



FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS

**Toxicidad en linfocitos humanos expuestos a
la mezcla de los fungicidas Captan Ultra 50wp
y Coraza 720**

Que para obtener el título de

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGIA

P R E S E N T A

REYNALDO RAFAEL ARRIAGA PEREZ

DIRECTOR DE TESIS

Dr. en C.B. Martin Pablo Antonio Moreno Pérez

COASESOR DE TESIS

Dr. en Bt. Gustavo Yañez Ocampo

Dra. María Elena Estrada Zúñiga



Agosto 2025

índice

Resumen.....	4
I MARCO TEÓRICO.....	8
I Introducción.....	8
1.2 Estadísticas de uso de PC a nivel mundial.....	9
1.3 Estadísticas de uso de PC en México.....	10
1.4 Daños causados por los PC.....	12
1.5 Clasificación o tipo de PC.....	13
1.6 Mezcla de PC.....	19
1.7 Fungicidas utilizados en el presente trabajo de investigación.....	20
1.8 Modelos biológicos in vitro utilizados para evaluar el efecto de PC en linfocitos..	23
1.9 Linfocitos.....	24
II Justificación.....	29
2.1 Planteamiento del problema.....	30
2.2 Pregunta de investigación.....	31
2.3 Hipótesis.....	31
2.4 Objetivos.....	32
III Materiales y métodos.....	33
3.1 Obtención de muestra sanguínea.....	33
3.2 Extracción de linfocitos.....	33
3.3 Ensayo de toxicidad.....	34
3.3.1 Viabilidad celular.....	34
3.4 Análisis estadístico (validación del modelo experimental).....	38
IV Resultados.....	39
4.1 Viabilidad de linfocitos expuestos al fungicida Captan Ultra 50 wp.....	39
4.2 Viabilidad de linfocitos expuestos al fungicida Coraza 720s.....	40
4.3 Viabilidad celular de la mezcla de fungicidas.....	41
V Discusión.....	43
5.1 Toxicidad del fungicida Captan.....	44
5.2 Toxicidad del fungicida Cloratalonil.....	45

5.3 Mezcla de fungicidas Captan + Cloratalonil.....	46
VI Conclusiones.....	47
VII Referencias bibliográficas	48
CAPTAN 50 WP	55
Para obtener más información, póngase en contacto con.....	55
Sección 2: IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS.....	55
Pictogramas de peligro	56
Sección 5: MEDIDAS DE EXTINCIÓN DE INCENDIOS	57
Sección 6: MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL	58
Sección 7: MANEJO Y ALMACENAMIENTO	58
Sección 8: CONTROLES DE EXPOSICIÓN/PROTECCIÓN PERSONAL	59
Sección 9: PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	59
Sección 10: ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD	61
Sección 11: INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA.....	61
Nombre químico	62
Nombre químico	62
Nombre químico	62
Sección 12: INFORMACIÓN ECOLÓGICA.....	62
Sección 13: CONSIDERACIONES DE ELIMINACIÓN DE RESIDUOS.....	63
Sección 14: INFORMACIÓN DE TRANSPORTE	63
Sección 16: OTROS DATOS.....	65
Anexo 2 Hoja de seguridad Cloratalonil.....	66
Anexo 3.....	72

Resumen

La exposición prolongada en humanos a pesticidas derivadas de actividades agrícolas ha demostrado ser una de las principales causas de múltiples enfermedades entre ellas, cáncer, problemas reproductivos, alteraciones endocrinas, afecciones cutáneas además de malestares respiratorios.

Dentro de los pesticidas más usados en el área agronómica se encuentran los fungicidas de amplio espectro los cuales son empleados como protectores y erradicadores ante diversas infecciones fúngicas.

Captan y Clorotalonil son utilizados como fungicidas de amplio espectro utilizándose mayormente en cultivos de maíz, papa, calabaza, frijol, tomate y jitomate, así como en el sector florícola. Estos fungicidas han sido utilizados para eliminar y controlar plagas que afectan los cultivos tales como antracnosis, cenicilla, manchas foliares mohos, roya, roña, tizones foliares, pudriciones de raíz, tallos, flores y frutos, pudrición negra.

El modelo de viabilidad celular in vitro mediante el uso de células linfocíticas es una de las técnicas empleadas para evaluar el impacto de estos fungicidas a la salud humana determinando efectos tóxicos en células del sistema inmunológico.

Los linfocitos son un tipo de glóbulo blanco crucial en la respuesta inmunitaria del cuerpo. Son importantes en evaluaciones y experimentos de viabilidad celular para determinar la toxicidad de fungicidas, ya que su salud y función reflejan cómo estos químicos afectan a las células humanas, permitiendo evaluar la seguridad y efectos adversos de estos compuestos en el organismo.

Se han encontrado artículos en los que se reporta la disminución de la viabilidad de linfocitos en pruebas in vitro y ex vitro expuestos a estos fungicidas dada su capacidad de generar residuos tóxicos.

A pesar de ser unos de los fungicidas más utilizados, en la literatura consultada no se han encontrado reportes de experimentos similares en donde se describa la toxicidad en linfocitos expuestos a estos compuestos a partir del modelo de viabilidad celular.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la viabilidad celular in vitro de linfocitos humanos expuestos a diferentes concentraciones (2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 μ M) de los fungicidas captan y Clorotalonil, así como de su respectiva mezcla a la misma concentración a 1 y 24 horas de exposición.

Se utilizaron 50 μ L de linfocitos de un donador adulto sano para cada unidad experimental, se cultivaron en medio RPMI suplementado con PBS y el agente fúngico (captan y Clorotalonil) a distintas concentraciones previamente descritas. Se utilizó un control positivo (RPMI+linfocitos+PBS+25 μ L de H₂O₂) y un control negativo al cual no se le añadieron los agentes fungicidas (RPMI+linfocitos+PBS).

Posteriormente los linfocitos fueron incubados por 1 y 24 horas para cada tratamiento en incubadora con CO₂ a temperatura corporal (37°C), finalmente se realizó un conteo celular en cámara de Neubauer para obtener el número de células vivas y muertas de cada tratamiento y así obtener el porcentaje de viabilidad celular. Finalmente se consideró la disminución en la viabilidad celular a partir del valor del 90% con respecto a la literatura disponible.

Se encontró que la exposición a la mezcla de los fungicidas Captan ultra 50 wp y Coraza 720s presentó mayor toxicidad en linfocitos humanos comparada con la exposición de manera individual de los fungicidas Captan ultra 50 wp y coraza 720s.

Este estudio investiga los efectos adversos de la exposición a los fungicidas Captan y clorotalonil en linfocitos humanos, destacando la importancia del tiempo de exposición, aportando datos cruciales para la regulación y manejo precautorio de fungicidas en la agricultura y protección de la salud pública. Este estudio sugiere implementar otros estudios que contribuyan a fortalecer los datos encontrados en términos de toxicidad celular o daño genético por ejemplo daños genéticos, intercambio de cromátides hermanas o la utilización del ensayo cometa.

Palabras clave: pesticidas, captan, Clorotalonil, linfocitos, viabilidad celular.

Summary

Prolonged exposure to pesticides derived from agricultural activities in humans has proven to be one of the main causes of multiple diseases, including cancer,

reproductive problems, endocrine disorders, skin conditions, and respiratory ailments. Among the most used pesticides in agronomy are broad-spectrum fungicides, which are employed as protectors and eradicators against various fungal infections.

Captan and chlorothalonil are used as broad-spectrum fungicides, primarily in crops such as corn, potatoes, squash, beans, tomatoes, and in the floriculture sector. These fungicides have been utilized to eliminate and control pests affecting crops, such as anthracnose, powdery mildew, leaf spots, molds, rust, scab, leaf blights, root rots, stem rots, flower and fruit rots, and black rot.

The *in vitro* cell viability model using lymphocyte cells is one of the techniques used to evaluate the impact of these fungicides on human health by determining toxic effects on cells of the immune system. Lymphocytes are a type of white blood cell crucial to the body's immune response. They are important in cell viability assessments and experiments to determine the toxicity of fungicides since their health and function reflect how these chemicals affect human cells, allowing the evaluation of the safety and adverse effects of these compounds on the body.

Articles have reported decreased lymphocyte viability in *in vitro* and *ex vitro* tests exposed to these fungicides due to their ability to generate toxic residues. Despite being some of the most widely used fungicides, the literature reviewed did not find reports of similar experiments describing the toxicity in lymphocytes exposed to these compounds using the cell viability model.

The objective of this research was to determine the *in vitro* cell viability of human lymphocytes exposed to different concentrations (2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 μM) of the fungicides captan and chlorothalonil, as well as their respective mixture at the same concentration at 1 and 24 hours of exposure.

50 μL of lymphocytes from a healthy adult donor were used for each experimental unit, cultivated in RPMI medium supplemented with PBS and the fungicidal agent (captan and chlorothalonil) at the previously described concentrations. A positive

control (RPMI + lymphocytes + PBS + 25 µL of H₂O₂) and a negative control (RPMI + lymphocytes + PBS) without fungicidal agents were used.

Subsequently, the lymphocytes were incubated for 1 and 24 hours for each treatment in a CO₂ incubator at body temperature (37°C). Finally, a cell count was performed using a Neubauer chamber to obtain the number of live and dead cells from each treatment, thus determining the percentage of cell viability. A decrease in cell viability from the 90% value was considered, based on the available literature.

It was found that exposure to the mixture of the fungicides Captan ultra 50 wp and Coraza 720s showed greater toxicity in human lymphocytes compared to individual exposure to Captan ultra 50 wp and Coraza 720s.

This study investigates the adverse effects of exposure to the fungicides Captan and chlorothalonil on human lymphocytes, highlighting the importance of exposure time and providing crucial data for the regulation and precautionary management of fungicides in agriculture and public health protection. This study suggests implementing further studies to strengthen the data found in terms of cell toxicity or genetic damage, such as genetic damage, sister chromatid exchange, or the use of the comet assay.

Keywords: Pesticides, captan, chlorothalonil, lymphocytes, cell viability.

I MARCO TEÓRICO.

I Introducción

De acuerdo con Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés, Food an Agriculture Organization of the United Nations), se considera pesticida (PC) a cualquier sustancia o mezcla de compuestos de ingredientes químicos o biológicos que actúan como repelentes, destruyan o controlen cualquier plaga o para la regulación del crecimiento de cualquier especie vegetal (FAO, 1986).

El término PC aplica a los insecticidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, molusquicidas, preservadores de madera y otras sustancias usadas para controlar plagas, que incluyen también reguladores de crecimiento vegetal, defoliantes y desecantes (Abubakar et al., 2020).

Los PC han sido conocidos como agentes usados para la protección de cultivos contra pestes y enfermedades humanas, adicionalmente se han considerado como una herramienta benéfica para mantener y mejorar la calidad humana en el mundo mediante el mantenimiento y desarrollo de la agricultura a nivel global (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016, Syafrudin et al., 2021).

El aumento de la población mundial ha ocasionado la demanda alimentos nutritivos dada la necesidad de obtener una mayor cantidad y calidad de alimentos que satisfagan el hambre humana (Blair et al., 2015), p

Para lograr esto se requiere de alimentos de fácil acceso, de rápido crecimiento y obtención (Castrejon et al., 2014). Se ha demostrado que los PC ayudan a incrementar el rendimiento de las áreas de cultivo atacando plagas como hongos, insectos, artrópodos, arácnidos, etc.

Adicionalmente, los PC pueden ser altamente tóxicos debido a su alta persistencia en el ambiente (Lushchak et al., 2018), así los depósitos acuíferos, lagos, ríos y estuarios son susceptibles a su contaminación por su alta afinidad e interrelación del suelo con los cuerpos de agua (Syafrudin et al., 2021).

1.2 Estadísticas de uso de PC a nivel mundial

El uso de PC a nivel mundial ha ido en constante incremento en los últimos años (**Figura 1 y Figura**), se observa que en países como Chile, Nicaragua, Ecuador, Japón e Indonesia existe un uso preocupante de PC. Por otro lado, en México se observa un uso moderado de PC con respecto al área de cultivo existente, dada la eficacia de estos ante el combate a de enfermedades y plagas, además de la constante demanda de alimentos, a causa de la alta tasa de natalidad mundial

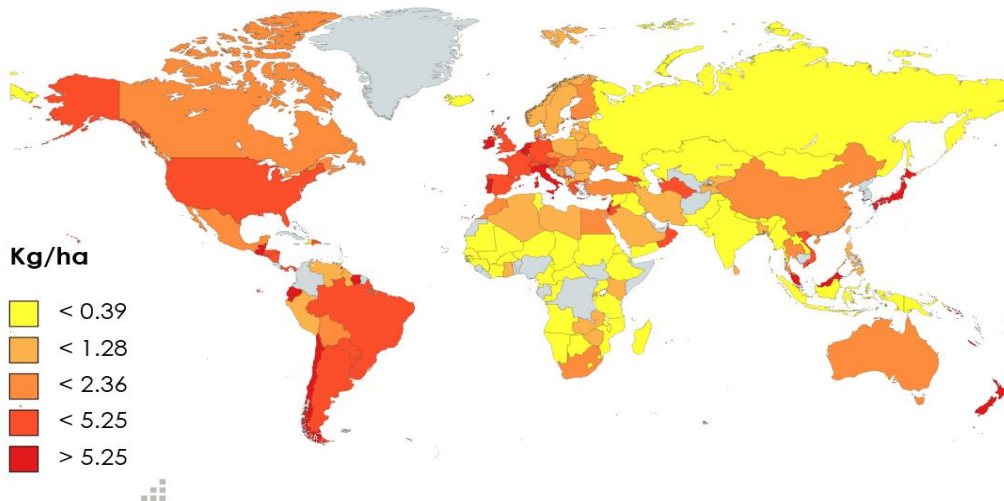


Figura 1. Uso de PC en general por área de cultivo a nivel mundial Elaboración propia. Fuente: base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAOSTAT). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>. Con apoyo del sitio web MapChart.com

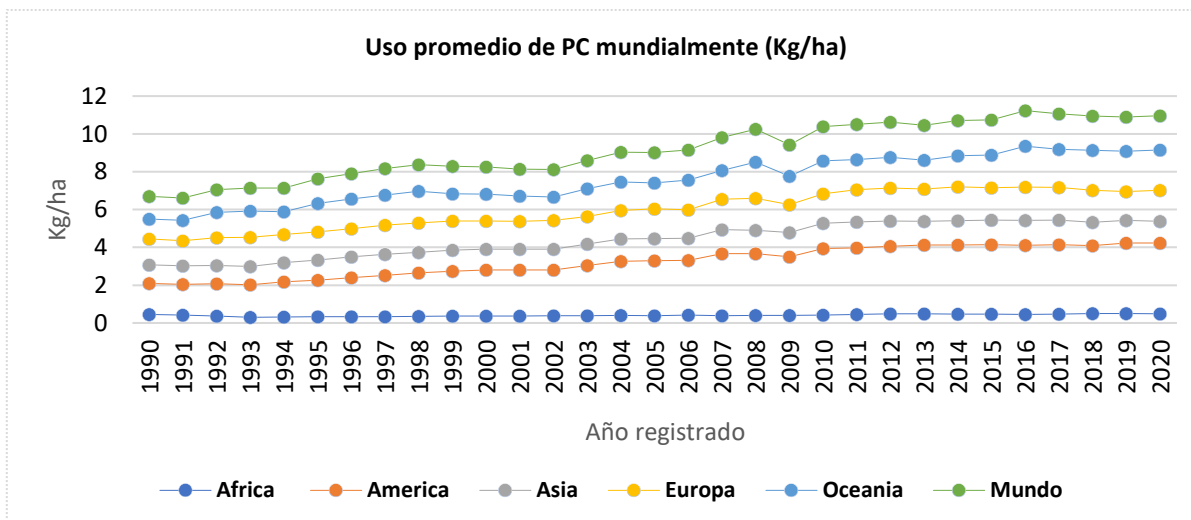


Figura 2. Uso promedio de PC mundialmente por área de cultivo. Elaboración propia. Fuente: base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAOSTAT). Desde: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>. Con apoyo del software Excel.

1.3 Estadísticas de uso de PC en México

Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) del año 2023, el área total de tierras dedicadas a la agricultura en México es de aproximadamente 32.1 millones de hectáreas, lo que representa alrededor del 16.3% del territorio nacional y hasta el año 2020 se consumieron 1.8 kg/ha de PC (**Figura 3**).

Sin embargo, es importante destacar que el uso de la tierra para la agricultura varía significativamente de una región a otra del país, siendo las zonas costeras y las tierras bajas las más propicias para la actividad agrícola, lo que significa un uso extensivo en estas áreas disponibles para la agricultura para la obtención de mayores rendimientos del cultivo.

Además, la extensión de tierras dedicadas a la agricultura en México ha disminuido en las últimas décadas debido a la urbanización, la deforestación y el cambio de uso de suelo para actividades industriales y de infraestructura (SEMARNAT, 2015).

