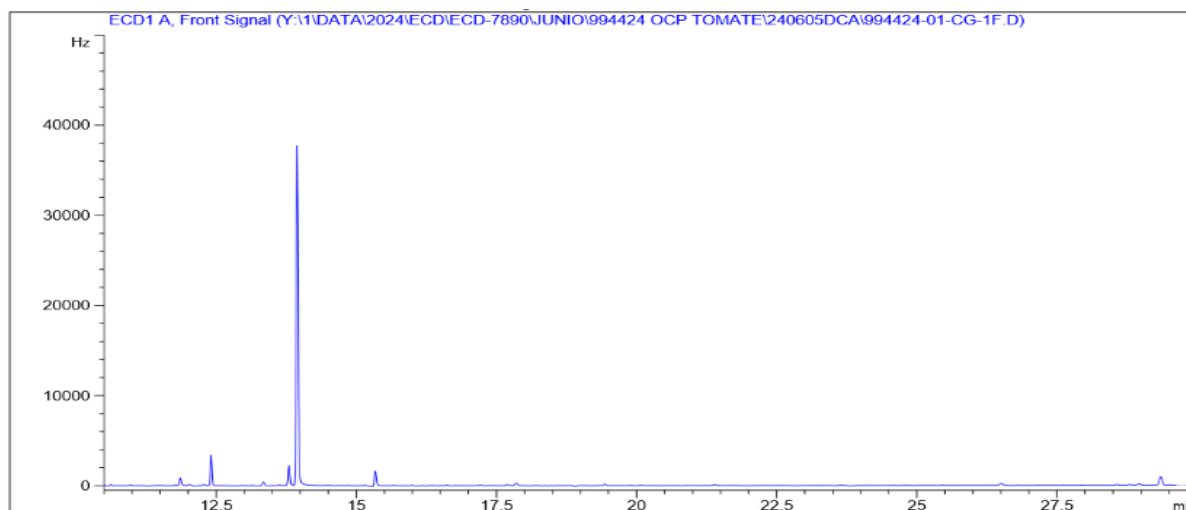
Nota. Este grafico representa en el eje X el tiempo de retención expresado en minutos que se muestra desde el minuto 10 al minuto 30 y el eje Y se observa la señal expresada en Hertz, que está entre 0 Hertz y 50.000 Hertz. *Fuente:* Labcromauis, 2024

En la figura 24 se pueden observar los tiempos de retención obtenidos para los plaguicidas analizados en una muestra enriquecida con la mezcla de referencia certificada (MRC) donde el pesticida fueron detectados en los siguientes tiempos, para alfa-Lindano: 12.3

min, beta-Lindano: 13.0 min, gamma-Lindano: 13.3 min, delta-Lindano: 13.8 min, Heptaclor: 15.4 min, Aldrin: 16.4 min, Heptaclor epóxido: 17.9 min, trans-Clordano: 18.8 min, Endosulfan I: 19.2 min, cis-Clordano: 19.3 min, 4,4'-DDE: 19.9 min, Dieldrin: 20.3 min, Endrin: 20.6 min, Endosulfan II: 21.6 min, 4,4'-DDD: 22.5 min, Endrin aldehído: 22.9 min, Endosulfan sulfato: 23.6 min, 4,4'-DDT: 23.9 min, Endrin cetona: 25.7 min y Metoxiclor: 26.6 min. El nivel mínimo de cuantificación (NMC) para todos los compuestos fue de 0.004 mg/kg. Véase el **Apéndice A**. Así mismo estos cromatogramas patrón nos sirven como referencia cualitativa para la comparación de cada uno de los cromatogramas que se obtuvieron para cada una de las muestras de tomate analizadas, facilitando la identificación de los pesticidas en el caso que se llegaran a presentar en el fruto.

Figura 25

Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate orgánico identificado como 994424-01-CG-1F.D.



Nota. Este grafico representa en el eje X el tiempo de retención expresado en minutos que se muestra desde el minuto 10 al minuto 30 y el eje Y se observa la señal expresada en Hertz, que está entre 0 Hertz y 50.000 Hertz. *Fuente:* Labcromauis, 2024

Véase la tabla 13 donde cada fila representa un pico en el cromatograma correspondiente a un compuesto específico detectado. "RetTime" indica el tiempo único de retención del compuesto en la columna cromatográfica. "Type" clasifica el compuesto (hidrocarburo, organoclorado, etc.) o la naturaleza del pico. "Width" es el ancho del pico. "Area (Hz*s)" representa el área bajo el pico, proporcional a la cantidad del compuesto. "Area %" es el área del pico como porcentaje del total. "Name" es el nombre del compuesto detectado, incluyendo organoclorados como alfa-lindano, beta-lindano, gama-lindano, entre otros.

Tabla 12

Resultados del extracto de tomate orgánico con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.

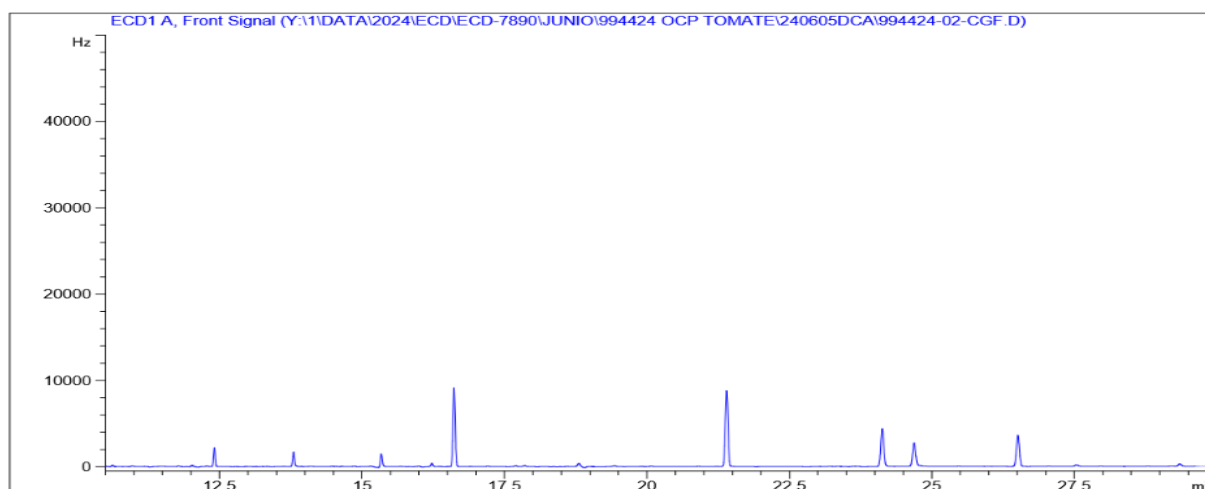
Peak #	RetTime (min)	Type	Width (min)	Area (Hz*s)	Area %	Name
1	12.266		0.0000	0.00000	0.00000	alfa-lindano
2	12.959		0.0000	0.00000	0.00000	beta-lindano
3	13.133		0.0000	0.00000	0.00000	gama-lindano
4	13.781		0.0000	0.00000	0.00000	delta-lindano
5	15.261		0.0000	0.00000	0.00000	heptaclor
6	16.418		0.0000	0.00000	0.00000	aldrin
7	17.848		0.0000	0.00000	0.00000	heptaclor epoxido
8	18.755		0.0000	0.00000	0.00000	trans-clordano (gamma)
9	19.246		0.0000	0.00000	0.00000	endosulfan I
10	19.361		0.0000	0.00000	0.00000	cis-clordano (alfa)
11	20.244		0.0000	0.00000	0.00000	4,4'-DDE
12	20.312		0.0000	0.00000	0.00000	Dieldrin
13	21.223		0.0000	0.00000	0.00000	Endrin
14	21.631		0.0000	0.00000	0.00000	Endosulfan II
15	22.056		0.0000	0.00000	0.00000	4-4'-DDD
16	22.466		0.0000	0.00000	0.00000	Endrin aldehido
17	23.555		0.0000	0.00000	0.00000	endosulfan sulfato
18	23.761		0.0000	0.00000	0.00000	4,4'-DDT
19	25.708		0.0000	0.00000	0.00000	endrin cetona
20	26.612		0.0000	0.00000	0.00000	Metoxiclor