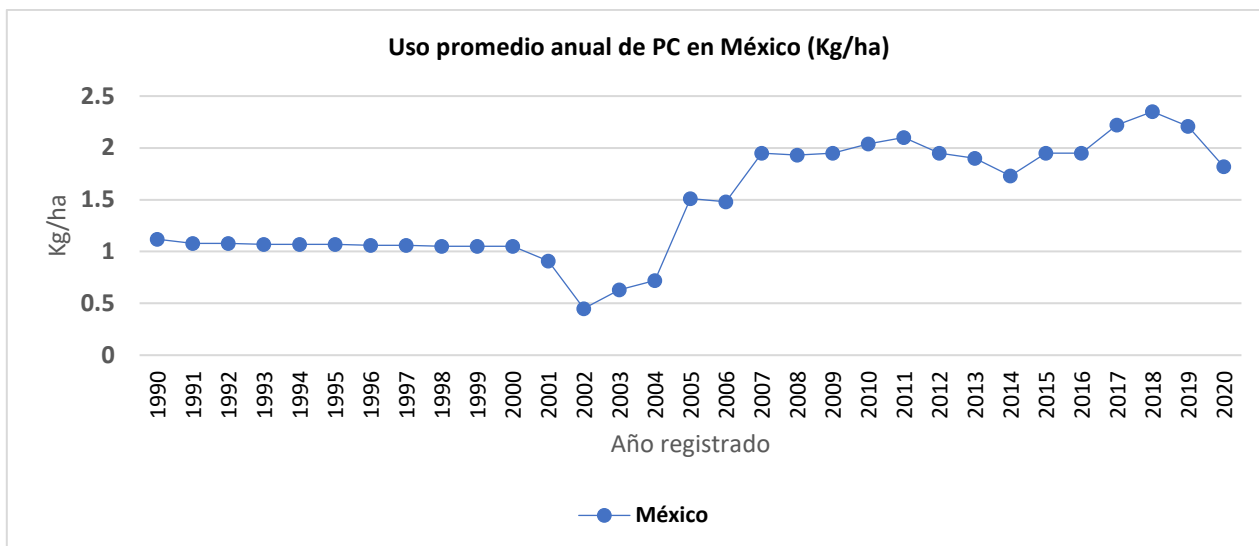


Figura 3. Uso de PC en México. Elaboración propia. Fuente: base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAOSTAT). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>. Con apoyo del software Excel

De acuerdo con el Gobierno del Estado de México (2021), la actividad agrícola en este estado se concentra en cultivos como el maíz, la cebada, la avena, la alfalfa, el tomate y la papa, además de los cultivos para flor de corte y ornamentales y se estima que tan solo en este Estado se desechan alrededor de 350 toneladas de envases de PC.

Acorde al Instituto Nacional de ecología y cambio climático en conjunto con la secretaria de medio ambiente y recursos naturales en el 2018 se realizó un análisis de reportes del uso de plaguicidas, en el que se encontró el uso de abamectina, carbarilo, benomilo, imidacloprid, captan, malatión, atrazina dimetoato, entre otros como los más usados en el periodo de 1980 a 2018, además de entre los 277 datos obtenidos se observó que un 73.27% se refiere a bactericidas y fungicidas.

En la región hortiflorícola del Estado de México en los municipios de: Villa Guerrero, Tenancingo, Ixtapan de la Sal, Coatepec Harinas y Zumpahuacan se reporta el uso excesivo de plaguicidas, sin equipamiento de protección personal adecuado o nulo (Castillo et al., 2015). Entre los fungicidas más usados en esta región acorde a Martínez 2014 de datos de campo, se encuentran el Clorotalonil y el captan con un uso promedio del 80 y 30% respectivamente.

1.4 Daños causados por los PC

La actividad agrícola es la principal fuente de exposición a los elementos residuales de los PC. Dependiendo de las condiciones climáticas se ha observado que aproximadamente el 47% del producto que se utiliza se deposita en suelo y en el agua o se dispersa en la atmósfera circundante (OMS,1990).

La exposición prolongada a compuestos o la mezcla de PC con efectos carcinogénicos pueden generar efectos negativos a la salud, entre ellos; los PC organoclorados (DDT, dieldrin, endosulfan, heptacloro, dicofol y metoxicloro), organofosforados (glifosato, malatión, paratión y dimetoato) y carbamatos (aldicarb, carbofuran y ziram) y sus residuos pueden ocasionar por ejemplo, efectos dermatológicos, gastrointestinales, neurológicos, carcinogénicos, respiratorios, reproductivos y endocrinológicos (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016).

Los elementos metálicos como plomo, cadmio, oxicluros, sulfatos e hidróxidos de cobre (Martí et al., 2009), que contienen los PC han sido considerados como los componentes activos más tóxicos dentro de los contaminantes ambientales (Alengebawy et al., 2021) dada su alta persistencia y acumulación en el ambiente.

La existencia de estos compuestos en el ecosistema incrementa drásticamente la posibilidad de adquirirse por organismos vivos, posterior a ello pueden presentar daños en órganos por su acumulación incluyendo riñón, hígado, huesos, piel, etc. Adicionalmente puede afectar seriamente diversos sistemas como el nervioso, óseo, endocrino, inmunológico, circulatorio (Marti et al., 2009).

De acuerdo con Hetrick et al. (2000), un gran número de PC ha sido encontrado en fuentes de agua potable en concentraciones por encima de los límites recomendados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés). El agua es un componente vital para el desarrollo de los seres vivos (Bibi et al., 2016). Acorde a la World Health Organization (WHO, por sus siglas en inglés) alrededor de un 80% de las enfermedades universales se contagian a través del agua (WHO, 1990).

1.5 Clasificación o tipo de PC

Los PC pueden ser clasificados de diferentes maneras según diferentes criterios, como su composición química, su modo de acción, su objetivo específico o su persistencia en el medio ambiente. Estas clasificaciones pueden proveer información útil sobre la química del pesticida, modo de acción y las plagas a las que ataca.

De acuerdo con Kaur et al. (2019), los métodos de clasificación de PC suelen estar basados en su origen, composición, estructura química y la naturaleza de sus componentes activos (**Tabla 1**).

Tabla 1 Clasificación de los PC

Por su origen o naturaleza			
Origen	Descripción	Ejemplos	Referencia
Fuentes orgánicas	Fitoquímicos: Vegetales como aceites esenciales y extractos vegetales.	Betacaroteno, polifenoles, antocianinas, ácido giberilico, terpenos.	(Eldridge, 2008).
	Sintéticos: Producidos por síntesis química	piretroides, organofosforados, carbamatos, organoclorados.	
Fuentes inorgánicas	Mezclas de sales inorgánicas Mezclas de Bordeaux	CuCO ₃ , Azufre, malaquita	
Biológicos	PC que utilizan sustancias producidas por microorganismos, animales o plantas	Taninos, Flavonoides, terpenos, fenoles.	

Por su composición química			
Composición	Descripción	Ejemplos	Referencia
Organoclorados	También llamados hidrocarburos clorados, son compuestos orgánicos anclados de 5 o más átomos de cloro. Representan una de las primeras categorías de los primeros PC sintetizados y usados en la agricultura. Muchos de estos son usados como insecticidas para el control de una amplia variedad de insectos, destaca su permanencia de efectos residuales en el ambiente	DDT, BHC, aldrina, dieldrina, endrina, heptacloro, clordano.	(Abubakar et al., 2020).
Organofosforados	Son PC derivados de ácidos fosfóricos, son considerados de amplio espectro debido a su amplio rango de control de plagas por sus múltiples funciones. Son caracterizados por envenenamiento estomacal, de contacto y fumigante, principalmente a agentes nerviosos. Los insecticidas organofosforados son más tóxicos para los vertebrados e invertebrados dada la conducción a una permanente sobreexposición de	paratión, clorpirifos, diazinon, diclorvos, malation, dimetoato	(Kaur et al., 2019). (Abubakar, 2020).

	<p>inhibidores del neurotransmisor acetilcolina a través de la sinapsis. Como resultado los impulsos nerviosos no logran moverse a través de la sinapsis provocando espasmos musculares, seguido de parálisis y muerte.</p> <p>Estos PC también son biodegradables y causan mínima contaminación ambiental y pueden ser clasificados como compuestos resistentes a plagas</p>		
Carbamatos	<p>Los carbamatos son PC orgánicos derivados de ácido carbámico (NH₂COOH). El modo de acción de los carbamatos es similar al de los organofosforados, afectando la transmisión de señales nerviosas resultando en la muerte del organismo por envenenamiento. Algunas veces son usados como venenos de contacto y fumigantes de contacto</p>	aldicarb, carbofuran, propoxur, carbaril	(Zacharia, 2011). (Kaur, 2019).
Piretroides	<p>Son análogos sintéticos de las piretrinas, las cuales se originan de manera natural en las flores (<i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>). Los componentes activos del insecticida son esterres ópticamente activos derivados del ácido-trans-crisantemico y del ácido-trans-piretroico. Los piretroides son conocidos por su rápido efecto en la destrucción de las plagas, fácil biodegradación y baja toxicidad en mamíferos. A pesar de que las piretrinas provienen de fuentes naturales, su degradación fotoquímica es tan rápida que su uso en la agricultura se vuelve impráctica</p>	resmetrina, bioresmetrina, aletrina, decametrina, permetrina.	(Zacharia, 2011).

De acuerdo con el tipo de organismo que controla			
Organismo	Descripción	Ejemplos	Referencia
Insecticidas	Insectos y otros artrópodos	Malation, DDT	(Yadav y Devi, 2017).
Fungicidas	Ataca colonias fúngicas	Captan, Clortalonil, Coronel, Mancozeb	
Bactericidas	Actúa contra poblaciones microbianas (bacterias)	Complejos de cobre	
Herbicidas	Elimina malezas y otras plantas no deseadas en los cultivos	Atrazina	
Acaricidas	Actúa contra ácaros que se alimentan de plantas y animales	Bifenazate	

Rodenticidas	Controla la población de roedores	Warfarina	
Algacidas	Controla o elimina algas	Sulfato de cobre	
Larvicidas	Inhibe el crecimiento de larvas	Metopreno	
Repelentes	Repele plagas por olor o sabor	Metiocarb	
Desecantes	Actúa en las plantas mediante el secado de sus tejidos	Acido bórico	
Ovicidas	Inhibe el crecimiento de huevecillos de insectos y ácaros	Benzoxacina	
Virucidas	Elimina o disminuye virus	Scytovirin	
Molusquicidas	Inhibe o elimina especies de moluscos y caracoles	Metaldehido	
Nematicidas	Elimina nematodos que actúan como parásitos de plantas	Aldicarb	
Avicidas	Elimina aves	Avitrol	
Antipolillas	Detiene el daño o mohos producido por larvas de polillas	Diclorobenceno	
Lampricidas	Elimina o detiene la reproducción de lampreas en ríos o lagos	Trifluorometil	
Piscicidas	Elimina peces	Rotenona	
Silvicidas	Elimina vegetación leñosa	Tebutiuron	
Termicidas	Elimina y actúa contra termitas	Fipronil	

Conforme a su modo de entrada			
Acción	Descripción	Ejemplos	Referencia
PC sistémicos	Son aquellos que son absorbidos por las plantas o animales y se transfieren a tejidos sin tratar. Los herbicidas sistémicos viajan a través de la planta y pueden alcanzar áreas sin tratar de hojas, tallo, meristemos o raíces. Son capaces de eliminar malezas con una cubierta parcial. Pueden penetrar en los tejidos de la planta y moverse a través del sistema vascular para eliminar distintas plagas.	Acido 2,4 diclorofenoxiacetico, glifosato	(Yadav y Devi, 2017).
No sistémicos	También son llamados de contacto, ya que actúa en las plagas objetivo cuando entran en contacto con el agente. Los PC deben entrar en contacto físico con la plaga para ser efectivo. El pesticida entra por el cuerpo de la plaga vía epidermis, lo que causa la muerte por envenenamiento	Paraquat, dibromuro de diquat	
Intoxicantes de estómago	Entran al cuerpo de la plaga por la boca y el sistema digestivo causando la muerte por intoxicación. Estos PC son adquiridos cuando la plaga se alimenta, cuando ingiere el insecticida aplicado a las hojas y otras partes de la planta. Estos insecticidas eliminan al vector destruyendo el intestino o estomago de las larvas	Malation	
Repelentes	Los repelentes no eliminan las plagas, sin embargo, son lo suficientemente desagradables para mantener las plagas lejos del área tratada con el repelente. También interfieren con la habilidad de la plaga para localizar el cultivo.	Permetrina	
Conforme a su formulación			
Formulación	Descripción	Ejemplos	Referencia
Emulsiones concentradas	Son suspensiones finas en gotas de aceite en agua, aparentemente lechosas a la viste, no requieren agitación constante ante cada aplicación.	La presentación depende del fabricante	(Diaz y Betancourt, 2018)
Polvos humectables	Son suspensiones de partículas finas suspendidas en agua, estas suspensiones requieren agitación constante para cada aplicación		
Granulados	Son obtenidos a partir de la mezcla de el ingrediente activo con una base especial de comida indicada para la plaga.		
Carnadas	Estos son mezclas del ingrediente activos con el alimento de los roedores para controlar su población.		

Polvos	Los polvos no pueden ser mezcladas con agua y deben ser aplicados secos. El común denominador de los polvos son arcilla, talcos, geles, tierra diatomeas.		
Fumigantes	Son PC que actúan o tienen la intención de eliminar la plaga objetivo produciendo vapor. Estos PC forman gases venenosos cuando son aplicados. En la forma de vapor entran al cuerpo de la plaga vía el sistema traqueal (respiratorio) mediante espiráculos y causan la muerte por intoxicación. Los fumigantes son usados para remover plagas que se desarrollan durante el almacenamiento de frutas, verduras y granos. También son usados para controlar plagas en el suelo.		
Clasificación acorde al nivel de toxicidad			
Nivel	Descripción	Ejemplos	Referencia
Clase IA	Extremadamente peligroso	Paratión, dieldrín	(Naciones Unidas, 2015)
Clase IB	Altamente peligroso	Eldrín, diclorvos	
Clase II	Moderadamente peligroso	DDT, clordano	
Clase III	Levemente peligroso	Malatión	
Clase IV	Productos que no presentan algún riesgo en uso normal	Hidrametilnona	
Clasificación según su vida media			
Persistencia	Vida media	Ejemplos	Referencia
No persistente	De 10 a 12 semanas	Malatión, Diazinón, Carbarilo, Diametrín, Clorotalonil	(Del Puerto Rodríguez, 2014)
Moderadamente persistente	1 a 18 meses	Paratión, Lannate	
Persistente	Varios meses a 20 años	DDT, Aldrín Dieldrín	
Permanente	Indefinidamente	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico	

1.6 Mezcla de PC

La mezcla de PC es una práctica común en la agricultura moderna para controlar las plagas y enfermedades de los cultivos. Se comprende como la combinación de dos o más PC en una misma aplicación con el objetivo de mejorar la eficacia del control de plagas, reducir la resistencia de estas a los productos químicos y minimizar los costos y el tiempo de aplicación (Raymond, 2011).

Sin embargo, la mezcla de PC también plantea preocupaciones en términos de impacto ambiental y salud humana, debido a la posibilidad de efectos sinérgicos, antagonistas o aditivos entre los componentes químicos de los PC utilizados (Méndez, 2007).

En los últimos años, ha habido un creciente interés en la investigación de la mezcla de PC, con estudios que abordan aspectos como la sinergia, antagonismo y aditividad. Además, se han realizado investigaciones sobre la posible presencia de residuos de PC en los alimentos, el agua y el suelo, así como los riesgos potenciales para la salud humana y el medio ambiente (Ceballos et al., 2018).

Acorde a Raymond (2011) existen cuatro tipos de interacciones que alteran la eficacia de los PC al momento de su mezcla y posterior aplicación:

- Adición: La mezcla de dos plaguicidas no afecta la respuesta del otro, otorga los mismos efectos tanto mezclados como por separado, ahorrando tiempo y trabajo.
- Sinergismo: ocurre cuando dos plaguicidas mezclados otorgan una respuesta más eficaz que la suma de los efectos de cada producto aplicados de forma separada, a menudo se pueden reducir las dosis de aplicación sin afectar el control o efecto de (los) plaguicidas.
- Antagonismo: se refiere a la situación en la que cuando los plaguicidas son combinados resulta en un menor control de la plaga o enfermedad en comparación a su uso individual, además del efecto inhibitor o en decremento, el antagonismo puede aumentar el efecto tóxico en plantas, humanos, insectos e inclusive en el ambiente.

- Refuerzo: Esta interacción sucede en la mezcla de un plaguicida y un aditivo con el fin de otorgar una mejor respuesta, el aditivo es un compuesto que mejorará la efectividad, estabilidad, manejo, aplicación o propiedades físicas y químicas.

1.7 Fungicidas utilizados en el presente trabajo de investigación

1.7.1 Captan Ultra 50Wp

El Captan (**Tabla 2**) es una Carboxamida con actividad fungicida, preventiva y curativa, de amplio espectro y absorción por vía radical y foliar.

Este fungicida reacciona con las enzimas sulfhidrúlicas con producción de tiofosgeno la cual es una sustancia tóxica para las células fúngicas, e interfiere el proceso de respiración celular en los hongos por lo que inhibe la germinación de las esporas y dificulta el crecimiento y desarrollo micelar.

Por otra parte, el fungicida se transporta a los tejidos tanto por tratamiento de semillas como al suelo o por aplicación foliar.

El fungicida pertenece al grupo de los inhibidores multisitio y al grupo ftalimida.

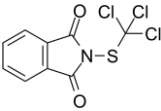
El uso de este producto estimula la vegetación, mejora el aspecto y coloración de los frutos, aumenta el tamaño de los frutos y protege y favorece la cicatrización de heridas de pedrisco.

Se considera ligeramente persistente en el suelo con una vida media de 1 a 10 días (Howard, 2017). Ha sido clasificado como carcinogénico desde hace más de 20 años por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Hamed et al., 2022) con un mecanismo relacionado a la supresión de la síntesis de proteínas (Barbero et al., 2023).

Captan ultra 50 wp es usado para combatir las siguientes afecciones: secadera (*Rhizoctonia spp.*), antracnosis (*Colletotrichum phomoides*), mancha púrpura (*Alternaria porri*), pudrición café (*Monilinia fructicola*), pudrición de la raíz (*Fusarium phaseoli*), entre otras.

De acuerdo con la hoja de seguridad del Captan 50 Wp, cuenta con las siguientes características:

Tabla 2. Características del fungicida Captan ultra 50 wp

Características Captan ultra 50 wp	
Ingrediente activo	N-(triclorometiltio)ciclohex -4-ene-1,2 dicarboximida
Formula química	C ₉ H ₈ Cl ₃ NO ₂ S 
Peso molecular	300.59g/mol
Nombre común	Captan
No. CAS	133-06-2.
Uso	Agrícola
Tipo	Fungicida
Clasificación	Carboxamida
Presentación	Polvo humectable, suspensión concentrada
Formulación	No menos de 50%
Punto de fusión	178 °C
Solubilidad en agua	5.1 mg/L a 25 °C
Soluble en	Cloroformo, tetracloroetano, ciclohexanona y benceno
Toxicidad aguda LD ₅₀ oral: Rata >2000 mg/kg (Método: OECD 401)	
LD 50 dermal Rata: >5000 mg/kg (Método: OPPTS 870.1200)	
Carcinogenicidad: Podría se carcinogénico para humanos.	

LD₅₀= Dosis que elimina al 50% de la muestra (Rata). **OPPTS** = Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances.

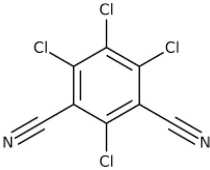
1.7.2 Coraza 720 S (Cloratalonil)

Cloratalonil (**Tabla 3**) es un fungicida organoclorado perteneciente al grupo de los benzonitrilos halogenafos. Su modo de acción es mediante contacto foliar no sistémico de acción preventiva y de amplio espectro.

Previene la germinación y motilidad de esporas y zoosporas respectivamente (**anexo 2**). Coraza 720s es usado en una amplia variedad de cultivos como: Apio, Cacahuate, Cacao, Cafeto, Calabacita, Cebolla, Col, Col de Bruselas, Coliflor, Durazno, Frijol, Frijol ejotero, Jitomate, Maíz, Melón, Ornamentales, Papa, Papayo, Pepino, Plátano, Sandía, Soya. Controla enfermedades como: Atracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum dematium*), cenicilla (*Erysiphe*

cichoracearum), manchas foliares (*Cercospora apii*, *Cercospora coffeicola*, *Cercospora personata*), mohos (*Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*), roya (*Uromyces phaseoli*), roña (*Cladosporium spp.*), tizones foliares (*Septoria apii*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Diaporthe phaseolorum*), mildius (*Pseudoperonospora cubensis*, *Peronospora destructor*, *Peronospora parasitica*), pudriciones de raíz, tallos, flores y frutos (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora spp.*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.*).

Tabla 3. Características del fungicida Coraza 720s

Características generales Coraza 720s	
Nº CAS	1897-45-6.
Ingrediente activo	Clorotalonil.
Nombre común (ISO-I)	Chlorothalonil.
Grupo químico	Benzonitrilo, clorado
Fórmula	C ₈ Cl ₄ N ₂ 
Acción biocida	Fungicida
Modo de acción	Foliar no sistémico, de contacto y protector
Estabilidad	Estable a temperatura ambiente, a luz UV, en medios acuosos medianamente ácidos o alcalinos; lenta hidrólisis a pH >9
Usos	Control de muchas enfermedades fungosas en un amplio rango de cultivos (banano, frutales, hortalizas, café, etc.)
Formulación	Polvo humectable, suspensión concentrada.
Mezclas (compuestos)	(+ dimetomorf); (+ azoxistrobina); (+ mancozeb); (+ maneb + oxicloruro de cobre); (+ metalaxil); (+ maneb); (+ azufre); (+ oxicloruro de cobre); (+ propamocarb).
Toxicidad aguda.	DL50/CL50 oral (ratas): >5000 mg/kg; inhalación (ratas): 0,10 mg/L; dérmica (ratas): nd; dérmica (conejos): >2000 mg/kg.
DL50/CL50 oral (ratas)	>5000 mg/kg; inhalación (ratas): 0,10 mg/L; dérmica (ratas): nd; dérmica (conejos): >2000 mg/kg
Acción tóxica y síntomas	Síndrome tóxico por benceno sustituidos.

Toxicidad tóxica	Capacidad irritativa: ocular positivo (corrosiva severa); dérmica positiva (moderada); capacidad alérgica: positiva.
Toxicidad crónica y a largo plazo	Posible carcinógeno en humanos (IARC); B2. Probable carcinógeno humano (EPA)

LD₅₀= Dosis que elimina al 50% de la muestra (Rata). IARC= International Agency for Research on Cancer. EPA= Environmental Protection Agency

1.8 Modelos biológicos in vitro utilizados para evaluar el efecto de PC en linfocitos

1.8.1 Cultivos celulares

Para describir, investigar y evaluar el daño, la genotoxicidad y la actividad mutagénica producida por agentes químicos se ha utilizado el cultivo *in vivo* e *in vitro* en células de animales y plantas, incluyendo la evaluación de cultivos de linfocitos humanos (Celik et al., 2005).

Una línea celular son cultivos de células animales que pueden ser propagadas repetidamente y algunas veces (dadas determinadas características) infinitamente mediante varios pases (Bols et al., 2011)

Distintas líneas celulares provienen de cultivos primarios, los cuales inician desde células, tejidos u órganos animales que son usados particularmente en la investigación en unos pocos días.

Es importante mencionar que no todas las células ni cultivos primarios pueden ser líneas celulares, puesto que algunos mueren lentamente. Para producir líneas celulares, las células deben continuar creciendo y desarrollándose (Castaño y Zapata., 2000).

Las líneas celulares continuas adquieren diversas ventajas en la investigación, por ejemplo, las células pueden mantenerse de 20 a 50 pases sin perder las características deseadas, además de poder ser congeladas en nitrógeno líquido hasta su nuevo uso (Pérez-Albaladejo, 2017).

Distintas líneas celulares son utilizadas en ensayos *in vitro* para evaluar toxicidad de distintos agentes en plantas, animales y humanos, dichos ensayos no pueden sustituir a la experimentación *in vivo*, debido a la complejidad del ambiente en donde estas células se encontrarían en el organismo, sin embargo, pueden sustituir algunas fases del estudio (Repetto- Jiménez, 2009).

1.9 Linfocitos

Los linfocitos son un tipo de células inmunitarias elaboradas en la médula ósea; se encuentran en la sangre y el tejido linfático. Los dos tipos de linfocitos son los linfocitos B y los linfocitos T (**Figura 4**). Los linfocitos B elaboran anticuerpos y los linfocitos T ayudan a destruir las células tumorales y a controlar las respuestas inmunitarias. Un linfocito (**Tabla 4**) es un tipo de glóbulo blanco (leucocitos, del griego leukós 'blanco', y kytos 'bolsa'), dentro de los glóbulos blancos se encuentran los linfocitos, los monocitos, eosinófilos, basófilos y neutrofilos (National Institute of Mental Health, 2023).

Los leucocitos pueden clasificarse como dos tipos de células: granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y agranulocitos (linfocitos T y B, monocitos y células NK). A pesar de tener una apariencia tan similar entre ellos, los linfocitos tienen funciones diferentes y se agrupan de acuerdo con ellas (Abbas, 2012)

Los linfocitos son los leucocitos más numerosos en la circulación. En números absolutos se encuentran de 1,000 a 3,000 por mm³ de sangre y en números relativos entre 20% y 30% de la cuenta total. El 75% de los que circulan son T y el mayor número de ellos corresponde a los T de ayuda (Th, CD4); el 25% restante corresponde a los linfocitos B y NK (Vega, 2009).

Los linfocitos han sido utilizados como un modelo para determinar los efectos toxicológicos de diversas sustancias, se han reportado casos de intoxicación por plaguicidas en los cuales la vía principal de contacto fueron la dérmica, respiratoria y oral (Díaz, 2018).

La exposición a los PC puede activar la actividad de ciertas células del sistema inmune, entre estas los linfocitos y macrófagos (Sabarwal et al., 2018) mediante la inducción de un ambiente inflamatorio y la secreción de proteínas asociadas a la destrucción de partículas ajenas al organismo.

La exposición a agentes ha sido relacionada con la disminución de la enzima colinesterasa (Boussabbeth et al., 2016) plasmática y eritrocítica lo cual interfiere en la alteración de la proliferación celular de los linfocitos.

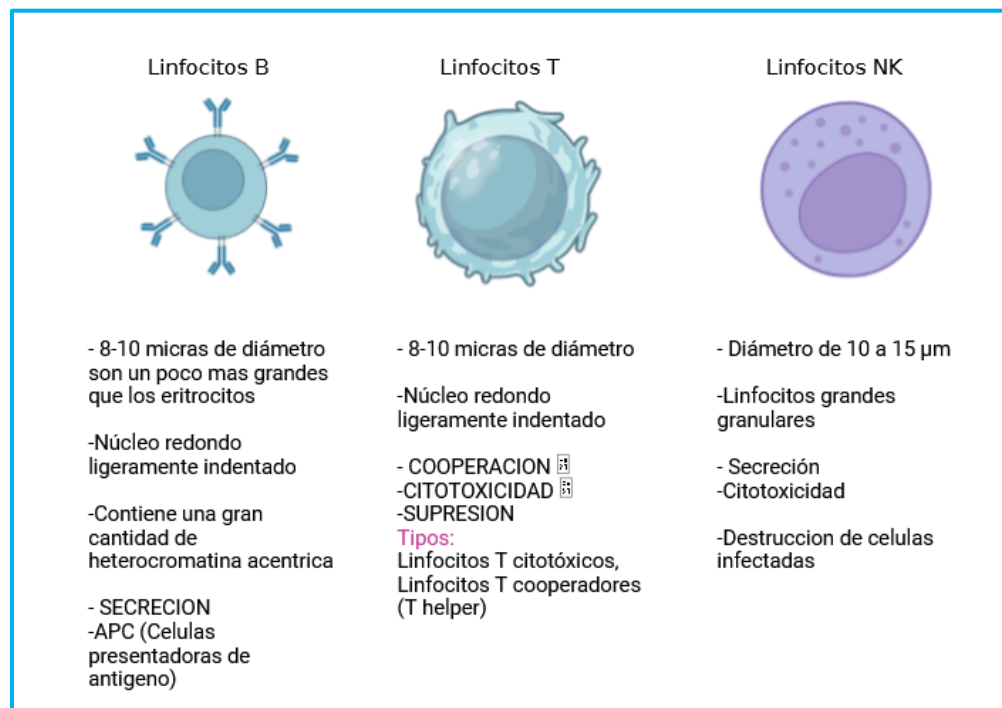


Figura 4 Características generales de los linfocitos. Elaboración propia con ayuda de BioRender.

Tabla 4. Características generales de los linfocitos

Características de los linfocitos	
Definición	Células principales del sistema inmunitario que pertenecen al grupo de agranulocitos de los leucocitos
Tamaño	Pequeños: 6 a 15 µm de diámetro Grandes: 15 a 30 µm de diámetro

Estructura	<p>Pequeños: Núcleo grande esférico con cromatina condensada. Pocos orgánulos (aparato de Golgi pequeño, pocas mitocondrias y ribosomas)- Gránulos azurófilos dispersos</p> <p>Grandes: Núcleo indentado grande Más cantidad de citoplasma y de gránulos azurófilos- Aparato de Golgi desarrollado, retículo endoplásmico rugoso pequeño, más cantidad de mitocondrias y ribosomas</p>
Clasificación	Linfocitos B Linfocitos T Linfocitos NK
Linfocitos B	<p>Respuesta inmunitaria: inmunidad humoral (mediada por anticuerpos)</p> <p>Tipos: células plasmáticas y células de memoria</p> <p>Función: producción y secreción de anticuerpos, presentación de antígenos, inmunidad específica (adaptativa)</p>
Linfocitos T	<p>Respuesta inmunitaria: inmunidad celular (mediada por células)</p> <p>Tipos: Linfocitos T citotóxicos, Linfocitos T cooperadores (T helper)</p> <p>Función: destrucción mediada por células de las células infectadas por virus y células neoplásicas (tumoraes), inducción/supresión del sistema inmunitario</p>
Linfocitos NK	<p>Respuesta inmunitaria: inmunidad inespecífica (innata)</p> <p>Función: destrucción mediada por células de las células infectadas o células neoplásicas</p>

Fuente: Elaboracion propia, basada en Vega, 2009.

1.9.1 Viabilidad celular

Es definida como el número (proporción) de células vivas encontradas en una muestra específica a analizar (Stoddart, 2011), es un marcador predictivo del funcionamiento de los tejidos en donde se encuentran.

Existen varios métodos para evaluar la viabilidad celular, entre los más comunes destacan: ensayos por exclusión de colorantes, ensayos de MTT, ensayos de reducción, etc.

1.9.1 Ensayo de exclusión de colorantes vitales

Este método se basa en la capacidad de las células vivas para excluir ciertos colorantes, mientras que las células muertas permiten la penetración del colorante.

Las células teñidas se cuentan bajo un microscopio. El azul de tripan es un colorante derivado de la toluidina, el cual posee la capacidad de teñir células muertas (Fang y Trewyn, 2012). Este colorante ha sido empleado en diversos experimentos para evaluar viabilidad celular, ya que no tiene el potencial de penetrar y teñir a las células vivas con membranas sin daño (American Type Culture Collection, 2014).

1.9.1.2 Ensayos de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio)

El MTT perteneciente a la familia de sales de tetrazolio es soluble en agua y de color amarillo, las células metabolizan el compuesto, al reducirse se convierte en un producto de la familia de los formazanos, (solo cuando se tienen mitocondrias viables) produciendo una coloración violeta en la muestra. Para cuantificarlo se suele disolver en un disolvente orgánico como por ejemplo DMSO (dimetilsulfóxido), se mide espectrofotométricamente a la A_{570} (Gallegos, 2018).

1.9.1.3 Ensayos de reducción de resazurina (Alamar Blue)

La resazurina actúa como un marcador redox que posibilita la evaluación de la viabilidad celular por la conversión de una tinción no fluorescente a un color rojo altamente fluorescente en respuesta a una reducción química del medio de cultivo resultado del crecimiento celular.

El proceso de crecimiento celular instaura un ambiente caracterizado por su naturaleza reducida, mientras que la inhibición produce un medio de características oxidantes. La transformación de la resazurina se observa mediante la medición de su fluorescencia o absorción.

La reducción relacionada con el crecimiento causa que el indicador redox cambie de oxidado (No fluorescente, azul) a su forma reducida (Fluorescente, roja). La fluorescencia o señal colorimétrica generada del ensayo es proporcional al número de células vivientes en la muestra (Xiao et al., 2010).

1.9.1.4 Ensayos de apoptosis

Estos ensayos permiten detectar la apoptosis, un proceso de muerte celular programada. La tinción con anexina V y yoduro de propidio o Fosfatidilserina distingue entre células vivas, apoptóticas y muertas en función de su estado de membrana y viabilidad.

La anexina V es una proteína dependiente de calcio que se une a la superficie celular cuando existe apoptosis (Domínguez, 2017) El análisis de la fragmentación del ADN mediante electroforesis también es común para confirmar la apoptosis. Estos ensayos son fundamentales para investigar procesos celulares relacionados con la regulación de la muerte celular y la homeostasis.

1.9.1. 5 Ensayos de proliferación celular

Estos ensayos miden la proliferación celular evaluando la incorporación de marcadores en células en división. El bromodeoxiuridina (BrdU) o la incorporación de EdU (5-etinil-2'-desoxiuridina) en el ADN se utiliza para evaluar el tiempo de duplicación de determinada población celular, el tiempo de cada fase, el tiempo total del ciclo celular y la fracción de células en crecimiento (Dolbeare, 1995).

1.9.2. Ensayo de exclusión por coloración de azul de tripan (utilizado en el presente trabajo de investigación)

El ensayo de exclusión por coloración de azul de tripan se basa en la capacidad de las células vivas para excluir ciertos colorantes, como el azul de tripan, mientras que las células muertas o dañadas absorben el colorante y se tiñen de azul. Al teñir una población de células con azul de tripan y luego observarlas bajo un microscopio, se puede determinar la proporción de células vivas y muertas en una muestra (American Type Culture Collection, 2014).

El hemocitómetro es un portaobjetos especializado en el cual una retícula es grabada con láser. Su construcción permite conocer el volumen de cualquier líquido colocado sobre él y por debajo de su cubreobjetos.