Fuente: Labcromauis, 2024

Los resultados de la figura 25 revelaron la presencia significativa de varios compuestos. Inicialmente el cromatograma mostró un pico prominente alrededor de los 13.781 minutos, correspondiente al delta-lindano, con una altura aproximada de 38,000 Hz. Además, se identificaron picos menores correspondientes a los isómeros de lindano: alfa-lindano a los 12.266 minutos con una altura de 4,000 Hz, beta-lindano a los 12.959 minutos con 2,000 Hz. También se observó un pico de 2000 Hz a los 15.261 minutos, correspondiente al compuesto heptaclor. Estos hallazgos demuestran la presencia de múltiples plaguicidas organoclorados en el extracto de tomate, con el delta-lindano siendo el compuesto más abundante. Aunque se evidencie la presencia de estos picos, los resultados cuantitativos en la tabla muestran que el área bajo cada pico es 0.00000. Esto sugiere que no se detectaron cantidades significativas en los compuestos listados en la tabla 12.

Figura 26

Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate de Ábrego, identificado como 994424-02-CGF.D.



Nota. Este grafico representa en el eje X el tiempo de retención expresado en minutos que se

muestra desde el minuto 10 al minuto 30 y el eje Y se observa la señal expresada en Hertz, que está entre 0 Hertz y 50.000 Hertz. *Fuente:* Labcromauis, 2024

Tabla 13

Resultados del extracto de tomate de Ábrego con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [Hz*s]	Area %	Name
1	12.266	0	0.0000	0.00000	0.00000	alfa-lindano
2	12.956	0	0.0000	0.00000	0.00000	beta-lindano
3	13.133	0	0.0000	0.00000	0.00000	gama-lindano
4	13.781	0	0.0000	0.00000	0.00000	delta-lindano
5	15.261	0	0.0000	0.00000	0.00000	heptacloro
6	16.418	0	0.0000	0.00000	0.00000	aldrin
7	17.848	0	0.0000	0.00000	0.00000	heptacloro epoxido
8	18.755	0	0.0000	0.00000	0.00000	trans-clordano (gamma)
9	19.246	0	0.0000	0.00000	0.00000	endosulfan I
10	19.361	0	0.0000	0.00000	0.00000	cis-clordano (alfa)
11	20.244	0	0.0000	0.00000	0.00000	4,4'-DDE
12	20.312	0	0.0000	0.00000	0.00000	Dieldrin
13	21.223	0	0.0000	0.00000	0.00000	Endrin
14	21.631	0	0.0000	0.00000	0.00000	Endosulfan II
15	22.056	0	0.0000	0.00000	0.00000	4-4'-DDD
16	22.466	0	0.0000	0.00000	0.00000	Endrin aldehido
17	23.555	0	0.0000	0.00000	0.00000	endosulfan sulfato
18	23.761	0	0.0000	0.00000	0.00000	4,4'-DDT
19	25.708	0	0.0000	0.00000	0.00000	endrin cetona
20	26.612	0	0.0000	0.00000	0.00000	Metoxiclor

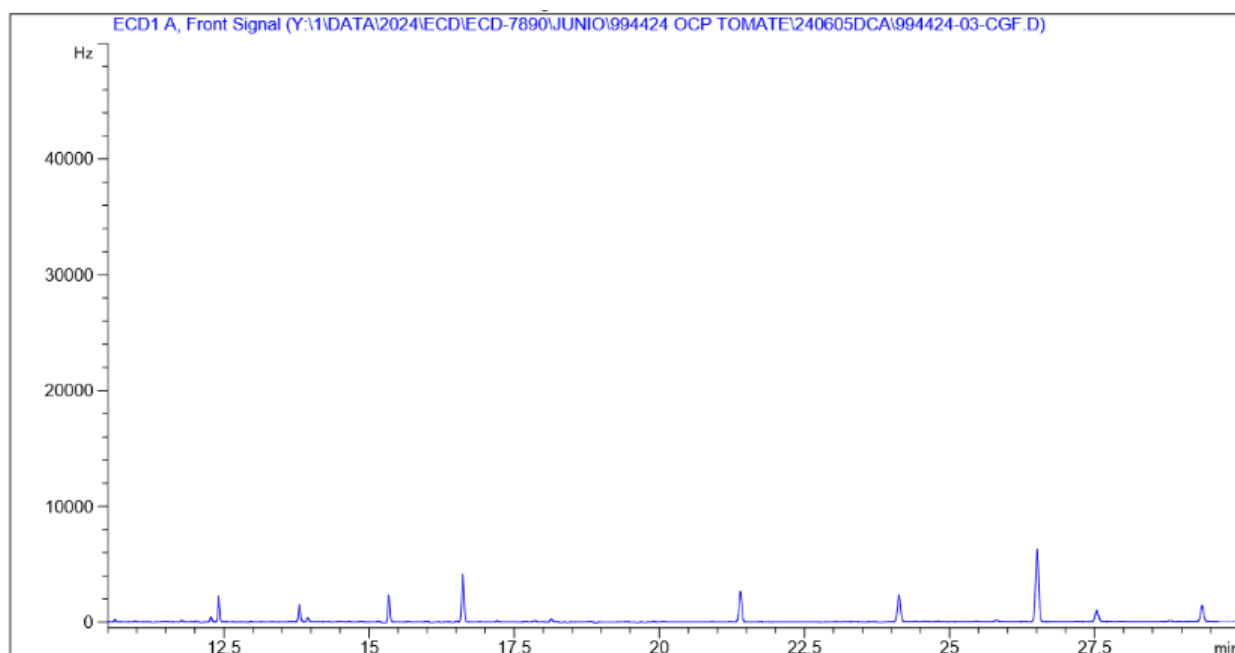
Fuente: Labcromauis, 2024

El cromatograma de la figura 26 reveló varios picos prominentes a diferentes tiempos de retención: alfa-lindano a los 12.266 minutos con una altura de aproximadamente 2,000 Hz, delta-lindano a los 13.781 minutos con 1,500 Hz. Otros picos significativos incluyen heptaclor a los 15.261 minutos con 1,000 Hz, aldrin a los 16.418 minutos con 9,000 Hz, endrin a los 21.223

minutos con un valor cercano a 8,000 Hz, 4,4'-DDT a los 23.761 minutos con una altura de 3,000 Hz, y metoxiclor a los 26.612 minutos con una altura de aproximadamente 4,000 Hz. En el extracto de tomate, se evidencia la presencia de estos picos, pero los resultados cuantitativos en la tabla 14 muestran que el área bajo cada pico es 0.00000, lo cual sugiere que no se detectaron cantidades significativas de los compuestos listados en la tabla 13.

Figura 27

Cromatograma de los resultados obtenidos en el extracto de tomate de la Playa de Belén, identificado como 994424-03-CGF.D.



Nota. Este grafico representa en el eje X el tiempo de retención expresado en minutos que se muestra desde el minuto 10 al minuto 30 y el eje Y se observa la señal expresada en Hertz, que está entre 0 Hertz y 50.000 Hertz. *Fuente:* Labcromauis, 2024

Tabla 14

Resultados del extracto de tomate de la Playa de Belén con la información de cada pico y nombre de los pesticidas organoclorados.