La retícula se encuentra compuesta por nueve cuadros de 1 mm^2 cada uno (cuadro azul en la figura inferior). Los cuatro cuadros de 1 mm^2 localizados en cada esquina poseen a su vez 16 cuadros de 0.0625 mm^2 . El cuadro central (también de 1 mm^2) se encuentra compuesto por 25 cuadros de 0.04 mm^2 (en verde). Estos cuadros a su vez se encuentran compuestos por cuadros menores de tan solo 0.0025 mm^2 (en negro). Dada la profundidad de la cámara de tan solo 0.1 mm , cada una de estas unidades corresponde a volúmenes fijos conocidos (UASLP, 2013).

El porcentaje de células viables se puede calcular mediante la siguiente fórmula:

Viabilidad celular (%) = Número total de células viables por ml de alícuota / Número total de células por ml de alícuota $\times 100$ (Coligan et al., 2001).

II Justificación

La exposición a productos químicos en la agricultura puede tener efectos negativos en la salud humana y en el medio ambiente. Es importante investigar los efectos de los fungicidas utilizados comúnmente en la agricultura, especialmente en los linfocitos, que son células importantes del sistema inmunológico pertenecientes a la primera línea de defensa del organismo sensibles a la toxicidad química y por lo tanto son un indicador de la exposición a sustancias tóxicas.

Dado el creciente interés en la evaluación de estos productos en diversas enfermedades ocasionadas por el contacto con estos reactivos, esta investigación puede proporcionar información importante sobre la seguridad de estas sustancias y su efecto en la salud humana.

Los fungicidas Captan Ultra 50wp y Coraza 720 son ampliamente utilizados en la agricultura para el control de hongos en cultivos. Aunque estos productos químicos son considerados seguros en la dosis recomendada por el fabricante (Anexo1 y 2), su combinación puede aumentar el riesgo de toxicidad en linfocitos y disminuir la viabilidad celular de los mismos.

En particular, la mezcla de fungicidas en la agricultura es común y puede tener efectos en la viabilidad celular de linfocitos humanos, lo que podría aumentar el riesgo para la salud de los trabajadores agrícolas (Cadena et al., 2015).

Además, el estudio puede tener implicaciones importantes en la regulación y uso de estos PC en la agricultura para proteger la salud pública y el medio ambiente. Por lo tanto, es importante llevar a cabo estudios sobre la toxicidad de estas sustancias químicas en linfocitos humanos y su posible efecto adverso en la salud humana.

2.1 Planteamiento del problema

La agricultura moderna desempeña un papel fundamental en la provisión de alimentos para la creciente población mundial. Sin embargo, el uso a menudo extensivo, indiscriminado y abusivo de PC y fungicidas para proteger los cultivos de enfermedades y plagas presenta preocupaciones significativas sobre su impacto en la salud humana y el medio ambiente. Entre estos productos químicos, los fungicidas Captan Ultra 50wp y Coraza 720 se han convertido en componentes esenciales en la protección de cultivos, pero su posible efecto tóxico en las células humanas, en particular de defensa ante agentes tóxicos, requiere una evaluación exhaustiva.

Los linfocitos, como parte integral del sistema inmunológico, son cruciales para la respuesta defensiva del organismo contra agentes patógenos. Exposiciones inadvertidas o crónicas a sustancias químicas podrían afectar la viabilidad y función de los linfocitos, lo que potencialmente comprometería la salud inmunológica y aumentaría la susceptibilidad a enfermedades (Vergel, 2019). En este contexto, la necesidad de investigar la toxicidad de los fungicidas Captan Ultra 50wp y Coraza 720 en linfocitos humanos se vuelve imperativa.

A pesar de la presencia de investigaciones sobre la toxicidad individual de estos fungicidas, la evaluación de su toxicidad en combinación es escasa y merece una atención más detallada.

La presente investigación tiene como objetivo principal analizar los efectos de la exposición individual y la mezcla de los fungicidas Captan Ultra 50wp y Coraza 720s en la viabilidad celular de linfocitos humanos. Se propone utilizar el conteo en cámara de Neubauer con la tinción de exclusión con azul de tripán como método para evaluar la viabilidad celular y se considerara la disminución de la viabilidad a partir del 90% acorde a la literatura consultada. Este método tradicional y ampliamente aceptado permite una evaluación cuantitativa y directa de la viabilidad celular al determinar el porcentaje de células vivas y muertas en una muestra.

2.2 Pregunta de investigación

¿La mezcla de los fungicidas Captan Ultra 50wp y Coraza 720 presenta mayor toxicidad en linfocitos humanos que la exposición a los fungicidas de manera individual?

2.3 Hipótesis

- **Alternativa:**

La exposición a la mezcla de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s presenta mayor toxicidad en linfocitos humanos comparada con la exposición de manera individual de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s.

- **Nula:**

La exposición a la mezcla de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s no presenta mayor toxicidad en linfocitos humanos, la exposición de manera individual.

2.4 Objetivos

General

- Evaluar el efecto del tiempo de exposición de los fungicidas Captan (Captan Ultra 50wp) y Cloratalonil (Coraza 720s) individual y mezclados, sobre la viabilidad celular de linfocitos humanos para determinar la toxicidad generada en células del sistema inmune.

Específicos

- Evaluar el efecto del tiempo a la exposición del fungicida Captan 50wp sobre la viabilidad celular de linfocitos humanos, mediante ensayos in vitro con concentraciones crecientes, durante periodos de 1 y 24 horas.
- Evaluar el efecto del tiempo a la exposición del fungicida Coraza 720s sobre la viabilidad celular de linfocitos humanos, mediante ensayos in vitro con concentraciones crecientes, durante periodos de 1 y 24 horas.
- Evaluar el efecto del tiempo a la exposición de la mezcla de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s sobre la viabilidad celular de linfocitos humanos, mediante ensayos in vitro con concentraciones crecientes, durante periodos de 1 y 24 horas.

III Materiales y métodos

3.1 Obtención de muestra sanguínea

Previa firma de carta de consentimiento informado (anexo 3), las muestras de sangre fueron obtenidas de un donante hombre masculino adulto sano de 23 años, sin antecedentes de enfermedades neurológicas, metabólicas y hereditarias previas (Badii y Landeros, 2007). Se aislaron las células linfocíticas mediante la técnica de separación por gradiente de densidad por centrifugación siguiendo el método convencional recomendado por MERCK® para aislar células mononucleares con ligeras adecuaciones al material disponible.

3.2 Extracción de linfocitos

Se utilizó la mezcla de sangre isovolumétrica, siguiendo las recomendaciones del fabricante Merck® (Método convencional recomendado para aislar células mononucleares) (7 mL de sangre y 7 mL de solución salina para cada tratamiento) en tubos falcon con solución salina previamente calentada a baño maría para conseguir la temperatura corporal (37°C), posteriormente en tubos de 50 mL fueron precargados con 14 mL de ficoll-paque como medio de separación, se vertió la solución sanguínea en el ficoll sin mezclar los contenidos, se centrifugo el contenido a 800 g durante 20 minutos. Nota: todo el material utilizado fue previamente esterilizado en autoclave (121 lb por 25 minutos). Posterior a la centrifugación (**Figura 5**) se retiró la fase superior que contiene plasma y plaquetas con pipeta sin mezclar la interfase, se extrajo el anillo transparente con alto contenido en linfocitos para proceder a realizar los distintos tratamientos.

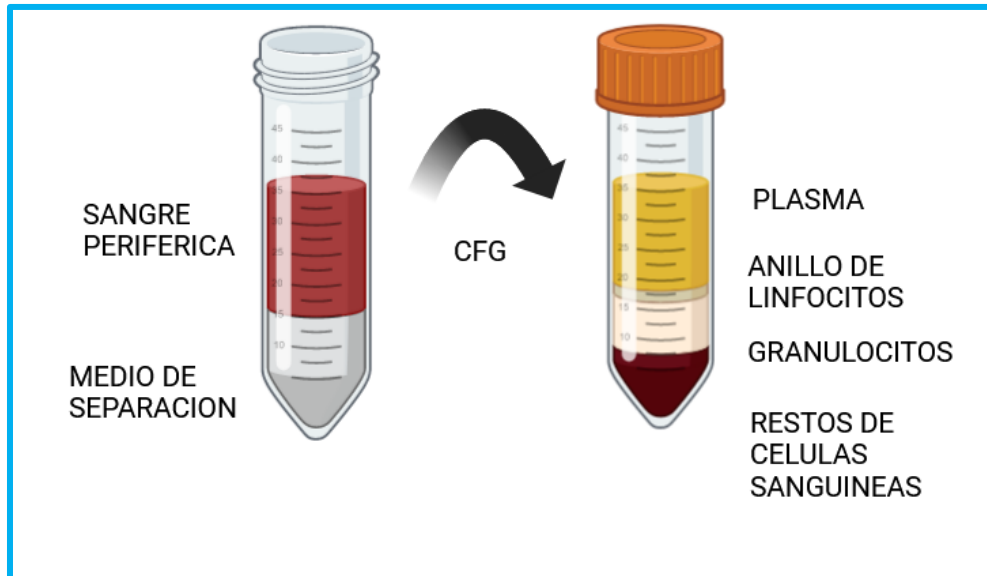


Figura 5. Vista general de la separación de muestras sanguíneas por centrifugación. Fuente: Elaboración propia. Empleando el software BioRender.

3.3 Ensayo de toxicidad

3.3.1 Viabilidad celular

Para determinar la viabilidad celular, se utilizó la exclusión por medio de colorimetría mediante el colorante azul de tripano. En un tubo estéril de 1.5 mL (EF0030108116, Eppendorf®, Germany), se adicionaron 50 μ L medio RPMI-1640 (Gibco Invitrogen Co, USA), posteriormente se adicionó el PC (volumen total 50 μ L) de acuerdo con cada tratamiento (A=captan Ultra 50wp, B=Coraza 720 s, C=Mezcla de fungicidas). Por último, se adicionó la suspensión celular (Aproximadamente 2000 células/mL) hasta obtener un volumen final de 150 μ L. Los tubos fueron mantenidos a 37°C en una incubadora (Galaxy 170 S CO2 Incubator) durante 1 y 24 horas (Moo-Muñoz, 2021).

Transcurrido ese tiempo, una alícuota de suspensión celular fue mezclada con 10 μ L de azul de tripano y se dejó incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.

Como control positivo se utilizó la suspensión celular, más 50 µL medio RPMI-1640 más 25 µL de agua oxigenada.

Como control negativo, 50 µL de suspensión celular más 50 µL medio RPMI-1640. Se contaron las células viables (no teñidas) y las no viables (teñidas). El resultado fue expresado en porcentaje siguiendo la fórmula: # de células viables / # células totales x 100.

Los linfocitos que se utilizaron fueron donados desde una muestra de sangre del donante informado y posteriormente fueron fraccionados para rescatar el anillo de linfocitos acorde al método de Middleditch et al. (1979). Se realizaron diluciones de cada uno de los compuestos a evaluar, así como sus mezclas acordes a las siguientes tablas:

Captan ultra 50w				
	Captan	PBS	Concentración	Dilución
Solución stock	0.01 g	1 mL	16,000 µM	1:100
Dilución A	100 µL de la solución stock	900 µL	1,660 µM	1:10
Dilución B	100 µL de la solución A	900 µL	166 µM	1:10
Dilución C	100 µL de la solución B	900 µL	16.6 µM	1:10

Captan Ultra (F1)

	Tratamiento	F1		PBS		+	Suspensión celular		+	RPMI	Volumen total	Concentración final evaluada (F1)
--	-------------	----	--	-----	--	---	--------------------	--	---	------	---------------	-----------------------------------

1ra. Dilución A	1660 µM	1	9	µL +	41	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[100 µM]
		2	7	µL +	43	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[80 µM]
		3	5	µL +	45	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[60 µM]
		4	4	µL +	46	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[40 µM]

2da. Dilución B	166 µM	5	18	µL +	32	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[20 µM]
		6	9	µL +	41	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[10 µM]
		7	5	µL +	45	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[5 µM]

3ra. Dilución C	16.6 µM	8	23	µL +	27	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL	[2.5 µM]

Controles	Negativo	50 + 50 µL + 50 µL 150 µL										
	Positivo	25	µL +	25	µL +	50 µL	+	50 µL	150 µL			
		25	µL	de Agua oxigenad								

Coraza 720s				
	Coraza 720	PBS	Concentración	Dilución
Solución stock	0.01 g	1 mL	27,070 µM	1:100
Dilución A	100 µL de la solución stock	900 µL	2707 µM	1:10
Dilución B	100 µL de la solución A	900 µL	270 µM	1:10
Dilución C	100 µL de la solución B	900 µL	27 µM	1:10

Coraza 720S (F2)											
	Tratamiento	F2		PBS		+	Suspensión celular	+	RPMI	Volumen total	Concentración final evaluada (F1)

Dilución A	2707 µM	1	6	µL	+	44	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[100 µM]
		2	4	µL	+	46	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[80 µM]
		3	3	µL	+	47	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[60 µM]
		4	2	µL	+	48	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[40 µM]

Dilución B	270 µM	5	11	µL	+	39	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[20 µM]
		6	6	µL	+	44	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[10 µM]
		7	3	µL	+	47	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[5 µM]

Dilución C	27 µM	8	14	µL	+	36	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	[2.5 µM]
------------	-------	---	----	----	---	----	----	---	----	----	---	----	----	--------	----------

Controles	Negativo	50 µL + 50 µL + 50 µL 150 µL												
	Positivo	25	µL	+	25	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	
		25	µL	de Agua oxigenada										

Coraza 720 (F2)+ Captan (F1)																
	Tratamiento	F1	F2		+	PBS		+	Suspension celular		+	RPMI	Volumen total	Concentracion final evaluada		
Dilución A	1660 µM	1	9	6	µL	+	35	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	100 µM
		2	7	4	µL	+	39	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	80 µM
		3	5	3	µL	+	42	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	60 µM
		4	4	2	µL	+	44	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	40 µM
Dilución B	166 µM	5	18	11	µL	+	21	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	20 µM
		6	9	6	µL	+	35	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	10 µM
		7	5	3	µL	+	42	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	5 µM
Dilución C	16.6 µM	8	23	14	µL	+	13	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	2.5 µM
Controles	Negativo				µL	+	50	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	
	Positivo		25		µL	+	25	µL	+	50	µL	+	50	µL	150 µL	
																25 µL de agua oxigenada

Se realizó el conteo celular de los linfocitos previamente incubados en las unidades experimentales por 24 horas, se siguió la metodología del conteo en cámara de Neubauer con ayuda de la tinción de tripán (Gorodesky, 1999), se utilizó una mezcla isovolumétrica del colorante y suspensión celular.

3.4 Análisis estadístico (validación del modelo experimental)

Se utilizó el ensayo ANOVA multifactorial como el análisis estadístico de los experimentos comparativos del fungicida Captan Ultra 50 wp, Coraza 720s y la mezcla de ambos fungicidas evaluados a las 24 horas de exposición.

IV Resultados

4.1 Viabilidad de linfocitos expuestos al fungicida Captan Ultra 50 wp

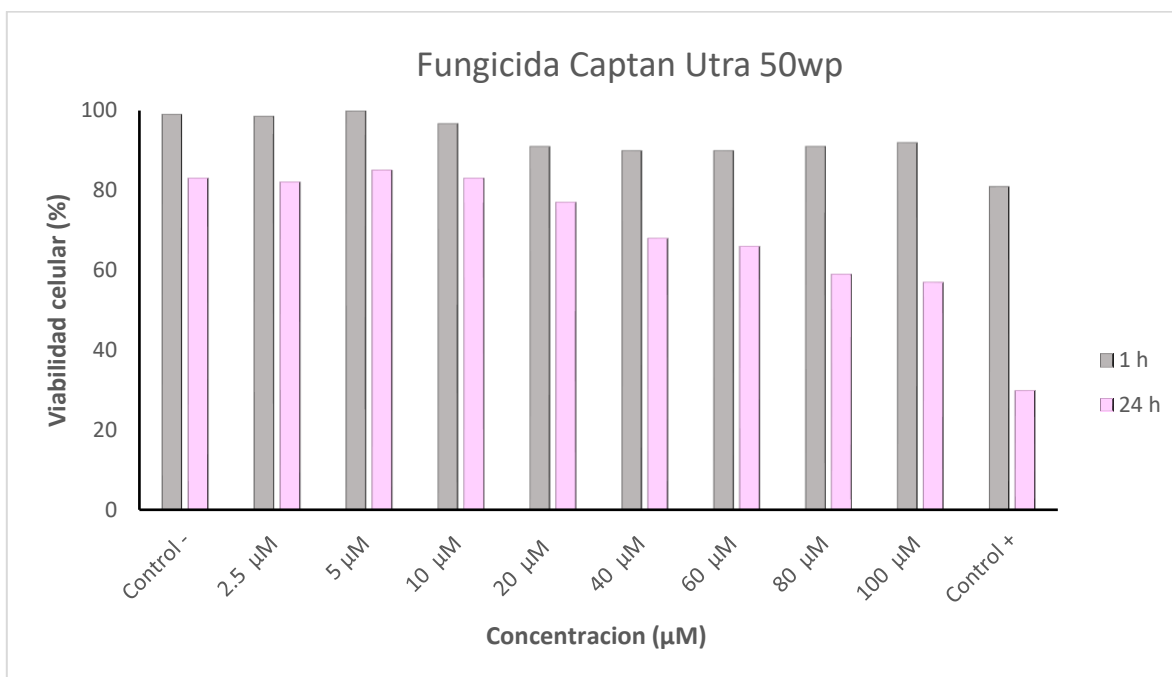


Figura 6. Viabilidad celular presentada en porcentaje (%) de linfocitos humanos expuestos al fungicida Captan Ultra 50 wp a las concentraciones de 2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 μM a 1 y 24 horas. Control positivo: suspensión celular + medio RPMI-1640 + 25 μM H_2O_2 . Control negativo: suspensión celular + medio RPMI-1640.

4.2 Viabilidad de linfocitos expuestos al fungicida Coraza 720s

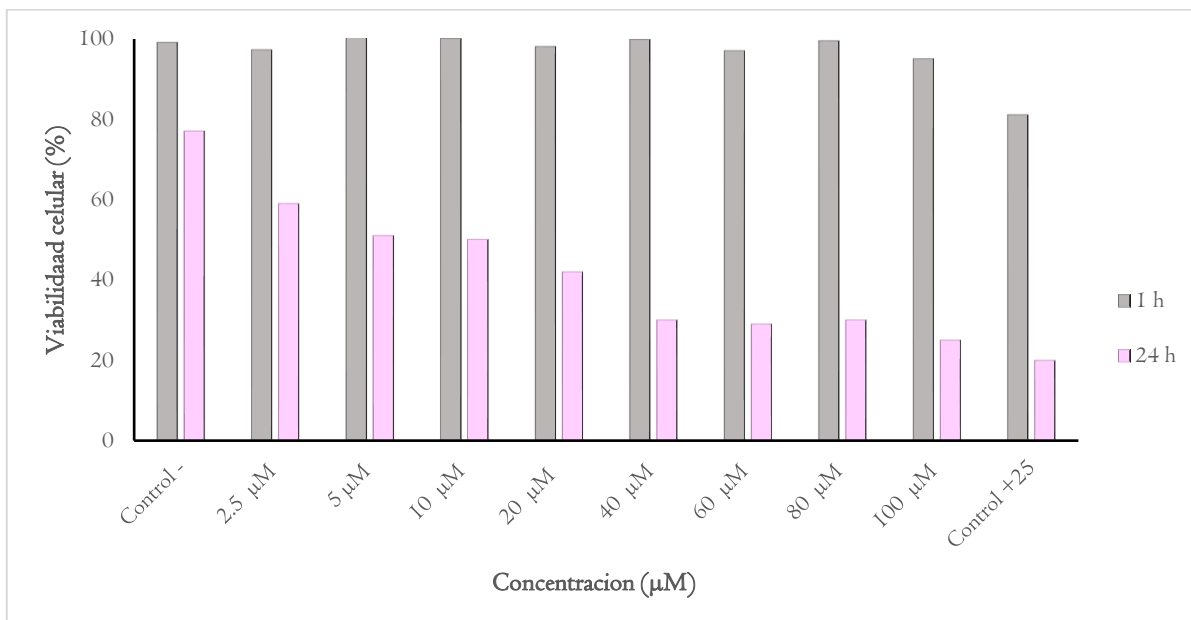


Figura 7. Viabilidad celular presentada en porcentaje (%) de linfocitos humanos expuestos al fungicida Coraza 720s a las concentraciones de 2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µM a 1 y 24 horas. Control positivo: suspensión celular + medio RPMI-1640 + 25 µM H₂O₂. Control negativo: suspensión celular + medio RPMI-1640.

4.3 Viabilidad celular de la mezcla de fungicidas

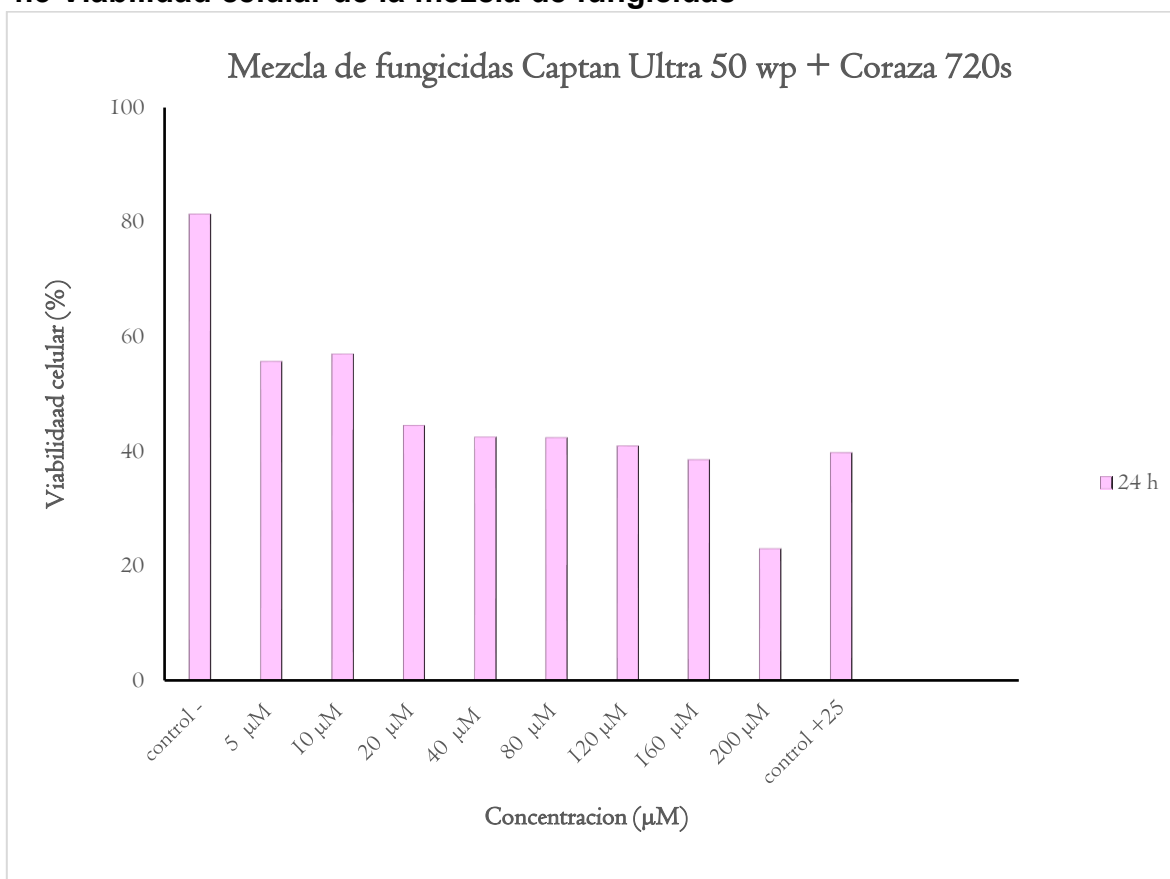


Figura 8. Viabilidad celular presentada en porcentaje (%) de linfocitos humanos expuestos a la mezcla de fungicidas **A+B** (A= Captan 50 WP, B =Coraza 720 S). En el caso de la mezcla (**A+B**), la concentración final se obtuvo mediante la toma de las concentraciones del tratamiento **A** más la concentración del tratamiento **B** ajustando a él volumen final de 150 μL para cada unidad experimental, resultando las concentraciones de 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80, 120, 160 y 200 μM. Control positivo: suspensión celular + medio RPMI-1640 + 25 μM H₂O₂. Control negativo: suspensión celular + medio RPMI-1640.

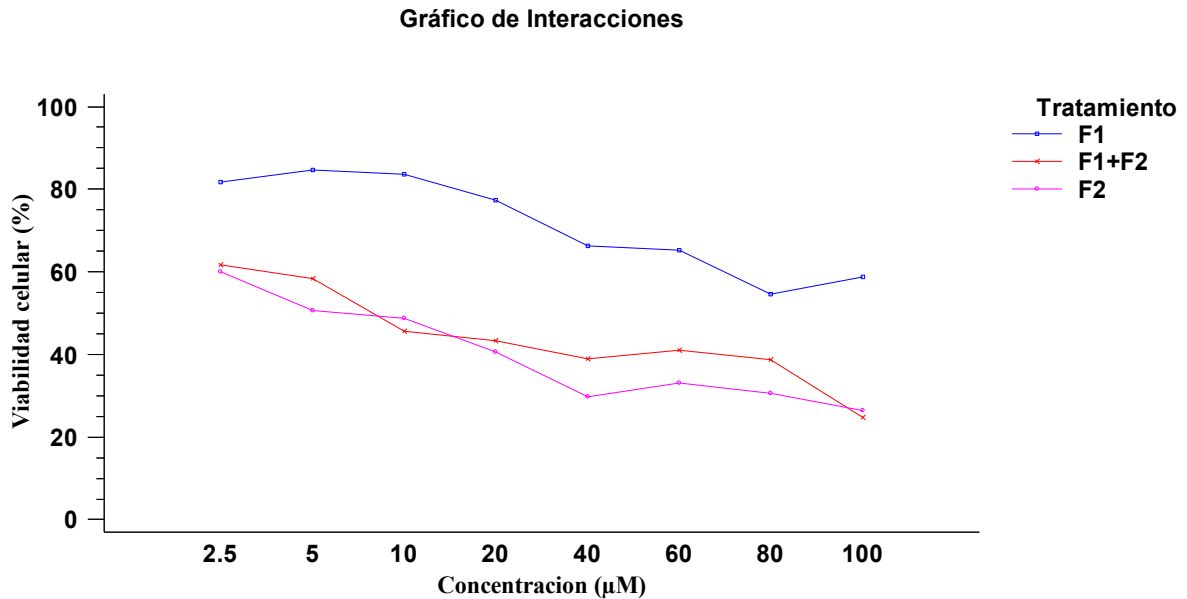


Figura 9. Viabilidad celular presentada en porcentaje (%) de linfocitos humanos expuestos de manera individual a los fungicidas: **A** (Captan ultra WP) y **B** (Coraza 720 S) a concentraciones de 2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 µM a 24 hora de exposición. En el caso de la mezcla (**A+B**), la concentración final se obtuvo mediante la toma de las concentraciones del tratamiento **A** más la concentración del tratamiento **B** ajustando a él volumen final de 150 µL para cada unidad experimental, resultando las concentraciones de 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80, 120, 160 y 200 µM a 24 horas de exposición. Control positivo: suspensión celular + medio RPMI-1640 + 25 µM H₂O₂. Control negativo: suspensión celular + medio RPMI-1640+PBS. Las distintas letras (a,b) muestran diferencias significativas respectivamente.

Se logra apreciar que después de una hora de exposición a los fungicidas no se encontró alguna diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la viabilidad de linfocitos humanos comparado con su respectivo grupo control (Fig. 6, 7). Sin embargo, después de la exposición del fungicida a 24 horas se encontró una reducción significativa de la viabilidad celular (Fig. 8). Se encontró que existe un valor $p < 0.05$ para los efectos de tratamiento y concentración por lo tanto se dice que

existe un efecto estadísticamente significativo sobre la viabilidad celular a las 24 horas.

Se utilizó una prueba de múltiples rangos para la viabilidad celular por concentración para determinar que existe una diferencia significativa entre los distintos valores de concentración sobre la viabilidad que se muestran en la Fig. 9.

V Discusión

A partir de los resultados encontrados se puede resaltar que existe una diferencia significativa en el efecto de la disminución de la viabilidad tomando en cuenta el factor del tiempo, se observa en las figuras 7 y 8 que la viabilidad celular no disminuye significativamente si se compara con los datos obtenidos de la exposición a 24 horas comparados con los grupos control respectivamente.

Los resultados obtenidos indican que la viabilidad celular disminuyó de una forma más uniforme y consistente en los linfocitos tratados con Clorotalonil en comparación con aquellos expuestos a captan. Este hallazgo se sustenta en el análisis comparativo de las respectivas figuras 8 y 9, donde se observa una mayor reducción de la viabilidad celular en respuesta al Clorotalonil y a la mezcla de ambos fungicidas.

Esto puede atribuirse a varias razones, especialmente relacionadas con las propiedades fisicoquímicas de estas moléculas y sus mecanismos de entrada a las células. En primer lugar, el tamaño molecular y la estructura química de Clorotalonil y captan pueden influir significativamente en su capacidad para penetrar la membrana celular de los linfocitos. Clorotalonil, con una estructura molecular más simple y con un peso molecular menor a captan, puede atravesar más fácilmente la bicapa lipídica de las membranas celulares, permitiendo una entrada más rápida y efectiva, lo que supondría una mayor resistencia para penetrar la membrana celular para captan.

La relación dosis-efecto también es un factor crítico en esta observación. En las gráficas comparativas, se evidencia que a medida que aumenta la concentración de

Clorotalonil, la viabilidad celular disminuye de manera más marcada y uniforme, sugiriendo una relación dosis-dependiente más pronunciada en comparación con captan. Esta diferencia en la respuesta dosis-efecto puede estar relacionada con la afinidad de cada fungicida por sus posibles dianas moleculares dentro de la célula, así como su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno u otros intermediarios tóxicos.

Destaca la importancia del análisis al momento de la aplicación de estos fungicidas, ya sea de manera individual o su mezcla, ya que al observar una relación dosis-efecto se encara a posibles riesgos a la salud del aplicador, por lo que se sugiere un seguimiento correcto de las instrucciones del fabricante de cada fungicida.

Es importante destacar que nuestro estudio tiene algunas limitaciones, como el hecho de que solo se evaluó la mortalidad celular y no otros parámetros como el estrés oxidativo, intercambios de cromátide hermanas o aberraciones cromosómicas, los cuales podrían ayudar a observar cambios a nivel genético en las células inmunitarias. Además, se evaluó la toxicidad en células de linfocitos humanos in vitro y estos resultados no se pueden extrapolar directamente a los efectos en organismos completos.

5.1 Toxicidad del fungicida Captan

Parny et al. (2022) analizaron el efecto inmunomodulatorio de células macrófagas derivadas de monocitos expuestos a seis diferentes PC, entre ellos captan a diferentes concentraciones, encontrando una disminución de la viabilidad celular debajo del 90% desde concentraciones de 0.1, 1 y 10 μM expuestas a 24 horas.

Por otra parte, Moo-Muñoz et al. (2018) analizaron el efecto citotóxico de diversos fungicidas, entre ellos captan, en fibroblastos humanos utilizando el ensayo de viabilidad celular por exclusión de azul de tripan, encontrando una disminución significativa de la viabilidad celular menor al 50% en concentraciones desde 40 hasta 100 μM a las 24 horas de exposición.

Fernández-Vidal et al. (2019) estimaron la inducción de alteraciones de bases en el ADN y el estrés replicativo en células ováricas de hámster chino expuestas al fungicida captan por 24 horas, mediante el uso de distintos ensayos entre los que destacan el ensayo de proliferación celular utilizando el contador celular Malassez, los estudios indican una significativa disminución de la tasa de supervivencia (70 al 40%) entre las concentraciones expuestas del fungicida (0.2 a 1 μM). Los resultados de toxicidad obtenidos para el Captan fueron a concentraciones mayores.

5.2 Toxicidad del fungicida Cloratalonil

Se encuentran reportes previos de la toxicidad del Cloratalonil, Lebailly et al. (1997) evaluaron la viabilidad celular de linfocitos humanos de un varón sano de 23 años expuestos a 24 horas al agente Cloratalonil, utilizando el método de exclusión por azul de tripan, encontrando una pérdida de la viabilidad en un rango de 25 a 50% para las concentraciones de 10 y 500 μM respectivamente.

Por su parte Godard et al. (1999) analizaron el efecto citotóxico y genotóxico *in vivo* de etopósido y el fungicida Cloratalonil en células ováricas de hámster chino (CHO-K1), entre otras, mediante el ensayo cometa, apoyándose del ensayo de viabilidad celular por exclusión con azul de tripan, se utilizaron dosis orales de 200 y 2000 mg/kg además del sacrificio a las 1, 6 y 24 horas después de la exposición, se encontró una reducción de la viabilidad celular por debajo del 80% solo a las 24 horas de exposición en células intestinales a la concentración de 2000 mg/kg.

Adicionalmente Moo-Muñoz et al. (2021) analizaron el efecto citotóxico de los fungicidas con ingrediente activo Cloratalonil, entre otros, en fibroblastos humanos utilizando el ensayo de viabilidad celular por exclusión de azul de tripan, fue observada una disminución significativa de la viabilidad celular a la concentración utilizada de 100 μM después de una hora comparada con el grupo control, después de 24 horas de exposición se encontró una reducción significativa de la viabilidad celular (30 a 100 μM). Los datos de la presente investigación, no coinciden con los del autor mencionado, sin embargo se encontró una pérdida de la viabilidad celular desde la concentración de 0.5 μM constante hasta 100 μM utilizada, lo anterior pudo

ser debido a que el autor utilizó distintos tipos celulares, cabe señalar que utilizó tiempos de exposición y medios de cultivo idénticos, lo que supone un aumento en la confiabilidad de los resultados y destaca la importancia del conocimiento de las funciones de ambos tipos celulares en la respuesta inmune ante estos agentes.