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [Hz*s]	Area %	Name
1	12.266		0	0	0	alfa-lindano
2	12.959		0	0	0	beta-lindano
3	13.133		0	0	0	gama-lindano
4	13.781		0	0	0	delta-lindano
5	15.261		0	0	0	heptaclor
6	16.418		0	0	0	aldrin
7	17.848		0	0	0	heptaclor epoxido
8	18.755		0	0	0	trans-clordano (gamma)
9	19.246		0	0	0	endosulfan I
10	19.361		0	0	0	cis-clordano (alfa)
11	20.244		0	0	0	4,4'-DDE
12	20.312		0	0	0	Dieldrin
13	21.223		0	0	0	Endrin
14	21.631		0	0	0	Endosulfan II
15	22.056		0	0	0	4-4'-DDD
16	22.466		0	0	0	Endrin aldehido
17	23.555		0	0	0	endosulfan sulfato
18	23.761		0	0	0	4,4'-DDT
19	25.708		0	0	0	endrin cetona
20	26.612		0	0	0	Metoxiclor

Fuente: Labcromauis, 2024

A partir del análisis cromatográfico, se evidenció la presencia de varios compuestos en la muestra, destacados por picos prominentes a diferentes tiempos de retención. En primer lugar, se identificó un pico notable correspondiente al alfa-lindano a los 12.266 minutos, con una altura aproximada de 2,000 Hz. Posteriormente, se detectó el gama-lindano a los 13.133 minutos, alcanzando los 1,500 Hz. Además, se observaron picos significativos que incluyen heptaclor a los 15.261 minutos con 2,000 Hz, aldrin a los 16.418 minutos con 4,000 Hz, endosulfan II a los 21.631 minutos con 2,000 Hz, y 4,4'-DDT a los 23.761 minutos con 2,000 Hz.

El pico más alto fue registrado para el metoxiclor a los 26.612 minutos, alcanzando una altura de 6,000 Hz, indicando la presencia de este compuesto en la muestra. Adicionalmente, se observaron picos no identificados en los tiempos 21.500, 27.500 y 29.500 minutos. Sin embargo, los datos cuantitativos indican que el área bajo cada pico es 0.00000, lo cual sugiere que no se detectaron cantidades significativas de los compuestos listados en la tabla 14.

Discusiones

Los resultados mostraron un comportamiento celular variable en respuesta a las diferentes concentraciones del extracto de tomate de Ábrego. Inicialmente, la viabilidad celular era similar en todas las muestras, lo que indica que el extracto no tenía un efecto citotóxico previo. Sin embargo, tras el tratamiento, la concentración baja (50µg) mostró la menor viabilidad celular, indicando un mayor daño celular y una posible citotoxicidad. Por el contrario, la concentración media (60µg) registró la mayor viabilidad celular, lo que sugiere un menor daño y mejor integridad de la membrana celular. Estos resultados son consistentes con el estudio realizado por Larsson *et al.* (2020), quienes muestran cómo la respuesta celular puede variar significativamente a diferentes concentraciones de extractos debido a la presencia y concentración de diversos compuestos bioactivos. Es posible que la concentración media contenga una combinación óptima de estos compuestos, lo que resulta en una mejor protección celular.

Estos hallazgos subrayan la importancia de evaluar cuidadosamente la seguridad genética de los extractos antes de su uso prolongado o consumo. La variabilidad en el daño observado sugiere que los compuestos presentes en los extractos tienen diferentes capacidades para interactuar con el ADN y causar daño. Además, Valvuenza *et al.* (2021) destacan que los plaguicidas pueden inducir enfermedades genéticas heredables, problemas reproductivos y malformaciones congénitas, así como aumentar la incidencia de enfermedades crónicas, incluyendo cáncer, diabetes y trastornos neurodegenerativos como el Parkinson, Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica.

Los resultados indican la detección de una señal alta de delta-lindano (38.000 Hz) en el extracto de tomate orgánico, lo que plantea preocupaciones sobre la seguridad de estos

productos. Otros pesticidas, como alfa-lindano, beta-lindano y heptaclor, mostraron señales bajas que no superaron los rangos genotóxicos. La presencia de estos pesticidas, incluso en muestras orgánicas, podría explicarse por la dispersión a través de escorrentía superficial, aire u otros medios. Esto subraya la necesidad de un monitoreo continuo de estos compuestos, tal como se menciona en el estudio de Schleiffer y Speiser (2022), donde se enfatiza la persistencia de contaminantes en el medio ambiente y su potencial impacto en la salud pública.

En concentraciones elevadas del extracto de tomate, se observa una longitud del cometa considerablemente reducido, lo que sugiere un efecto potencialmente nocivo. Este fenómeno podría estar relacionado con la bioacumulación de contaminantes en los organismos a lo largo del tiempo. Barry *et al.* (2006) explican que la acumulación de compuestos tóxicos puede afectar la integridad del ADN, lo que a su vez impacta negativamente en la salud celular y la función general del organismo.

El primer compuesto organoclorado identificado por su alta capacidad de bioacumulación fue el diclorodifeniltricloroetano (DDT). Su principal metabolito, el diclorodifenildicloroetileno (DDE), puede encontrarse tanto en plantas como en la grasa animal. En términos generales, estos compuestos se consideran de toxicidad aguda moderada, con la excepción del endrin, que es uno de los pesticidas más tóxicos de forma aguda. Sin embargo, tienden a acumularse en el tejido adiposo, lo que provoca efectos negativos a largo plazo en los organismos vivos, incluidos los humanos (Zaragoza *et al.*, 2016).

El DDT, conocido por su amplio uso como insecticida, ha sido objeto de preocupaciones significativas debido a sus efectos carcinogénicos en humanos. Una de las principales razones es su capacidad de bioacumulación en la cadena alimentaria. Los contaminantes orgánicos

persistentes (COP), como el DDT, son sustancias que persisten en el medio ambiente durante períodos prolongados y tienden a concentrarse en los tejidos de los organismos vivos. Esta bioacumulación según Cruz *et al.* (2010) puede ocasionar problemas de salud graves, incluyendo diversos tipos de cáncer y trastornos endocrinos.

Los organoclorados, como el aldrín y el edrin, interfieren con el flujo de cationes a través de las membranas de las células nerviosas, lo que aumenta la irritabilidad de las neuronas y puede provocar convulsiones tónicas y neuropatías periféricas en estudios realizados por Zaragoza *et al.*, (2016). Estos compuestos afectan la transmisión normal de los impulsos nerviosos, lo que resulta en una hiperexcitabilidad neuronal. Por otro lado, el lindano se ha asociado con la producción de hipoplasia y aplasia medular, condiciones que afectan la producción de células sanguíneas en la médula ósea. La exposición a estos pesticidas puede tener consecuencias graves para la salud neurológica y hematológica (Cruz *et al.*, 2010)

Los insecticidas organoclorados pueden alcanzar a los humanos a través de residuos presentes en cultivos agrícolas o mediante su uso en el hogar para exterminar insectos. Indirectamente, estos compuestos también se introducen en la dieta humana a través de las cadenas alimenticias, especialmente en productos de origen animal como la leche y la carne. En estos casos, no solo se consumen los residuos del insecticida, sino también todos los metabolitos generados (Zaragoza *et al.*, 2016).

En cuanto a los efectos durante el periodo perinatal, se ha comprobado que los plaguicidas organoclorados pueden atravesar la barrera placentaria. Además, se ha observado que la mortalidad en animales neonatos de laboratorio aumenta cuando sus madres han sido expuestas a dosis elevadas de estos plaguicidas (Lackmann, 2005). La toxicidad crónica de estos compuestos es considerable, especialmente para el sistema nervioso central, donde provocan una

serie de síntomas, como alteraciones neuromusculares y cambios en la conducta. También causan daños degenerativos en el hígado y los riñones, así como hinchazón cerebral. Algunos de estos tóxicos se consideran potencialmente teratogénicos y mutagénicos (Ennaceur *et al.*, 2008; Tanner & Ben, 1999).

Conclusiones

Los extractos de tomate de Ábrego y La Playa de Belén demostraron un alto porcentaje de viabilidad celular, superior al 90% en la mayoría de las concentraciones evaluadas. Para Ábrego, la viabilidad celular fue mayor en la concentración de 60 µg, mientras que, para La Playa de Belén, la viabilidad celular fue óptima a 70 µg. Sin embargo, concentraciones más altas en La Playa de Belén mostraron una ligera disminución en la viabilidad, indicando una leve toxicidad a concentraciones elevadas.

Los extractos de tomate de La Playa de Belén mostraron un efecto genotóxico significativamente mayor en comparación con los de Ábrego. A concentraciones elevadas, La Playa de Belén presentó una mayor longitud del cometa, un mayor daño en el ADN y un aumento en la fragmentación del ADN, indicando un mayor potencial genotóxico. En contraste, en Ábrego, aunque el daño al ADN también aumentó con la concentración, los niveles fueron menos severos en comparación con los observados en La Playa de Belén. Estos resultados destacan la necesidad de una vigilancia más rigurosa y un control más estricto sobre el uso de extractos de tomate en La Playa de Belén para mitigar los riesgos genotóxicos.

El análisis cromatográfico reveló la presencia de varios pesticidas en los extractos de tomate, incluyendo alfa-lindano, gama-lindano, heptaclor, aldrin, endosulfan II y metoxiclor. Sin embargo, en los resultados cuantitativos indicaron no se detectaron residuos de pesticidas, lo que indica un posible bajo nivel de contaminación por pesticidas, aunque se recomienda continuar con un monitoreo más detallado para asegurar la seguridad alimentaria.

Recomendaciones

Sería pertinente investigar otros alimentos con alto contenido de grasas que sean de consumo humano, como el contenido del estómago, el hígado, el músculo, la grasa y la leche. Estos alimentos pueden acumular compuestos orgánicos persistentes, especialmente en animales expuestos a pastoreo en áreas contaminadas o a fuentes hídricas contaminadas.

Se recomienda realizar investigaciones a largo plazo para evaluar los efectos crónicos de la exposición a extractos de tomate en linfocitos humanos. Estos estudios deben incluir evaluaciones periódicas de viabilidad celular y daño genotóxico, así como la determinación de multiresiduos de plaguicidas para ampliar el rango de compuestos detectados.

Fomentar la investigación en prácticas de agricultura orgánica que minimicen o eliminen el uso de pesticidas químicos es esencial para un enfoque sostenible. El desarrollo de bio-pesticidas y técnicas de manejo integrado de plagas, así como la exploración del uso de biotecnología para crear variedades de tomate resistentes a plagas y enfermedades, reducirá significativamente la necesidad de pesticidas químicos.

Referencias

- Abrevaya, X. (2008). *¿Qué es la genotoxicidad?* IntraMed. Tomado de <https://www.intramed.net/contenido.asp?contenidoid=47111>
- Adan, A., Kiraz, Y., y Baran, Y. (2016). *Cell proliferation and cytotoxicity assays. Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213–1221.
<https://doi.org/10.2174/1389201017666160808160513>
- Almeida, B. (2018). *Efecto citotóxico y genotóxico del glifosato en formulación Roundup sobre linfocitos humanos*.
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/20830/68248889.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barbosa, M., Aiassa, D., y Mañas, F. (2017). *Evaluación de daño al ADN en leucocitos de sangre periférica humana expuestos al herbicida glifosato*.
<https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.03.04>
- Barry, B., Michael, I., Joel, B., Morin, E., & Gobas, F. (2006). Food Web–Specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science*, 317.
<https://doi.org/10.1126/science.1138275>
- Boada, L. (2004). *Principios generales de carcinogénesis: carcinogénesis química y hormonal. Biocáncer*. Tomado de <http://www.biocancer.com/journal/235/principios-generales-de-carcinogenesis-carcinogenesis-quimica-y-hormona>
- Brendler, S., Hartmann, A., Pfuhler, S., & Speit, G. (2005). *The in vivo comet assay: use and status in genotoxicity testing Mutagenesis*. (Vols. 13-30). Obtenido de <https://academic.oup.com/mutage/article/20/4/245/1069223/The-in-vivo-comet-assay-use-and-status-in>

- Castillo, J., Arrieta, A., Moya, K., Villalobos,, & Rodríguez, O. (2018). *Evaluación de tres extractos naturales contra Bemisia tabaci en el cultivo del melón, Puntarenas, Costa Rica I*. <https://www.redalyc.org/journal/436/43656391006/html/>
- Collins, A. (2004). *The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, applications, and limitations*. Molecular Biotechnology, 26(3), 249-261.
<https://doi.org/10.1385/mb:26:3:249>
- Collins, A., Dobson, V., Dusinska, M., Kennedy, G., & Stetina, R. (1997). *The comet assay: what can it really tell us*. Mutat., 375 : .183–193
- Colume, A., Cardenas, S., Gallego, M., & Valcarcel, M. (2001). *Multiresidue Screening of Pesticides in Fruits Using an Automatic SolidPhase Extraction System*. J. Agric. Food Chem. 49, 1109-1116.
- Cortes, E., Davila, M., Fernandez, J., Lopez, C & Gosalbez, J. (2011). *New application of the comet assay: chromosome-comet assay*, J. Histochem. Cytochem. 59. 655–660
- Cruz, A., Moreno, G., & Lara, M. (2010). Toxicología de las dioxinas y su impacto en la salud humana. Revista de Medicina Veterinaria, N.o 19.
https://r.search.yahoo.com/_ylt=AwrFG2s6N6pmL9YWZBSrcgx.;_ylu=Y29sbwNiZjEEcG9zAzIEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2/RE=1722460090/RO=10/RU=http%3a%2f%2fscielo.org.co%2fpdf%2frmv%2fn19%2fn19a07.pdf/RK=2/RS=h_iwUkeQcg3yeHtpuq9iRlJsH.M-
- del Puerto, 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.
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010&lng=es&tlng=es)

- Ennaceur S., Ridha D., Marcos R. (2008) Genotoxicity of the organochlorine pesticides 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) and hexachlorobenzene (HCB) in cultured human lymphocytes. *Chemosphere*; 71(7):1335-1339.
- Felizzola, E. (2022). *Evaluación de la genotoxicidad de una presentación comercial del glifosato para uso agrícola en la línea celular hek 29*. Universidad Simón Bolívar.
https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/9624/Evaluaci%C3%B3n_Genotoxicidad_Presentaci%C3%B3n_Comercial_Glifosato_Resumen.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Bonassi, S., Holland, N., Migliore, L., Palitti, F., Natarajan, A. T., & Kirsch-Volders, M. (2016). *Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans*. *Mutation research. Reviews in mutation research*, 770(Pt A), 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.04.008>
- Gedik, C., & Ewen, A. (1992). *gel electrophoresis applied to the analysis of UV-C damage and its repair in human cells*, *Int. J. Radiat. Biol.* 62 . 313–320.
- Gómez, J., & López, M. (2016). Respuesta celular a diferentes concentraciones de extractos naturales. *Revista de Investigación Científica*, 12(3), 45-58
- Gómez, J., & López, N. (2016). *Evaluación de la viabilidad de células vero empleando extractos de los hongos shiitake y maitake como sustituto del suero fetal bovino*. Uniandes.
<https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/31498132-3983-43a1-9b53-5a358b479e7e/content>

- Hill, R., Head, S., Gregg, M., Shealy, D., & Bailey, D. (1995). *Pesticide residues in urine of adults living in the United States: reference range concentrations*. Environ Res 1995. 71, 99-108.
- Jaramillo, J. E., Sánchez, G. D., Rodríguez, V. P., Gil, L. F., García, M. C., Hío, J. C., Quevedo, D., Aguilar, P. A., Pinzón, L. M., Zapata, M. Á., Restrepo, J. F., & Guzmán, M. (2012). *Tecnología para el cultivo de tomate bajo condiciones protegidas*. Bogotá: CORPOICA.
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13320/Ver_Documento_13320.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Jiménez, M., & Repetto, G. (2009). *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos. Tomado de <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788988.pdf>
- Lackmann, G. (2005). Neonatal serum p,p'-DDE concentrations in Germany: chronological changes during the past 20 years and proposed tolerance level. *Pediatric And Perin Epidemiol*, 19: 31-35.
- Larsson, P., Engqvist, H., Biermann, J., Rönnerman, E., Forssell, E., Kovács, A., Karlsson, P., Helou, K., & Parris, T. Z. (2020). Optimization of cell viability assays to improve replicability and reproducibility of cancer drug sensitivity screens. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62848-5>
- Medina, D. (2018). *IMPACTO AMBIENTAL GENERADO POR LA AGRICULTURA COLOMBIANA 1970 - 2014*. Conexión Agropecuaria, 8.
<https://doi.org/10.38017/22487735.615>
- Monje, J. (2011). *La Agroecología: un marco de referencia para entender sus procesos en la investigación y la praxis*. Luna Azul, (32), 128-134.
<https://doi.org/10.17151/luaz.2011.32.11>