5.3 Mezcla de fungicidas Captan + Clorotalonil

Lebailly et al. (1997) evaluaron la viabilidad celular de linfocitos humanos de un varón sano de 23 años expuestos a 24 horas a la mezcla de los agentes Clorotalonil y Carbendazim (5.5:1), utilizando el método de exclusión por azul de tripan, encontrando una dramática pérdida de la viabilidad en un rango de 25 a 75% para las concentraciones de 5 y 500 μM respectivamente. Estos resultados se encuentran dentro del rango de toxicidad encontrado en la presente investigación

Se ha identificado una brecha en la literatura científica disponible en relación con los estudios en donde se empleen las técnicas, métodos, células y fungicidas utilizados en el presente trabajo de investigación. La ausencia de trabajos previos que empleen técnicas similares, tales como evaluación de viabilidad celular mediante tinción por exclusión con azul de tripan destaca la singularidad y relevancia de la presente investigación.

Al considerar los resultados obtenidos en esta investigación, se destaca la importancia de expandir el conocimiento científico sobre los efectos tóxicos de la mezcla de los fungicidas Captan y Clorotalonil en linfocitos humanos. La falta de literatura existente que aborde esta temática de manera específica enfatiza la necesidad de futuras investigaciones que validen y amplíen los hallazgos presentados en esta tesis.

Las diferencias encontradas entre los valores que causan genotoxicidad pueden deberse a diversos factores como la vía de exposición, tiempo de exposición y dosis o concentración del ingrediente activo presente en la formulación (Campuzano Cortina et al. 2017). Para los casos de los PC evaluados en muestras sanguíneas, la exposición invasiva a los PC puede presentar una alta variabilidad entre muestras (Gompertz y Verschoyle, 1996).

VI Conclusiones

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la toxicidad de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s (Cloratalonil), tanto de manera individual como en mezcla, sobre linfocitos humanos. Se analizaron diferentes concentraciones y tiempos de exposición para determinar su impacto en la viabilidad celular. Basándonos en los resultados obtenidos y el análisis estadístico realizado, se concluye que la mezcla de los fungicidas Captan 50wp y Coraza 720s presentan una mayor disminución de la viabilidad celular a mayores concentraciones (80 y 100 μM) en linfocitos humanos en comparación a sus grupos control. Estos hallazgos son importantes para comprender mejor los riesgos asociados con el uso combinado de estos pesticidas y para guiar la regulación de su aplicación en la agricultura ya que representan impactos negativos a la salud humana.

VII Referencias bibliográficas

- Abbas, A. K. (2022). *Inmunología celular y molecular*. Elsevier. ISBN 9788413822068.
- Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C. O., Kala, S., Kryeziu, T. L., ... & Patrick-Iwuanyanwu, K. C. (2020). Pesticides, history, and classification. In *Natural remedies for pest, disease and weed control* (pp. 29-42). Academic Press.
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 9(3), 42.
- ATCC (American Type Culture Collection). 2014. ATCC Animal culture guide Assay. Desde: https://www.atcc.org/~media/PDFs/Culture%20Guides/AnimCellCulture_Guide.ashx
- Badii, M. H., & Flores, J. L. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica*, 4(19), 21-34.
- Barbero, F. M., Verdenelli, R. A., Dominchin, M. F., Pérez-Brandán, C., Aoki, A., Gil, S. V., & Meriles, J. M. (2023). Comunidades microbianas afectadas por captan en suelos bajo diferentes prácticas de manejo. *Ciencia del Suelo*, 41(1).
- Bibi S, Khan RL, Nazir R, et al. Heavy metals in drinking water of Lakki Marwat District, KPK, Pakistan. *World applied sciences journal*. 2016;34(1):15-19.
- Blair, A., Ritz, B., Wesseling, C., & Freeman, L. B. (2015). Pesticides and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(2), 81-82.
- Bols, N. C., Kawano, A., & Lee, L. E. J. (2011). Cellular, Molecular, Genomics, and Biomedical Approaches| Culture of Fish Cell Lines.
- Cadena, J. C., Morales, L. P. M., & Arriaga, J. A. L. (2015). El uso de plaguicidas altamente peligrosos en la floricultura en el Estado de México y el efecto sinérgico de las mezclas. *Los Plaguicidas Altamente Peligrosos en México*, 247.

- Castaño, M. E., & Zapata, J. C. (2000). Cultivos celulares. *Fondo Editorial Biogénesis*, 49-64.
- Castrejón Godínez, M. L., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz Hernández, M. L. (2014). Plaguicidas: Generalidades, usos e impactos sobre el ambiente y la salud. *Los plaguicidas en México. Aspectos generales, toxicológicos y Ambientales.* (ML Ortiz, E. Sánchez, JL Folch, A. Olvera, E. Datan), 11-35.
- Campuzano Cortina, C., Feijoó Fonnegra, L. M., Manzur Pineda, K., Palacio Muñoz, M., Rendón Fonnegra, J., & Zapata Díaz, J. P. (2017). Efectos de la intoxicación por glifosato en la población agrícola: revisión de tema. *CES Salud Pública*, 8(1), 121–133.
- Lans-Ceballos, E., Lombana-Gómez, M., & Pinedo-Hernández, J. (2018). Residuos de PC organoclorados en leche pasteurizada distribuida en Montería, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 20, 208-214.
- Celik, M., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Ergün, M. A., Arslan, O., & Kasap, R. (2005). In vitro effect of karathane LC (dinocap) on human lymphocytes. *Mutagenesis*, 20(2), 101-104.
- Coligan, John E.; Bierer, Barbara E.; Margulies, David H.; Shevach, Ethan M.; Strober, Warren (2001). Current Protocols in Immunology || Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. , (), A3.B.1–A3.B.3. doi:10.1002/0471142735.ima03bs111
- Del Puerto Rodríguez. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2014;52 (3):372-387.
- Díaz, O., & Betancourt Aguilar, C. R. (2018). Los PC; clasificación, necesidad de un manejo integrado y alternativas para reducir su consumo indebido: una revisión. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 14-30.
- Díaz Gómez, A. D. P. (2018). Informe de evento intoxicaciones por sustancias químicas, Colombia, 2017 [Internet]. *Instituto Nacional de Salud*, 16.

- Dolbeare, F. (1995). Bromodeoxyuridine: a diagnostic tool in biology and medicine, Part I: Historical perspectives, histochemical methods and cell kinetics. *The Histochemical Journal*, 27, 339-369.
- Dominguez Gortaire, J. A. (2017). Caracterización in vitro del profármaco derivado de la camptotecina para tratamiento del glioblastoma multiforme (Trabajo de fin de máster). [Universidad de Sonora, Departamento de ciencias químico biológicas].
- Eldridge, B. F. (2008). Pesticide application and safety training for applicators of public health pesticides. Vector-Borne Disease Section, 1616.
- Fang, I. J., & Trewyn, B. G. (2012). Application of mesoporous silica nanoparticles in intracellular delivery of molecules and proteins. *Methods in enzymology*, 508, 41-59.
- FAOSTAT. (s/f). Fao.org. Recuperado el 29 de febrero de 2024, de <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>
- Fernández-Vidal, A., Arnaud, L. C., Maumus, M., Chevalier, M., Mirey, G., Salles, B., ... & Boutet-Robinet, E. (2019). Exposure to the fungicide captan induces DNA base alterations and replicative stress in mammalian cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60(3), 286-297.
- Gallegos-Hernández, G. F. (2018). Ensayos colorimétricos para la detección de citotoxicidad. *Vidsupra vison cientidica*, 10, 1-4.
- Gobierno del Estado de Mexico (2021). Secretaria del campo. Va EDOMÉX por un campo limpio y sustentable. Recuperado de: <https://secampo.edomex.gob.mx/eventos-comunicados/va-edomex-por-un-campo-limpio-sustentable>.
- Godard, T., Fessard, V., Huet, S., Mouro, A., Deslandes, E., Pottier, D., ... & Poul, J. M. (1999). Comparative in vitro and in vivo assessment of genotoxic effects of etoposide and chlorothalonil by the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 444(1), 103-116.
- Gompertz, D., & Verschoyle, R. D. (1996). Organophosphorus pesticides. *Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, Guidelines*, 1, 1996.

- González, F. B., Márquez, D. A., Solís, J. D. Á., Meraz, E. A., Aguilar, O. A., Bastidas, P. D. J. B., ... & Kubiak, S. M. W. (2015). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. *RAPAM Texcoco*, 352.
- Gorodezky, C. (1999). Manual de procedimientos serológicos y celulares de histocompatibilidad / Manual of serological and cellular proceedings of histocompatibility (p. 76). México, D.F.: Secretaría de Salud.
- Hamed, S. M., Okla, M. K., Al-Saadi, L. S., Hozzein, W. N., Mohamed, H. S., Selim, S. y AbdElgawad, H. (2022). Evaluation of the phycoremediation potential of microalgae for captan removal: Comprehensive analysis on toxicity, detoxification and antioxidants modulation. *Journal of Hazardous Materials*, 427, 128177.
- Hetrick, J., Parker, R., Pisigan, R., & Thurman, N. (2000). Progress report on estimating pesticide concentrations in drinking water and assessing water treatment effects on pesticide removal and transformation: a consultation. *Briefing Document for a Presentation to the FIFRA Scientific Advisory Panel (SAP)*.
- Howard, P. (2017). Handbook of environmental fate and exposure data: for organic chemicals, volume III pesticides. Routledge.
- INEGI. (2023). Censo de Población y Vivienda 2022: Resultados oportunos. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Recuperado de: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/CA_ResOpt/CA_ResOpt2022.pdf
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. (2018). Estudios sobre el uso de plaguicidas en México: compilación 1980-2018.
- Kaur, R., Mavi, G. K., Raghav, S., & Khan, I. (2019). Pesticides classification and its impact on environment. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 8(3), 1889-1897.
- Lebailly, P., Vigreux, C., Godard, T., Sichel, F., Bar, E., LeTalaer, J. Y., ... & Gauduchon, P. (1997). Assessment of DNA damage induced in vitro by etoposide and two fungicides (carbendazim and chlorothalonil) in human lymphocytes with the comet

assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 375(2), 205-217.

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

Boussabbeh, M., Ben Salem, I., Hamdi, M., Ben Fradj, S., Abid-Essefi, S., & Bacha, H. (2016). Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3), 2882-2889.

Martí, L., Filippini, M. F., Bermejillo, A., Troilo, S., Salcedo, C., & Valdés, A. (2009). Monitoreo de cadmio y plomo en los principales fungicidas cúpricos comercializados en Mendoza, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 41(2), 109-116.

Middleditch, P. R., Minard, B. J., Cawley, L. P., & Bastian, F. O. (1979). Horseradish peroxidase labeled antisera--a diagnostic method for evaluating the percentages of B lymphocytes in peripheral blood. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 27(2), 689-690.

Moo-Muñoz, A. J., Azorín-Vega, E. P., Ramírez-Durán, N., & Moreno-Pérez, P. A. (2021). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of the captan-based fungicides, chlorothalonil-based fungicides and methyl thiophanate-based fungicides in human fibroblasts BJ. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 56(10), 877-883.

Naciones Unidas. (2015). Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA) (Rev. 6). Recuperado de https://unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev06/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev6sp.pdf

National Institute of Mental Health (2023). *Linfocitos*. Obtenida el 13 de enero de 2023 de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Linfocito>

- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in public health*, 4, 148.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Serie Vigilancia, 9. Plaguicidas organoclorados. México: OMS/OPS, 1990.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, ed. (1986). «Definiciones para los fines del Codex Alimentarius». Consultado el 22 de octubre de 2022.
- Parny, M., Coste, A., Aubouy, A., Rahabi, M., Prat, M., Pipy, B., & Treilhou, M. (2022). Differential immunomodulatory effects of six pesticides of different chemical classes on human monocyte-derived macrophage functions. *Food and Chemical Toxicology*, 163, 112992.
- Pérez Albaladejo, E. (2017). Uso de líneas celulares como modelos in vitro para la evaluación de toxicidad y mecanismos de acción de contaminantes ambientales.
- Raymond A. Cloyd (2011). *Pesticide Mixtures, Pesticides - Formulations, Effects, Fate*, Prof. Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-532-7
- Repetto-Jiménez, M., & Repetto Khun, G. (2009). *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos.
- Sabarwal, A., Kumar, K., & Singh, R. P. (2018). Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders. *Environmental toxicology and pharmacology*, 63, 103-114.
- Semarnat. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015. Semarnat. México. 2016.
- Stoddart, M. J. (Ed.). (2011). *Mammalian cell viability: methods and protocols* (Vol. 740). New York, NY, USA:: Humana Press.

- Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-Onazi, W. A., ... & Al-Mohaimeed, A. M. (2021). Pesticides in drinking water a review. *International journal of environmental research and public health*, 18(2), 468.
- UASLP. Standard Operating Procedures (SOPs) Laboratorio de Genómica Viral y Humana Facultad de Medicina UASLP Conteo celular y evaluación de viabilidad. 2013; Available from: http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Cell_counts_SPA.pdf
- Vega-Robledo, R. (2009). Inmunología para el médico general. Linfocitos. Revista de la Facultad de medicina. UNAM. 276-277.
- Verjel Álvarez, M. (2019). Evaluación del efecto genotóxico inducido por exposición laboral a PC en agricultores del municipio de Ábrego, Norte de Santander.
- WHO. World Health Organization. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture. England: World Health Organization (1990).
- Xiao, J., Zhang, Y., Wang, J., Yu, W., Wang, W., & Ma, X. (2010). Monitoring of cell viability and proliferation in hydrogel-encapsulated system by resazurin assay. *Applied biochemistry and biotechnology*, 162, 1996-2007.
- Yadav, I. C., & Devi, N. L. (2017). Pesticides classification and its impact on human and environment. *Environmental science and engineering*, 6(7), 140-158.
- Zacharia, J. T. (2011). Identity, physical and chemical properties of pesticides. Pesticides in the modern world-trends in pesticides analysis, 1-18.

Anexos

Anexo 1. Hoja de seguridad captan ultra 50wp



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

CAPTAN 50 WP

Versión 2021-2022

Nº Producto 019 FR06K16

fecha de publicación 31-may-2021

DDMX-TCb

Sección 1: IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA

EMPRESA

Identificación del producto

CAPTAN 50 WP

Sustancia pura/mezcla

Mezcla

Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Uso recomendado	Fungicida	Usos
desaconsejados		No hay información disponible

Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Dirección del proveedor 	Ingeniería Industrial S.A. de C.V. Insurgent es Sur 800-19 México D.F.
---------------------------------	---

Para obtener más información, póngase en contacto con

Dirección de correo electrónico
SDS@ADAMA.COM **Teléfono de urgencias**

Teléfono de urgencias 800 00 928 00 (SINTOX). Orientación las 24 hrs. los 365 días del año

Sección 2: IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Toxicidad aguda – Inhalación (polvo/niebla)	Categoría 3 - (H331)
Lesiones oculares graves o irritación ocular	Categoría 1 - (H318)
Sensibilización de la piel	Categoría 1 - (H317)
Carcinogenicidad	Categoría 2 - (H351)
Toxicidad acuática aguda	Categoría 1 - (H400)

Elementos de la etiqueta

Pictogramas de peligro



Palabras de advertencia ¡PELIGRO

Indicaciones de peligro H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel
H318 - Provoca lesiones oculares graves
H331 - Tóxico en caso de inhalación
H351 - Se sospecha que provoca cáncer
H400 - Muy tóxico para los organismos acuáticos

Consejos de prudencia P102 - Mantener fuera del alcance de los niños
P261 - Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol
P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
P302 + P352 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes
P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar
P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando
P403 + P233 - Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente
P501 - Eliminar el contenido y/o su recipiente de acuerdo con la normativa de residuos peligrosos

Otros peligros

No hay información disponible

Sección 3: COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN DE INGREDIENTES

Mezcla

Nombre químico	% en peso	Nº CAS
Captán	50	133-06-2

Sección 4: MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS

PRIMEROS AUXILIOS

Consejo general	En caso de accidente o malestar, consultar inmediatamente a un médico (mostrarle las instrucciones de uso o la ficha de datos de seguridad cuando sea posible hacerlo). Prestador de primeros auxilios: ¡Preste atención a su propia protección personal.
Inhalación	Transportar a la víctima al exterior. Si la respiración es irregular o no hay respiración, administrar respiración artificial. Llamar a un médico.
Contacto con la piel	Lavar inmediatamente con jabón y abundante agua y quitarse la ropa y el calzado contaminados. Consultar a un médico si fuera necesario
Contacto con los ojos	Lavar inmediatamente con abundante agua. Después del lavado inicial, quitar las lentillas de contacto si las hubiera y volver a lavar durante al menos 15 minutos. Mantener el ojo bien abierto durante el enjuague. Si persisten los síntomas, llamar a un médico.
Ingestión	Enjuagarse la boca. Beber abundante agua. Si persisten los síntomas, llamar a un médico.
Equipo de protección para el personal de primeros auxilios	Utilizar el equipo de protección individual obligatorio

Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Síntomas Ninguno conocido

Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Nota para el personal médico Tratar los síntomas.