- Monroy, C., Cortés, A., Sicard, D., y De Restrepo, H. (2005). *Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato*. *Biomédica*, 25(3), 335.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i3.1358>
- Monroy, H. (2021). *La innovación en la producción de tomate en Colombia - Sáenz Fety*. *Sáenz Fety - Pecuaria & Agro*. <https://saenzfety.com/la-innovacion-en-la-produccion-de-tomate-en-colombia/>
- Morales, Y., Miranda, L., & Navas, M. (2014). *Neurotoxicidad de los plaguicidas como agentes disruptores endocrinos: Una revisión*. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 45(2), 96-119. Recuperado de
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772014000200007&lng=es&tlng=es
- Muchut, S., Simoniello, M., Scagnetti, J., Poletta, G., & Kleinsorge, E. (2011). Evaluación de genotoxicidad en linfocitos humanos expuestos a mezclas de biocidas mediante electroforesis en gel de células individuales (Ensayo cometa) (Vol. 15). FABICIB. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FABICIB/article/view/885/1313>
- Nikoloff, N. (2014). *Genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina*.
<https://doi.org/10.35537/10915/34614>
- Ordoñez, V., Frías, M., Parra, H., y Martínez, M. (2019). *Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud*.
<https://www.redalyc.org/journal/919/91967023011/html/>
- Pabuena, M., et al. (2015). *Toxicity and genotoxicity evaluation of pesticides in aquatic organisms*. In *Environmental Impact of Pesticides* (pp. 121-138). Springer.

- Priya, A., Mohammad, A., Abhinav, R., & Ashok, K. (2024). *Endosulfan induces reproductive & genotoxic effect in male and female Swiss albino mice*. Laboratory Animal Research. Advance online publication. <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00208-4>
- Ramírez, J., & Lacasaña, M. (2001). 70 Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Instituto Nacional de Salud Pública, Dirección de Ciencias Ambientales, Cuernavaca. Morelos. México .
- Ren, N., Atyah, M., Chen, W., y Zhou, C. (2017). *The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications*. Journal of Translational Medicine, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1218-4>
- Romero, E., y Tovar, D. (2019). *Efecto de los plaguicidas usados en cultivos de fresa, como posibles disruptores endocrinos: revisión sistemática [Tesis]*. Universidad colegio mayor de Cundinamarca.
- Schleiffer, M., & Speiser, B. (2022). Presence of pesticides in the environment, transition into organic food, and implications for quality assurance along the European organic food chain – A review. *Environmental Pollution*, 313, 120116. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120116>
- Schleiffer, R., & Speiser, B. (2022). Monitoreo de pesticidas persistentes en el medio ambiente. *Ciencia del Suelo*, 45(1), 23-31.
- Sepúlveda, D. (2016). *Sistemas de producción de tomate en el municipio de Cáchira, Norte de Santander. En busca de elementos para el análisis de su sostenibilidad*. Repositorio De La Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/21167/SepulvedaFlorezDianaRocio2016.pdf?sequence=3>

- Tanner C & Ben Y. (1999) Epidemiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol.*; 80:153-159.
- Tice, R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Ryu J. y Sasaki, Y. (2000.). *Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing*. *Environ. Mol. Mutagen*
- Trujillo, M., Goez, L., Espiñeira, M., & Ramos, E. (2019). *Exposición a pesticidas como factor de riesgo para enfermedad de Parkinson: un estudio caso-control en el municipio de San Juan Nepomuceno (Bolívar)*. <https://www.redalyc.org/journal/919/91967023010/html/>
- Tug, T., Duda, J. C., Menssen, M., Wilson Bruce, S., & Bringezu, F. (2024). *In vivo alkaline comet assay: Statistical considerations on historical negative and positive control data*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 148, 105583.
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.105583>
- Valbuena, D., Meléndez, M., Villegas, V., Sánchez, M., & Rondón, M. (2020). *Daño celular y genético como determinantes de la toxicidad de los plaguicidas*. *Ciencia En Desarrollo*, 11(2), 25-42. <https://doi.org/10.19053/01217488.v11.n2.2020.11245>
- Valbuena, D., Meléndez, M., Villegas, V., Sánchez, M., & Rondón, M. (2020b). *Daño celular y genético como determinantes de la toxicidad de los plaguicidas*. *CIENCIA EN DESARROLLO*, 11(2), 25-42. <https://doi.org/10.19053/01217488.v11.n2.2020.11245>
- Vallejo, F. (2018). *Pruebas regionales y de rendimiento de líneas avanzadas de tomate tipo "chonto" solanum lycopersicum de crecimiento determinado con miras a la liberación de un nuevo cultivar adaptado a las condiciones del valle del cauca en colombia*. *Hermes*.<http://www.hermes.unal.edu.co/pages/Consultas/Proyecto.xhtml?idProyecto=43962&opcion=1>

Verjel, M. (2019). *Evaluación del efecto genotóxico inducido por exposición laboral a pesticidas en agricultores del municipio de ábrego, Norte de Santander.*

http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/815/1/Verjel_2019_TG.pdf

Yañez, L., Rico, P., & Meléndez, I. (2019). *Genotoxic evaluation of durazno extracts prunus pérsica from the variety gran jarillo, cultivated the Chitagà, North of Santander.* Bistua, 17(2), 126. <https://doi.org/10.24054/01204211.v2.n2.2019.3528>

Zamora, D., Rodríguez, P., Ferrer, A., Fung, Y., Isaac, E., & Asanza, G. (2020). *Producción de tomate (Solanum lycopersicum L.) bajo riego con agua magnetizada en casa de cultivo protegido.* Ciencia en su PC, 1, 60-74. Centro de Información y Gestión Tecnológica de Santiago de Cuba. <https://www.redalyc.org/journal/1813/181363107005/html/>

Zaragoza, A., Valladares, B., Ortega, C., Zamora, J., Velázquez, V., & Aparicio, J. (2016). *Repercusiones del uso de los organoclorados sobre el ambiente y salud pública.* https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000100043

Zaragoza, A., Valladares, B., Ortega, C., Zamora, J., Velázquez, V., & Aparicio, J. (2016). *Repercusiones del uso de los organoclorados sobre el ambiente y salud pública.* https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000100043

Apéndices

Apéndice A

Preparación de soluciones para la realización de ensayo cometa.

Solución de PBS libre de Calcio (Ca^{2+}) y Magnesio (Mg^{2+})

Para preparar 500 mL de solución de PBS, se comienza disolviendo en agua desionizada 4.0 g de NaCl, seguido de 0.1 g de KCl y 0.1 g de KH_2PO_4 , asegurándose de agitar bien después de cada adición para una completa disolución. Luego, se elige una de las variantes de fosfato de sodio (0.61 g) de Na_2HPO_4 , (1.15 g) de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ o (1.53 g) de $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ y se añade asegurándose de disolver completamente. Finalmente, ajusta el volumen total a 500 mL con agua desionizada, transfiere la solución a un recipiente adecuado y almacénala en refrigeración a 4°C hasta su uso.