Sección 5: MEDIDAS DE EXTINCIÓN DE INCENDIOS

Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Utilizar medidas de extinción adecuadas a las circunstancias locales y al entorno. **Medios de extinción no apropiados**
No hay información disponible.

Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

No se conocen peligros específicos.

Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si fuera necesario llevar un aparato de respiración autónomo para apagar el incendio

Sección 6: MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Precauciones individuales

Utilizar el equipo de protección individual obligatorio. Mantener alejadas a las personas y en dirección contraria al viento en una fuga o vertido. Evacuar al personal a zonas seguras.

Para el personal de emergencia

Utilizar las medidas de protección personal recomendadas en la sección 8.

Precauciones relativas al medio ambiente

Prevenir más fugas o vertidos si se puede hacer de forma segura. Prevenir la penetración del producto en desagües. No arrojar a las aguas superficiales ni al sistema de alcantarillado.

Métodos y material de contención y de limpieza

Métodos de limpieza

Recoger por medios mecánicos y depositar en recipientes apropiados para su eliminación.

Referencia a otras secciones

Otros datos

Consultar también la sección 8,13

Sección 7: MANEJO Y ALMACENAMIENTO

Precauciones para una manipulación segura

Recomendaciones para una manipulación sin peligro

Evitar el contacto con la piel, los ojos o la ropa. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. No comer, beber ni fumar durante su utilización. Utilizar el equipo de protección individual obligatorio. No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Utilizar con ventilación por extracción local.

Consideraciones generales sobre higiene

No comer, ni beber, ni fumar durante su utilización. Se recomienda realizar una limpieza periódica de los equipos así como la zona y la indumentaria de trabajo. Evitar el contacto con la piel, los ojos o la ropa. Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. Manténgase lejos de alimentos, bebidas y piensos. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Condiciones de almacenamiento

Mantener el contenedor perfectamente cerrado y en un lugar seco y bien ventilado. Manténgase fuera del alcance de los niños.

Mantener los contenedores perfectamente cerrados en un lugar fresco y bien ventilado. Mantener en contenedores etiquetados adecuadamente.

Usos específicos finales

Medidas de gestión de riesgos (MGR)

La información requerida se encuentra en esta ficha de datos de seguridad.

Sección 8: CONTROLES DE EXPOSICIÓN/PROTECCIÓN PERSONAL

Parámetros de Control

TLV[®] -TWA [mg/m³] :

(USA) Captan : 5 , A3 (1996)

Controles de la exposición

Controles técnicos

Asegurar una ventilación adecuada, especialmente en áreas confinadas.

Equipos de protección personal

Protección ocular y de la cara:

Gafas de seguridad bien ajustadas.

Protección del cuerpo

Ropa de protección adecuada, Guantes de plástico o de caucho, Ropa de protección adecuada, Delantal, Botas de caucho, Llevar ropa protectora impermeable, como botas, guantes, bata de laboratorio, delantal o bata de trabajo, según proceda, para evitar el contacto con la piel.

Consideraciones generales sobre higiene

No comer, ni beber, ni fumar durante su utilización. Se recomienda realizar una limpieza periódica de los equipos así como la zona y la indumentaria de trabajo. Evitar el contacto con la piel, los ojos o la ropa. Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. Manténgase lejos de alimentos, bebidas y piensos. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Controles de exposición medioambiental

Debe avisarse a las autoridades locales si no se pueden contener vertidos importantes. No permitir que se introduzca en ningún tipo de alcantarilla, en el terreno ni en ningún cuerpo de agua. Prevenir la penetración del producto en desagües.

Sección 9: PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Propiedades físicas y químicas

<u>Propiedad</u>	<u>Valores</u>	<u>Método</u>	<u>Comentarios</u>
Apariencia			
Estado Físico	Sólido		
Color	Beige		
Olor	Tenue Característico		
Umbral Olfativo	Sin datos disponibles		
pH	7.5		
Punto de fusión/congelación (°C)	No es aplicable		
Punto/Intervalo de ebullición (°C)	Sin datos disponibles		
Punto de inflamación (°C)	Sin datos disponibles		
Velocidad de Evaporación	Sin datos disponibles		
Inflamabilidad (sólido)	Sin datos disponibles		
Límite superior de inflamabilidad o exposividad	Sin datos disponibles		
Presión de vapor (captán)	4.2 x 10 ⁻⁹	OCDE 104	20 °C
Densidad de Vapor	Sin datos disponibles		
Densidad relativa	Sin datos disponibles		
Solubilidad (mg/L, captán)	4.9		Agua, 20 °C
Coefficiente de Reparto, Log Pow octanol/agua	(n-		Ver la sección 12
Temperatura de autoignición (I, captán)	>181	EEC A.16	

Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
Viscosidad cinemática	NO es aplicable
Propiedades explosivas	No es explosivo
Propiedades comburentes	No es comburente
Peso Molecular	NA (Mezcla)
<u>Otros datos</u>	
Densidad aparente (g/mL)	0.38
Tensión Superficial	No es aplicable

Sección 10: ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

Reactividad

No está disponible.

Estabilidad química

Estable en condiciones normales.

Posibilidad de reacciones peligrosas

Ninguno durante un proceso normal.

Condiciones que deben evitarse

Calor, llamas y chispas.

Materiales incompatibles

No hay información disponible

Productos peligrosos en descomposición:

Ninguna en condiciones normales de uso.

Sección 11: INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

	<u>Valores</u>	<u>Especie</u>	<u>Método</u>	<u>Comentarios</u>
DL50 oral mg/kg	: >2000	Rata	OECD 401	
DL50 cutánea mg/kg	: >2000	Rata	OECD 402	
Inhalación CL50 mg/l/4h	: 1.16	Rata	OECD 403	
Corrosión o irritación cutáneas	: No irritante para la piel	Conejo	OECD 404	
Lesiones oculares graves o irritación ocular	: Severamente irritante para los ojos	Conejo	OECD 405	
Sensibilización respiratoria o	: Sensibilizante cutáneo	Cobaya	OECD 406	
		cutánea		

Toxicidad crónica

Mutagenicidad en células germinales

Nombre químico

Captán : No está clasificado **carcinogenicidad**

Nombre químico

Captán : Categoría de carcinogenicidad 2

Toxicidad para la reproducción .

Nombre químico

Captán : No es tóxico para el sistema reproductivo

STOT - exposición única

Nombre químico

Captán : No hay información disponible

STOT - exposición repetida

Nombre químico

Captán : No está disponible

Peligro por aspiración

Nombre químico

Captán : No hay información disponible

Sección 12: INFORMACIÓN ECOLÓGICA

Toxicidad

Toxicidad acuática

Toxicidad aguda	Valores	Especie	Método	Comentarios
Peces CL50 96 horas mg/l	: 0.098		OECD 203	
Crustáceos CE50 48 horas mg/l	: 3.4	Daphnia magna	OECD 202	
Algas EC50 de 72 horas mg/l	: 1.6	Selenastrum capricornutum	OECD 201	
Otras plantas CE50 mg/l	:			sin datos disponibles

Toxicidad terrestre

Aves DL50 oral mg/kg

Nombre químico

Captán : >2000 Ánade real

Abejas DL50 oral µg/bee

Nombre químico

Captán : >100

Persistencia y degradabilidad

Degradación abiótica	Valores	Método	Comentarios
Agua DT50 días			
Nombre químico			
Captán	: <1		25 °C

Terrestre DT50 días

Nombre químico

Captán : 0.44 - 1.09 aerobic 25 °C

Biodegradación

Nombre químico

Captán : No hay información disponible

Potencial de bioacumulación

Coefficiente de reparto

(n-octanol/agua) Coeficiente de reparto (n-octanol/agua)

Log Pow Nombre químico

Captán

Valores

: 2.57

Método

Comentarios

pH 7; 25 ° C

Factor de bioconcentración (FBC)

Nombre químico

Captán

: 140

Movilidad en el suelo

Adsorción/Desorción

Nombre químico

Captán

Valores

: No hay información disponible

Método

Comentarios

sin datos disponibles

Resultados de la valoración PBT y mPmB

Los componentes de esta formulación no cumplen los criterios para su clasificación como PBT o mPmB

Otros efectos adversos

No hay información disponible.

Sección 13: CONSIDERACIONES DE ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Métodos para el tratamiento de residuos

Restos de residuos/productos sin

nacionales y usar

La eliminación debe realizarse conforme a las leyes y normativas regionales, locales aplicables.

Embalaje contaminado

La inadecuada eliminación o reutilización de este recipiente puede ser peligrosa e ilegal.

Otros datos

El usuario debe asignar códigos de residuos basándose en la aplicación para la que se utilizó el producto.

Sección 14: INFORMACIÓN DE TRANSPORTE

IMDG:

Nº ID/ONU *

3077

Designación oficial de transporte

Sustancia sólida peligrosa para el medio ambiente, N.E.P. (Captán)

Clase de peligro

9

Grupo de embalaje

III

Contaminante marino

Sí

Precauciones particulares para los usuarios

RID/ADR

Nº ID/ONU * 3077
Designación oficial de transporte Sustancia sólida peligrosa para el medio ambiente, N.E.P. (Captán)
Clase de peligro 9
Grupo de embalaje III
Peligro para el medio ambiente Sí
Precauciones particulares para los usuarios

ICAO (aire)

Nº ID/ONU * 3077
Designación oficial de transporte Sustancia sólida peligrosa para el medio ambiente, N.E.P. (Captán)
Clase de peligro 9
Grupo de embalaje III
Peligro para el medio ambiente Sí
Precauciones particulares para los usuarios
Transporte a granel con arreglo al No es aplicable
anexo II del Convenio MARPOL
73/78 y del Código IBC



Nota: UN3077 y UN3082 – Estos productos pueden ser transportados como mercancías no peligrosas en virtud de las disposiciones especiales 2.10.2.7 del Código IMDG, SP 375 del ADR y A197 del ICAO/IATA, cuando se envasan como embalajes únicos o como combinados conteniendo una cantidad neta por embalaje interior o individual de 5 l o menos para líquidos o con una masa neta por embalaje interior o individual de 5 kg o menos para sólidos

CAPTAN 50 WP

Captan 50 WP

Sección 15: INFORMACIÓN REGULATORIA

Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sección 16: OTROS DATOS

Nota de revisión

Changes made to the last version are labeled with this sign ***.

Lista de acrónimos

- ADR - Acuerdo europeo relativo al transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera
ADN - Acuerdo europeo relativo al transporte internacional de mercancías peligrosas por vías navegables interiores
CAS Number - N° CAS (Chemical Abstracts Service Number)
EC Number - Número CE: Número EINECS y ELINCS (véase también EINECS y ELINCS)
EINECS - Catálogo Europeo de Sustancias Químicas Comercializadas
ELINCS - Lista europea de sustancias químicas notificadas
IATA - Asociación Internacional de Transporte Aéreo
ICAO-TI - Instrucciones técnicas para la seguridad del transporte aéreo de mercancías peligrosas
IMDG - Código marítimo internacional para el transporte de mercancías peligrosas
LC50 - concentración letal para el 50 % de una población de pruebas
LD50 - dosis letal para el 50 % de una población de pruebas (dosis letal media)
OECD - OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
PBT - sustancia persistente, bioacumulativa y tóxica
RID - Reglamento relativo al transporte internacional de mercancías peligrosas por ferrocarril
STOT - Specific Target Organ Toxicity. Toxicidad específica en determinados órganos vPvB - mPmB: muy persistente y muy bioacumulable

La información se considera correcta, pero no es exhaustiva y se utilizará únicamente como orientación, la cual está basada en el conocimiento actual de la sustancia química o mezcla y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto

Descargo de responsabilidad

La información se considera correcta, pero no es exhaustiva y se utilizará únicamente como orientación, la cual está basada en el conocimiento actual de la sustancia química o mezcla y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto.

La información suministrada está diseñada solo como guía de manipulación, uso, procesado, almacenamiento, transporte, eliminación y liberación seguros y no debe considerarse como una garantía o especificación de calidad. La información solo hace referencia al material específico designado y puede no ser válida para dicho material cuando se usa en combinación con cualquier otro material o proceso, a menos que el texto lo especifique.

Fin de la ficha de datos de seguridad

Anexo 2 Hoja de seguridad Cloratalonil

1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO Y FABRICANTE

Nombre Comercial:	Coraza 720 S	No. de CAS:	1897-45-6
Nombre Químico:	Tetracloroisofalónitrilo	Fórmula Química:	C ₈ Cl ₄ N ₂
Familia Química:	Cloronitrilo		
Uso recomendado:	Fungicida		
Restricciones de uso:	No se exponga a los rayos solares, contacto con materiales incompatibles		
Fabricante:	PROMOTORA TÉCNICA INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.		
Dirección:	Calle 56 Sur, Manzana 1 Lote 13. Colonia CIVAC. Jiutepec, Morelos. C.P. 62578		
Teléfono de Contacto:	+52 (777) 321 14 75, +52 (777) 321 14 77, +52 (777) 319 35 45,		
Emergencias:	SINTOX: 01-800-009-28-00	SETIQ: 01-800-002-14-00	

2. IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS

Clasificación según la NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo

Toxicidad aguda por ingestión-Categoría 5

Corrosión/Irritación cutánea-Categoría 3

Lesiones oculares graves/Irritación ocular-Categoría 2B

Toxicidad aguda por inhalación-Categoría 4

Elementos de la etiqueta

Pictograma:



Palabra de advertencia: Atención

CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN H Y SUS INDICACIONES DE PELIGRO FÍSICO Y SALUD
CÓDIGO INDICACIÓN DE PELIGRO FÍSICO CLASE DE PELIGRO
CATEGORÍA DE

**PEL
IGR
O**

H303	Puede ser nocivo en caso de ingestión	Toxicidad aguda por ingestión	5
H316	Provoca una leve irritación cutánea	Corrosión/irritación cutáneas	3
H320	Provoca irritación ocular	Lesiones oculares graves/irritación ocular	
H332	Nocivo si se inhala	Toxicidad aguda por inhalación	2B 4





CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN P Y SUS CONSEJOS DE PRUDENCIA

CÓDIGO	CONSEJO DE PRUDENCIA
P201	Procurase las instrucciones antes del uso
P202	No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad
P302 + P352	En caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua
P332 + P313	En caso de irritación cutánea, consultar a un médico
P402 + P404	Almacenar en un lugar seco y en un recipiente cerrado
P410 + P403	Proteger de la luz solar. Almacenar en un lugar bien ventilado
P501	Eliminar el contenido / recipiente

3. INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES			
Ingrediente	Numero CAS	Numero ONU	% en peso
Clorotalonil	1897-45-6	No disponible	No disponible
Diluyente, dispersante, antiespumante, estabilizador y compuestos relacionados	No disponible	No disponible	No disponible
4. PRIMEROS AUXILIOS			
SINTOMAS Y EFECTOS A LA SALUD			
Contacto en ojos:	Irritación		
Contacto en piel:	Levemente irritante, no causa alergia		
Ingestión:	Puede causar irritación al tracto digestivo		
Inhalación:	Irritación en el tracto respiratorio		
EMERGENCIAS Y PRIMEROS AUXILIOS			
En caso de emergencia solicitar atención médica inmediata y, en su caso, tratamiento especial. Quitarse inmediatamente toda prenda ensuciada con el producto. Lleve a la persona al aire fresco			
Contacto en ojos:	Lavar los ojos con abundante agua por lo menos 15 minutos, sosteniendo los párpados separados para asegurar un lavado de la superficie del ojo completa		
Contacto en piel:	Lave con abundante agua y jabón, remueva la ropa y calzado contaminado, lave la ropa antes de volver a usarla. Buscar atención médica		

Ingestión:	Nunca de nada por la boca a una persona inconsciente, si se ha tragado no induzca al vómito. Si el vómito ocurre espontáneamente, mantenga las vías respiratorias limpias.
Inhalación:	Remueva a la persona del área contaminada hacia el aire fresco, o emplee protección respiratoria apropiada hasta que se restaure una ventilación adecuada
5. MEDIDAS CONTRA INCENDIOS	
Medios de extinción:	Polvo químico seco, espuma, agua, dióxido de carbono
Peligros específicos:	Se puede descomponer bajo condiciones de fuego emitiendo gases y vapores (por ejemplo, cloruro de hidrógeno) los que pueden ser tóxico e irritantes al tracto respiratorio
Medidas contra incendios:	Trasladar los recipientes del área del incendio, si puede hacerse sin riesgo. Usar agua pulverizada para mantener frescos los recipientes expuestos al fuego. Enfriar los recipientes expuestos al fuego con agua hasta mucho después de que el fuego haya cesado. Los bomberos deben utilizar equipo de protección estándar, incluyendo chaqueta ignífuga, casco con pantalla, guantes, botas de goma
6. MEDIDAS QUE DEBEN TOMARSE EN CASO DE DERRAME O FUGA	
Precauciones personales:	Mantener alejado al personal no autorizado, usar un equipo de protección personal, ventilar los espacios cerrados antes de entrar en ellos
Equipos de protección:	Guantes, botas, lentes de seguridad, mascarilla para vapores
Procedimientos de emergencia:	Absorberlo y envasarlo en tambores para su eliminación
Precauciones relativas al medio ambiente:	Evite su introducción en vías fluviales, alcantarillas, sótanos o áreas de almacenamiento de agua
Métodos y materiales para la contención y limpieza de derrames o fugas:	Recoger el material derramado y depositarlo en bolsas de polietileno o en algún recipiente plástico y disponer de él de acuerdo con la legislación vigente. Barrer y fregar con una solución detergente

7. MANEJO Y ALMACENAMIENTO	
Precauciones para garantizar un manejo seguro:	Utilizar equipo de protección individual, según corresponda, no respirar la niebla o vapor, prohibido comer, beber y fumar durante la utilización del producto, lavarse las manos a fondo después de manipular el producto, evitar el contacto con los ojos y la piel, no manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad
Prevención de incendios y explosiones:	Proteger los envases del calor y mantenerlos cerrados, lejos de fuentes de ignición
Condiciones de almacenamiento:	Almacenar en lugar, fresco (< de 40°C), seco y mantener los envases cerrados, proteger los envases del calor
Incompatibilidad:	Agentes oxidantes

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/PROTECCIÓN PERSONAL	
Parámetros de control:	Información no disponible en la NOM-010-STPS-2014
Controles técnicos:	Ventilación general adecuada (típicamente 10 renovaciones del aire por hora). La frecuencia de la renovación del aire debe corresponder a las condiciones. De ser posible, use campanas extractoras, ventilación aspirada local u otras medidas técnicas, acceso a lavajos y ducha de seguridad
Equipo de Protección Personal:	<p>Protección ojos: goggles, careta, lentes de seguridad Protección manos: guantes de hule largos Protección vías respiratorias: mascara para vapores Otras recomendaciones: evitar el contacto con los ojos, mantener buenas prácticas de higiene industrial, no manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad. Lavar la ropa contaminada antes de volverla a usar, no dejar que este material entre en contacto con la piel</p> <div style="display: flex; justify-content: center; gap: 20px;">     </div>

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS			
Apariencia (estado físico, color, etc.):	Líquido blanco a gris	Olor:	Característico
pH(1%):	4.0-6.0	Umbral del olor:	Datos no disponibles
Punto de fusión/punto de congelación:	250-251°C	Punto inicial e intervalo de ebullición:	100°C
Punto de inflamación:	Datos no disponibles	Inflamabilidad (sólido/gas):	No inflamable
Velocidad de evaporación:	Datos no disponibles	Presión de vapor:	Datos no disponibles
Límite superior/inferior de inflamabilidad o explosividad:	Datos no disponibles	Solubilidad(es):	Dispersable en agua
Densidad de vapor:	Datos no disponibles	Densidad relativa(25°C):	1.20-1.30
Coefficiente de partición noctanol/agua:	Datos no disponibles	Temperatura de ignición espontánea:	Datos no disponibles
Temperatura de descomposición:	Datos no disponibles	Viscosidad:	Datos no disponibles
Peso molecular:	265.89 g/mol	Otros datos relevantes:	Datos no disponibles

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD


Reactividad:	No reactivo	Condiciones que deberán evitarse:	No se exponga a los rayos solares
Estabilidad química:	Estable	Materiales incompatibles	Agentes oxidantes
Posibilidad de reacciones peligrosas:	No ocurre	Productos de descomposición peligrosos:	Humos irritantes y tóxicos, puede haber formación de ácido clorhídrico
11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA			
Vías probables de ingreso:	Ingestión, cutánea, ocular, inhalación		
Síntomas relacionados con las características físicas, químicas y toxicológicas:	Puede causar irritación al tracto digestivo después de ingerir grandes cantidades, provoca irritación ocular		
Efectos inmediatos y retardados, así como efectos crónicos producidos por una exposición a corto o largo plazo:	En una exposición crónica, puede causar un daño irreversible en los ojos, ligera irritación en la piel, puede causar irritación en el tracto respiratorio		
Medidas numéricas de toxicidad (tales como estimaciones de toxicidad aguda):	<u>Clorotalonil</u> DL ₅₀ (oral, rata)= >10000mg/kg DL ₅₀ (dérmico, conejo)= >10000mg/kg CL ₅₀ (inhalación, rata)= 0.092mg/l/4h		
Efectos interactivos:	Información no disponible		
Mezclas:	Información no disponible		
Información sobre la mezcla o sobre sus componentes:	Información no disponible		
Otra información:	Información no disponible		
12. INFORMACIÓN ECOTOXICOLÓGICA			
Toxicidad:	<u>Clorotalonil</u> CL ₅₀ (trucha arco iris)= 0.25mg/l/96h CL ₅₀ (agalla azul)= 0.39mg/l/96h CL ₅₀ (siluro del Canal)= 0.43mg/l		
Persistencia y degradabilidad:	Datos no disponibles		
Potencial de bioacumulación:	Datos no disponibles		
Movilidad en el suelo:	Datos no disponibles		
Otros efectos adversos:	Este producto es tóxico para peces y otros organismos acuáticos		
13. INFORMACIÓN RELATIVA A LA ELIMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS			
Descripción de los residuos:	Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos, no tirar los residuos por el desagüe		
Manera de manipularlos:	No los mezcle con otros residuos, maneje los recipientes sucios como el propio producto		

Métodos de eliminación (incluida la eliminación de los recipientes contaminados):	Hacer triple lavado, si el envase aun no queda limpio después del triple lavado, repite los pasos hasta que quede completamente limpio. Después de lavar los envases debes cortarlos, perforarlos y guardarlos en un recipiente destinado para ese fin
---	--

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

Número ONU:	3082
Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas:	No. ONU: 3082 Clase: 9 Grupo de embalaje: III
Clase(s) de peligros en el transporte:	9
Grupo de embalaje/envasado, si se aplica:	III
Riesgos ambientales:	Coraza 720 S. Sustancia líquida potencialmente peligrosa para el medio ambiente, N.E.P.
Precauciones especiales para el usuario:	Recipientes cerrados e identificados, lejos de incompatibles y de los rayos rolares

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

Disposiciones específicas sobre seguridad: Frases R y frases S	R20: nocivo por inhalación R22: nocivo por ingestión R38: irrita la piel R36: irrita los ojos S2: mantener fuera del alcance de los niños S15: conservar alejado del calor S7/S8: mantener el recipiente bien cerrado y en lugar seco
Clasificación NFPA	<p>Peligro para la salud(azul): 2</p> <p>Peligro por inflamabilidad(rojo): 0</p> <p>Peligro por reactividad(amarillo): 0</p> <p>Peligros especiales(blanco): Ninguno</p> 

16. OTRA INFORMACIÓN RELATIVA A LAIÓN Y ACTUALIZACIÓN DE LA HOJA DE PREPARACSEGURIDAD

La información se considera correcta, pero no es exhaustiva y se utilizará únicamente como orientación, la cual está basada

<i>en el conocimiento actual de la sustancia química oes aplicable a las precauciones de seguridad mezcla y el producto.</i>	
<i>apropiadas para</i>	
REVISÓ	AUTORIZÓ
Martín Magaña Mogica	Carlos Treviño Rodríguez
Gerente de Producción	Director de Operaciones

Anexo 3

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Toluca, Estado de México a 23 de Enero del 2023.

He sido invitado(a) a participar en el proyecto de investigación para un trabajo de investigación para tesis de Licenciatura en Biotecnología, el cual es desarrollado por el estudiante Reynaldo Rafael Arriaga Perez, bajo la dirección de Dr. en C.B. Martin Pablo Antonio Moreno Pérez, el cual se llevará a cabo en las instalaciones del laboratorio de Microbiología Médica y Ambiental de la facultad de medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex).

El propósito de este estudio es analizar la viabilidad celular de linfocitos expuestos a diversos agentes fúngicos usados en la agricultura (Captan y Cloratalonil) el cual implica la utilización de muestras de sangre, específicamente linfocitos, para llevar a cabo los experimentos necesarios.

He sido debidamente informado(a) por Reynaldo Rafael Arriaga Perez quien está cursando la Licenciatura en Biotecnología en la facultad de ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), sobre mi participación en este estudio. Se me ha explicado que se tomará una muestra de mi sangre para el análisis y estudio de linfocitos en el contexto del proyecto de tesis mencionado.


Además, se me ha informado sobre los posibles riesgos y molestias asociados con la toma de muestras de sangre, así como las medidas de seguridad y protocolos que se seguirán para minimizar cualquier riesgo potencial. La información que se derive de mi muestra será tratada de manera anónima y confidencial, y será utilizada únicamente con fines de investigación científica.

Se me ha asegurado que todos los procedimientos serán llevados a cabo siguiendo los estándares éticos y legales aplicables, incluyendo, pero no limitándose a los principios de confidencialidad, anonimato y protección de datos personales, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos personales y los códigos éticos relevantes.

Entiendo que mi participación es completamente voluntaria y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento sin ninguna penalización o pérdida de beneficios

a los que de otro modo tendría derecho. No recibiré remuneración alguna por mi participación en este estudio.

Habiendo comprendido toda la información que se me ha proporcionado y habiendo tenido la oportunidad de hacer las preguntas que consideré necesarias, las cuales han sido satisfactoriamente respondidas, doy mi consentimiento informado para participar en este estudio.



[Firma del Participante]

Anexo 4 Prueba post-hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:
HSD Tukey

VIABILIDAD_CELULAR

(I)		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior	Límite superior
CONCENTRACION	.00	.50	20.01501	1.000	-75.1302	69.4635
		1.00	20.01501	1.000	-84.4635	60.1302
		2.50	20.01501	1.000	-86.7968	57.7968
		5.00	20.01501	1.000	-74.4635	70.1302
		10.00	21.92535	0.999	-96.6972	61.6972
		20.00	18.98791	1.000	-65.8368	71.3368
		40.00	20.01501	1.000	-68.7968	75.7968
		60.00	20.01501	1.000	-59.1302	85.4635
		80.00	21.92535	1.000	-68.1972	90.1972
		100.00	20.01501	0.989	-50.7968	93.7968

.50	.00	2.83333	20.01501	1.000	-69.4635	75.1302
	1.00	-9.33333	17.90197	1.000	-73.9976	55.3309
	2.50	-11.66667	17.90197	1.000	-76.3309	52.9976
	5.00	0.66667	17.90197	1.000	-63.9976	65.3309
	10.00	-14.66667	20.01501	0.999	-86.9635	57.6302
	20.00	5.58333	16.74576	1.000	-54.9045	66.0712
	40.00	6.33333	17.90197	1.000	-58.3309	70.9976
	60.00	16.00000	17.90197	0.997	-48.6643	80.6643
	80.00	13.83333	20.01501	1.000	-58.4635	86.1302
	100.00	24.33333	17.90197	0.945	-40.3309	88.9976
1.00	.00	12.16667	20.01501	1.000	-60.1302	84.4635
	.50	9.33333	17.90197	1.000	-55.3309	73.9976
	2.50	-2.33333	17.90197	1.000	-66.9976	62.3309
	5.00	10.00000	17.90197	1.000	-54.6643	74.6643
	10.00	-5.33333	20.01501	1.000	-77.6302	66.9635
	20.00	14.91667	16.74576	0.997	-45.5712	75.4045
	40.00	15.66667	17.90197	0.998	-48.9976	80.3309
	60.00	25.33333	17.90197	0.930	-39.3309	89.9976
	80.00	23.16667	20.01501	0.981	-49.1302	95.4635
	100.00	33.66667	17.90197	0.722	-30.9976	98.3309
2.50	.00	14.50000	20.01501	1.000	-57.7968	86.7968
	.50	11.66667	17.90197	1.000	-52.9976	76.3309
	1.00	2.33333	17.90197	1.000	-62.3309	66.9976
	5.00	12.33333	17.90197	1.000	-52.3309	76.9976
	10.00	-3.00000	20.01501	1.000	-75.2968	69.2968
	20.00	17.25000	16.74576	0.992	-43.2379	77.7379
	40.00	18.00000	17.90197	0.993	-46.6643	82.6643
	60.00	27.66667	17.90197	0.887	-36.9976	92.3309
	80.00	25.50000	20.01501	0.963	-46.7968	97.7968
	100.00	36.00000	17.90197	0.644	-28.6643	100.6643
5.00	.00	2.16667	20.01501	1.000	-70.1302	74.4635
	.50	-0.66667	17.90197	1.000	-65.3309	63.9976
	1.00	-10.00000	17.90197	1.000	-74.6643	54.6643
	2.50	-12.33333	17.90197	1.000	-76.9976	52.3309
	10.00	-15.33333	20.01501	0.999	-87.6302	56.9635
	20.00	4.91667	16.74576	1.000	-55.5712	65.4045
	40.00	5.66667	17.90197	1.000	-58.9976	70.3309
	60.00	15.33333	17.90197	0.998	-49.3309	79.9976
	80.00	13.16667	20.01501	1.000	-59.1302	85.4635
	100.00	23.66667	17.90197	0.954	-40.9976	88.3309
10.00	.00	17.50000	21.92535	0.999	-61.6972	96.6972

	.50	14.66667	20.01501	0.999	-57.6302	86.9635
	1.00	5.33333	20.01501	1.000	-66.9635	77.6302
	2.50	3.00000	20.01501	1.000	-69.2968	75.2968
	5.00	15.33333	20.01501	0.999	-56.9635	87.6302
	20.00	20.25000	18.98791	0.989	-48.3368	88.8368
	40.00	21.00000	20.01501	0.990	-51.2968	93.2968
	60.00	30.66667	20.01501	0.892	-41.6302	102.9635
	80.00	28.50000	21.92535	0.958	-50.6972	107.6972
	100.00	39.00000	20.01501	0.682	-33.2968	111.2968
20.00	.00	-2.75000	18.98791	1.000	-71.3368	65.8368
	.50	-5.58333	16.74576	1.000	-66.0712	54.9045
	1.00	-14.91667	16.74576	0.997	-75.4045	45.5712
	2.50	-17.25000	16.74576	0.992	-77.7379	43.2379
	5.00	-4.91667	16.74576	1.000	-65.4045	55.5712
	10.00	-20.25000	18.98791	0.989	-88.8368	48.3368
	40.00	0.75000	16.74576	1.000	-59.7379	61.2379
	60.00	10.41667	16.74576	1.000	-50.0712	70.9045
	80.00	8.25000	18.98791	1.000	-60.3368	76.8368
	100.00	18.75000	16.74576	0.985	-41.7379	79.2379
40.00	.00	-3.50000	20.01501	1.000	-75.7968	68.7968
	.50	-6.33333	17.90197	1.000	-70.9976	58.3309
	1.00	-15.66667	17.90197	0.998	-80.3309	48.9976
	2.50	-18.00000	17.90197	0.993	-82.6643	46.6643
	5.00	-5.66667	17.90197	1.000	-70.3309	58.9976
	10.00	-21.00000	20.01501	0.990	-93.2968	51.2968
	20.00	-0.75000	16.74576	1.000	-61.2379	59.7379
	60.00	9.66667	17.90197	1.000	-54.9976	74.3309
	80.00	7.50000	20.01501	1.000	-64.7968	79.7968
	100.00	18.00000	17.90197	0.993	-46.6643	82.6643
60.00	.00	-13.16667	20.01501	1.000	-85.4635	59.1302
	.50	-16.00000	17.90197	0.997	-80.6643	48.6643
	1.00	-25.33333	17.90197	0.930	-89.9976	39.3309
	2.50	-27.66667	17.90197	0.887	-92.3309	36.9976
	5.00	-15.33333	17.90197	0.998	-79.9976	49.3309
	10.00	-30.66667	20.01501	0.892	-	41.6302
	20.00	-10.41667	16.74576	1.000	102.9635	50.0712
	40.00	-9.66667	17.90197	1.000	-70.9045	54.9976
	80.00	-2.16667	20.01501	1.000	-74.3309	70.1302
	100.00	8.33333	17.90197	1.000	-74.4635	72.9976
80.00	.00	-11.00000	21.92535	1.000	-56.3309	68.1972
	.50	-13.83333	20.01501	1.000	-90.1972	58.4635

	1.00	-23.16667	20.01501	0.981	-95.4635	49.1302
	2.50	-25.50000	20.01501	0.963	-97.7968	46.7968
	5.00	-13.16667	20.01501	1.000	-85.4635	59.1302
	10.00	-28.50000	21.92535	0.958	-	50.6972
	20.00	-8.25000	18.98791	1.000	-76.8368	60.3368
	40.00	-7.50000	20.01501	1.000	-79.7968	64.7968
	60.00	2.16667	20.01501	1.000	-70.1302	74.4635
	100.00	10.50000	20.01501	1.000	-61.7968	82.7968
100.00	.00	-21.50000	20.01501	0.989	-93.7968	50.7968
	.50	-24.33333	17.90197	0.945	-88.9976	40.3309
	1.00	-33.66667	17.90197	0.722	-98.3309	30.9976
	2.50	-36.00000	17.90197	0.644	-	28.6643
	5.00	-23.66667	17.90197	0.954	-88.3309	40.9976
	10.00	-39.00000	20.01501	0.682	-	33.2968
	20.00	-18.75000	16.74576	0.985	-79.2379	41.7379
	40.00	-18.00000	17.90197	0.993	-82.6643	46.6643
	60.00	-8.33333	17.90197	1.000	-72.9976	56.3309
	80.00	-10.50000	20.01501	1.000	-82.7968	61.7968