Solución lisis stock

En 100 mL de agua destilada, se disolvieron 29.22 gramos de NaCl (2.5 M), 7.44 gramos de EDTA (100 mM) y 0.24 gramos de Tris (10 mM). Luego, se añadieron 2.4 gramos de NaOH (lentejas), se dejó disolver durante 20 minutos y se ajustó el pH a 10.5. A continuación, se añadieron 2 gramos de lauril sarcosinato de sodio, se dejó disolver durante 30 minutos y se ajustó el pH a 10.0 usando HCl o NaOH. El volumen total de la solución se ajustó a 200 mL con agua destilada.

Solución de trabajo

De la solución stock lisis se tomaron 89 mL, se añadieron 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) y 1 mL de Triton X-100, y se completó el volumen a 100 mL.

Buffer Neutralizante

Para preparar 500 mL de solución, primero se disuelve 24.25 g de Tris (tris(hidroximetil)aminometano) en agua destilada. A continuación, ajusta el pH a 7.5 utilizando ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH), agregándolo lentamente mientras se agita para asegurar una distribución uniforme. Una vez ajustado el pH, traslada la solución a un frasco ámbar para protegerla de la luz y almacénala a 4°C para mantener su estabilidad hasta su uso.

Solución Stock de Buffer de electroforesis

Para preparar la solución de **NaOH 10 N** se disolvió 40 g en 100 mL de agua destilada. Esta solución tiene una duración de dos semanas y debe almacenarse a temperatura ambiente.

Prepara la solución de **EDTA 200 mM** se disolvió 7.445 g en 100 mL de agua destilada y se almacenó a temperatura ambiente en un frasco ámbar para protegerla de la luz.

Buffer de Electroforesis

De las dos soluciones madres anteriores de NaOH (10 N) y otra de EDTA (200 mM). Se mezclaron 30 mL de NaOH y 5 mL de EDTA por litro de solución, asegurando el pH > 13

Agarosa de Punto de Fusión Normal

Se pesaron 0.30 gramos de NMA y se añadieron 30 mL de PBS libre de calcio y magnesio. La mezcla se disolvió en una plancha de calentamiento durante aproximadamente 2 minutos.

Agarosa de Bajo Punto de Fusión

Se pesaron 0.05 gramos de LMA y se añadieron 10 mL de PBS libre de calcio y magnesio. La mezcla se disolvió en una plancha de calentamiento.

Solución stock (0.2 mg/mL) de Bromuro de etidio

Se disolvió 10 mg de Bromuro de etidio en 50 mL de agua destilada. Almacenar a temperatura ambiente en frasco ámbar cubierto con papel aluminio

Solución de trabajo (0.02 mg/mL) de Bromuro de etidio

Se le adicionó 1.0 mL de solución stock de bromuro de etidio a 9 mL de agua destilada y almacena en un recipiente oscuro y hermético.

Apéndice B

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos de la longitud del cometa.

```

      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tratamiento  7 246644    35235   350.6 <2e-16 ***
Residuals 1318 132457     100

```

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

      Group Letter MonoLetter
1      La Playa 9      a      a
2      Ábrego 5      a      a
3      La Playa 7      a      a
4      Ábrego 6      b      b
5      Ábrego 7      c      c
6      La Playa 8      c      c
7 Control positivo    d      d
8 Control negativo    e      e

```

```
> Longitud del cometa
```

```

TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level
factor levels have been ordered

```

```
Fit: aov(formula = Longitud_Cometa ~ Tratamiento, data = df)
```

```
$Tratamiento
```

```

      diff      lwr      upr      p adj
La Playa 90-Control negativo 22.1833777 18.7115854 25.655170 0.0000000
Ábrego 50-Control negativo 24.7772369 21.7229361 27.831538 0.0000000
La Playa 70-Control negativo 25.1521356 21.7654038 28.538867 0.0000000
Ábrego 60-Control negativo 29.2823264 25.9109761 32.653677 0.0000000
Ábrego 70-Control negativo 33.1949823 29.7589586 36.631006 0.0000000
La Playa 80-Control negativo 34.2570738 30.8703421 37.643806 0.0000000
Control positivo-Control negativo 57.4921166 53.7949714 61.189262 0.0000000
Ábrego 50-La Playa 90 2.5938592 -0.5488519 5.736570 0.1938059
La Playa 70-La Playa 90 2.9687579 -0.4979165 6.435432 0.1567907
Ábrego 60-La Playa 90 7.0989487 3.6472996 10.550598 0.0000000
Ábrego 70-La Playa 90 11.0116046 7.4967593 14.526450 0.0000000
La Playa 80-La Playa 90 12.0736961 8.6070218 15.540370 0.0000000
Control positivo-La Playa 90 35.3087389 31.5382267 39.079251 0.0000000
La Playa 70-Ábrego 50 0.3748987 -2.6735833 3.423381 0.9999527
Ábrego 60-Ábrego 50 4.5050895 1.4737048 7.536474 0.0001883
Ábrego 70-Ábrego 50 8.4177455 5.3145939 11.520897 0.0000000
La Playa 80-Ábrego 50 9.4798370 6.4313550 12.528319 0.0000000
Control positivo-Ábrego 50 32.7148797 29.3248689 36.104891 0.0000000
Ábrego 60-La Playa 70 4.1301908 0.7641112 7.496270 0.0050080
Ábrego 70-La Playa 70 8.0428468 4.6119944 11.473699 0.0000000
La Playa 80-La Playa 70 9.1049383 5.7234532 12.486423 0.0000000
Control positivo-La Playa 70 32.3399810 28.6476414 36.032321 0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 60 3.9126560 0.4969864 7.328326 0.0122140
La Playa 80-Ábrego 60 4.9747475 1.6086679 8.340827 0.0002111
Control positivo-Ábrego 60 28.2097902 24.5315539 31.888027 0.0000000
La Playa 80-Ábrego 70 1.0620915 -2.3687609 4.492944 0.9821042
Control positivo-Ábrego 70 24.2971342 20.5595308 28.034738 0.0000000
Control positivo-La Playa 80 23.2350427 19.5427031 26.927382 0.0000000

```

Apéndice C

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del área del cometa.

```
Df      Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
Tratamiento    7 4.290e+09 612829584   640.5 <2e-16 ***
Residuals   1318 1.261e+09   956796
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Group Letter MonoLetter

1	La Playa 9	a	a
2	Ábrego 5	b	b
3	La Playa 7	bc	bc
4	Ábrego 6	c	c
5	La Playa 8	d	d
6	Ábrego 7	d	d
7	Control positivo	e	e
8	Control negativo	f	f

Área Cometa

```
TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level
  factor levels have been ordered
```

```
Fit: aov(formula = Área_Cometa ~ Tratamiento, data = df)
```

\$Tratamiento

	diff	lwr	upr	p adj
La Playa 90-Control negativo	1154.16948	815.4162564	1492.9227	0.0000000
Ábrego 50-Control negativo	1662.22629	1364.2089687	1960.2436	0.0000000
La Playa 70-Control negativo	1959.54413	1629.0905242	2289.9977	0.0000000
Ábrego 60-Control negativo	2058.42180	1729.4690094	2387.3746	0.0000000
La Playa 80-Control negativo	3004.36512	2673.9115119	3334.8187	0.0000000
Ábrego 70-Control negativo	3025.80920	2690.5460268	3361.0724	0.0000000
Control positivo-Control negativo	7321.77300	6961.0314156	7682.5146	0.0000000
Ábrego 50-La Playa 90	508.05681	201.4130412	814.7006	0.0000154
La Playa 70-La Playa 90	805.37465	467.1208067	1143.6285	0.0000000
Ábrego 60-La Playa 90	904.25232	567.4645301	1241.0401	0.0000000
La Playa 80-La Playa 90	1850.19564	1511.9417944	2188.4495	0.0000000
Ábrego 70-La Playa 90	1871.63972	1528.6856820	2214.5938	0.0000000
Control positivo-La Playa 90	6167.60352	5799.7033060	6535.5037	0.0000000
La Playa 70-Ábrego 50	297.31784	-0.1317232	594.7674	0.0501962
Ábrego 60-Ábrego 50	396.19551	100.4141799	691.9768	0.0013071
La Playa 80-Ábrego 50	1342.13883	1044.6892645	1639.5884	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 50	1363.58291	1060.7990725	1666.3667	0.0000000
Control positivo-Ábrego 50	5659.54671	5328.7731505	5990.3203	0.0000000
Ábrego 60-La Playa 70	98.87767	-229.5608467	427.3162	0.9847832
La Playa 80-La Playa 70	1044.82099	714.8793164	1374.7627	0.0000000
Ábrego 70-La Playa 70	1066.26507	731.5064762	1401.0237	0.0000000
Control positivo-La Playa 70	5362.22887	5001.9561794	5722.5016	0.0000000
La Playa 80-Ábrego 60	945.94332	617.5048098	1274.3818	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 60	967.38740	634.1102435	1300.6646	0.0000000
Control positivo-Ábrego 60	5263.35120	4904.4546156	5622.2478	0.0000000
Ábrego 70-La Playa 80	21.44408	-313.3145114	356.2027	0.9999995
Control positivo-La Playa 80	4317.40788	3957.1351918	4677.6806	0.0000000
Control positivo-Ábrego 70	4295.96380	3931.2745901	4660.6530	0.0000000

Apéndice D

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del diámetro de la cabeza.

```
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tratamiento    7 245509    35073   454.4 <2e-16 ***
Residuals   1318 101737      77
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

	Group	Letter	MonoLetter
1	La Playa 9	a	a
2	Ábrego 5	b	b
3	La Playa 7	c	c
4	Ábrego 6	cd	cd
5	Ábrego 7	d	d
6	La Playa 8	e	e
7	Control positivo	f	f
8	Control negativo	g	g

Diámetro de la cabeza

```
TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level
factor levels have been ordered
```

```
Fit: aov(formula = Diámetro_Cabeza ~ Tratamiento, data = df)
```

```
$Tratamiento
```

	diff	lwr	upr	p adj
La Playa 90-Control negativo	6.944099	3.90142415	9.986775	0.0000000
Ábrego 50-Control negativo	13.546416	10.86962987	16.223202	0.0000000
La Playa 70-Control negativo	17.372671	14.40454257	20.340799	0.0000000
Ábrego 60-Control negativo	20.215095	17.26044714	23.169743	0.0000000
Ábrego 70-Control negativo	23.124305	20.11297712	26.135632	0.0000000
La Playa 80-Control negativo	26.767733	23.79960429	29.735861	0.0000000
Control positivo-Control negativo	54.244466	51.00429137	57.484640	0.0000000
Ábrego 50-La Playa 90	6.602317	3.84804786	9.356585	0.0000000
La Playa 70-La Playa 90	10.428571	7.39038157	13.466761	0.0000000
Ábrego 60-La Playa 90	13.270996	10.24597391	16.296017	0.0000000
Ábrego 70-La Playa 90	16.180205	13.09979850	19.260612	0.0000000
La Playa 80-La Playa 90	19.823633	16.78544329	22.861823	0.0000000
Control positivo-La Playa 90	47.300366	43.99589328	50.604839	0.0000000
La Playa 70-Ábrego 50	3.826255	1.15456828	6.497941	0.0003936
Ábrego 60-Ábrego 50	6.668679	4.01197660	9.325382	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 50	9.577889	6.85828992	12.297488	0.0000000
La Playa 80-Ábrego 50	13.221317	10.54963001	15.893003	0.0000000
Control positivo-Ábrego 50	40.698050	37.72704762	43.669052	0.0000000
Ábrego 60-La Playa 70	2.842424	-0.10760447	5.792453	0.0684855
Ábrego 70-La Playa 70	5.751634	2.74483843	8.758430	0.0000002
La Playa 80-La Playa 70	9.395062	6.43153167	12.358592	0.0000000
Control positivo-La Playa 70	36.871795	33.63583216	40.107758	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 60	2.909210	-0.08427961	5.902699	0.0638331
La Playa 80-Ábrego 60	6.552637	3.60260878	9.502666	0.0000000
Control positivo-Ábrego 60	34.029371	30.80576804	37.252973	0.0000000
La Playa 80-Ábrego 70	3.643428	0.63663219	6.650223	0.0059503
Control positivo-Ábrego 70	31.120161	27.84452907	34.395793	0.0000000
Control positivo-La Playa 80	27.476733	24.24077043	30.712696	0.0000000

Apéndice E

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del porcentaje de ADN de la cabeza.

Group	Letter	MonoLetter
1	La Playa 9	a
2	Ábrego 5	ab
3	Ábrego 7	abc
4	Control negativo	bc
5	La Playa 7	c
6	La Playa 8	c
7	Control positivo	d
8	Ábrego 6	e

Porcentaje de ADN en la cabeza

```
TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level
  factor levels have been ordered
```

```
Fit: aov(formula = P_ADN_Cabeza ~ Tratamiento, data = df)
```

\$Tratamiento	diff	lwr	upr	p adj
La Playa 90-Ábrego 60	3.1814694	0.226333004	6.136606	0.0245362
Ábrego 50-Ábrego 60	5.7228263	3.127500087	8.318152	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 60	5.9164967	2.992164279	8.840829	0.0000000
Control negativo-Ábrego 60	8.0721615	5.185773151	10.958550	0.0000000
La Playa 70-Ábrego 60	8.4901605	5.608284639	11.372036	0.0000000
La Playa 80-Ábrego 60	8.8454691	5.963593281	11.727345	0.0000000
Control positivo-Ábrego 60	14.7187692	11.569639713	17.867899	0.0000000
Ábrego 50-La Playa 90	2.5413569	-0.149281550	5.231995	0.0801669
Ábrego 70-La Playa 90	2.7350273	-0.274214665	5.744269	0.1064108
Control negativo-La Playa 90	4.8906921	1.918310092	7.863074	0.0000183
La Playa 70-La Playa 90	5.3086911	2.340690833	8.276691	0.0000019
La Playa 80-La Playa 90	5.6639997	2.695999475	8.632000	0.0000002
Control positivo-La Playa 90	11.5372998	8.309168202	14.765431	0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 50	0.1936705	-2.463099054	2.850440	0.9999987
Control negativo-Ábrego 50	2.3493352	-0.265610594	4.964281	0.1152712
La Playa 70-Ábrego 50	2.7673342	0.157370161	5.377298	0.0287112
La Playa 80-Ábrego 50	3.1226429	0.512678803	5.732607	0.0070549
Control positivo-Ábrego 50	8.9959430	6.093578291	11.898308	0.0000000
Control negativo-Ábrego 70	2.1556648	-0.786093911	5.097423	0.3375249
La Playa 70-Ábrego 70	2.5736638	-0.363667488	5.510995	0.1360192
La Playa 80-Ábrego 70	2.9289724	-0.008358846	5.866304	0.0512720
Control positivo-Ábrego 70	8.8022725	5.602315758	12.002229	0.0000000
La Playa 70-Control negativo	0.4179990	-2.481558242	3.317556	0.9998614
La Playa 80-Control negativo	0.7733076	-2.126249600	3.672865	0.9926153
Control positivo-Control negativo	6.6466077	3.481289353	9.811926	0.0000000
La Playa 80-La Playa 70	0.3553086	-2.539756645	3.250374	0.9999533
Control positivo-La Playa 70	6.2286087	3.067404648	9.389813	0.0000001
Control positivo-La Playa 80	5.8733001	2.712096006	9.034504	0.0000006

Apéndice F

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos de la longitud de la cola.

```
summary(model)
```

```
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tratamiento    7  18629   2661.3    36.13 <2e-16 ***
Residuals  1318   97091     73.7
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
      Group Letter MonoLetter
1 Control positivo      a      a
2   La Playa 8      b      b
3   La Playa 7      b      b
4   Ábrego 6     bc     bc
5   Ábrego 7     bc     bc
6   Ábrego 5      c      c
7   La Playa 9      d      d
8 Control negativo      e      e
```

```
Longitud_Cola
```

```
TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
```

```
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level
    factor levels have been ordered
```

```
Fit: aov(formula = Longitud_Cola ~ Tratamiento, data = df)
```

```
$Tratamiento
```

```
      diff      lwr      upr      p adj
Control positivo-Control negativo  3.3239369  0.1527342  6.495140 0.0322115
La Playa 80-Control negativo      7.3092171  4.4042696 10.214165 0.0000000
La Playa 70-Control negativo      7.6302047  4.7252572 10.535152 0.0000000
Ábrego 60-Control negativo      8.8871071  5.9953530 11.778861 0.0000000
Ábrego 70-Control negativo      9.9036252  6.9563978 12.850853 0.0000000
Ábrego 50-Control negativo     11.0506967  8.4308897 13.670504 0.0000000
La Playa 90-Control negativo     15.0591541 12.0812464 18.037062 0.0000000
La Playa 80-Control positivo      3.9852802  0.8181994  7.152361 0.0034892
La Playa 70-Control positivo      4.3062678  1.1391870  7.473349 0.0010132
Ábrego 60-Control positivo      5.5631702  2.4081864  8.718154 0.0000028
Ábrego 70-Control positivo      6.5796883  3.3737828  9.785594 0.0000000
Ábrego 50-Control positivo      7.7267597  4.8189996 10.634520 0.0000000
La Playa 90-Control positivo     11.7352172  8.5010844 14.969350 0.0000000
La Playa 70-La Playa 80          0.3209877 -2.5794596  3.221435 0.9999770
Ábrego 60-La Playa 80          1.5778900 -1.3093432  4.465123 0.7137756
Ábrego 70-La Playa 80          2.5944081 -0.3483836  5.537200 0.1307145
Ábrego 50-La Playa 80          3.7414796  1.1266636  6.356296 0.0004004
La Playa 90-La Playa 80          7.7499370  4.7764192 10.723455 0.0000000
Ábrego 60-La Playa 70          1.2569024 -1.6303309  4.144136 0.8907806
Ábrego 70-La Playa 70          2.2734205 -0.6693713  5.216212 0.2698601
Ábrego 50-La Playa 70          3.4204919  0.8056759  6.035308 0.0019255
La Playa 90-La Playa 70          7.4289494  4.4554316 10.402467 0.0000000
Ábrego 70-Ábrego 60            1.0165181 -1.9132507  3.946287 0.9659465
Ábrego 50-Ábrego 60            2.1635896 -0.4365613  4.763740 0.1852782
La Playa 90-Ábrego 60          6.1720470  3.2114170  9.132677 0.0000000
Ábrego 50-Ábrego 70            1.1470714 -1.5146370  3.808780 0.8959053
La Playa 90-Ábrego 70          5.1555289  2.1406927  8.170365 0.0000067
La Playa 90-Ábrego 50          4.0084574  1.3128171  6.704098 0.0001861
```

Apéndice G

Resultados estadísticos y subconjuntos homogéneos completos del porcentaje de ADN de la cola.

```

      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Tratamiento    7  18629   2661.3    36.13 <2e-16 ***
Residuals  1318   97091     73.7

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

      Group Letter MonoLetter
1      La Playa 8      a      a
2      La Playa 7      a      a
3 Control negativo  ab     ab
4      Ábrego 7    abc     abc
5      Ábrego 5    bc      bc
6      La Playa 9      c      c
7      Ábrego 6      d      d
8 Control positivo  e      e

```

Porcentaje de ADN en la cola

```

TukeyHSD(model, "Tratamiento", ordered = TRUE)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level
  factor levels have been ordered

```

Fit: aov(formula = X.DNA.cola ~ Tratamiento, data = df)

\$Tratamiento

	diff	lwr	upr	p adj
La Playa 80-Control positivo	5.8733001	2.712096006	9.034504	0.0000006
La Playa 70-Control positivo	6.2286087	3.067404648	9.389813	0.0000001
Control negativo-Control positivo	6.6466077	3.481289353	9.811926	0.0000000
Ábrego 70-Control positivo	8.8022725	5.602315758	12.002229	0.0000000
Ábrego 50-Control positivo	8.9959430	6.093578291	11.898308	0.0000000
La Playa 90-Control positivo	11.5372998	8.309168202	14.765431	0.0000000
Ábrego 60-Control positivo	14.7187692	11.569639713	17.867899	0.0000000
La Playa 70-La Playa 80	0.3553086	-2.539756645	3.250374	0.9999533
Control negativo-La Playa 80	0.7733076	-2.126249600	3.672865	0.9926153
Ábrego 70-La Playa 80	2.9289724	-0.008358846	5.866304	0.0512720
Ábrego 50-La Playa 80	3.1226429	0.512678803	5.732607	0.0070549
La Playa 90-La Playa 80	5.6639997	2.695999475	8.632000	0.0000002
Ábrego 60-La Playa 80	8.8454691	5.963593281	11.727345	0.0000000
Control negativo-La Playa 70	0.4179990	-2.481558242	3.317556	0.9998614
Ábrego 70-La Playa 70	2.5736638	-0.363667488	5.510995	0.1360192
Ábrego 50-La Playa 70	2.7673342	0.157370161	5.377298	0.0287112
La Playa 90-La Playa 70	5.3086911	2.340690833	8.276691	0.0000019
Ábrego 60-La Playa 70	8.4901605	5.608284639	11.372036	0.0000000
Ábrego 70-Control negativo	2.1556648	-0.786093911	5.097423	0.3375249
Ábrego 50-Control negativo	2.3493352	-0.265610594	4.964281	0.1152712
La Playa 90-Control negativo	4.8906921	1.918310092	7.863074	0.0000183
Ábrego 60-Control negativo	8.0721615	5.185773151	10.958550	0.0000000
Ábrego 50-Ábrego 70	0.1936705	-2.463099054	2.850440	0.9999987
La Playa 90-Ábrego 70	2.7350273	-0.274214665	5.744269	0.1064108
Ábrego 60-Ábrego 70	5.9164967	2.992164279	8.840829	0.0000000
La Playa 90-Ábrego 50	2.5413569	-0.149281550	5.231995	0.0801669
Ábrego 60-Ábrego 50	5.7228263	3.127500087	8.318152	0.0000000
Ábrego 60-La Playa 90	3.1814694	0.226333004	6.136606	0.0245362

Apéndice H

Resultados de límites en multiresiduos de plaguicidas encontrados.

Compuesto	t _R , min	NMC, mg/kg	Concentración, mg/kg		
			994424-01-AU	994424-02-AU	994424-03-AU
			TOMATES ORGÁNICOS	ÁBREGO	LA PLAYA DE BELÉN
<i>alfa</i> -Lindano	12.3	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<i>beta</i> -Lindano	13.0	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<i>gamma</i> -Lindano	13.1	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<i>delta</i> -Lindano	13.8	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Heptaclor	15.3	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Aldrin	16.4	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Heptaclor epóxido	17.8	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<i>trans</i> -Clordano	18.8	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endosulfan I	19.2	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
<i>cis</i> -Clordano	19.4	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
4,4'-DDE	20.2	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Dieldrin	20.3	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endrin	21.2	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endosulfan II	21.6	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
4,4'-DDD	22.1	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endrin aldehído	22.5	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endosulfan sulfato	23.6	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
4,4'-DDT	23.8	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Endrin Cetona	25.7	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Metoxiclor	26.6	0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004

Nota. En la imagen de la tabla se muestran los Tiempos de retención (t_R) con el nivel mínimo de cuantificación (NMC) y resultados del análisis de OCP en las muestras, analizada por GC-ECD.

Apéndice I.

Enlace de las fotografías observadas en ensayo cometa de los extractos de tomate de Ábrego, la Playa de Belén, orgánicos y controles.

<https://drive.google.com/drive/folders/1KbWooP6o6n8Q9-51JO3UvMvBXdMquSW0>