

4



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ENSAYO DE GENOTOXICIDAD DE LOS
FUNGICIDAS CAPTÁN Y MANEB EN
CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DEL ÁPICE
DE RAÍZ DE HABA (*Vicia faba L.*)"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRICOLA
P R E S E N T A
TOMÁS BAUTISTA MELECIO

ASESOR:
ING. OSCAR HORACIO GUILLÉN AYALA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Ensayo de genotoxicidad de los fungicidas captán y maneb en
células meristemáticas del ápice de raíz de haba (Vicia faba L.)"

que presenta a pasante: Tomás Bautista Melcicó
con número de cuenta: 9460765-9 para obtener el título de :
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Julio de 2002

PRESIDENTE	<u>Biol. Elysa Martínez Holguín</u>	<u>[Firma]</u>
VOCAL	<u>M.C. Sandra Díaz Barriga Arceo</u>	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	<u>Ing. Oscar Horacio Guillén Avala</u>	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Ing. Angel Cipriano López Cortés</u>	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.C. Nieves Trujillo Tapia</u>	<u>[Firma]</u>

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A :

DIOS, POR SER EL CREADOR DE TODAS LAS COSAS.

A MIS PADRES, POR DARMELAVIDA.

A MIS HERMANOS Y HERMANAS, POR APOYARME DURANTE TODA MI ETAPA DE ESTUDIANTE.

A TODOS MIS AMIGOS, POR LO QUE APRENDI DE ELLOS Y POR TODAS LAS EXPERIENCIAS QUE PASAMOS JUNTOS.

A TODOS MIS MAESTROS, POR FORMARME COMO PROFESIONAL Y ENSEÑARME LO MARAVILLOSA QUE ES ESTA CARRERA.

A LA UNAM, POR SER LA ÚNICA Y MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS QUE DA LA OPORTUNIDAD DE ESTUDIAR UNA CARRERA, SIN IMPORTAR CLASE SOCIAL.

ÍNDICE

	Página
I. ÍNDICE DE CUADROS	i
II. ÍNDICE DE FIGURAS	ii
III. RESUMEN	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
1.2. Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Generalidades de los fungicidas.	4
2.2. Características del fungicida captán	5
2.3. Características del fungicida maneb	8
2.4. Efecto tóxico del fungicida captán en las plantas	10
2.4.1. Intervalo de seguridad en las aplicaciones de captán	10
2.4.2. Efecto tóxico del captán en las plantas	11
2.4.3. Residualidad del captán	13
2.5. Efecto tóxico del fungicida maneb en las plantas	13
2.5.1. Intervalo de seguridad en las aplicaciones de maneb	13
2.5.2. Efecto tóxico del maneb en las plantas	14
2.5.3. Residualidad del maneb	14
2.6. Ciclo celular y mitosis en células meristemáticas	15
2.6.1. Ciclo celular	15
2.6.2. Mitosis	17

2.7. Importancia de la evaluación genotóxica	21
2.8. Antecedentes e importancia de la prueba de micronúcleos (MN)	22
2.9. El haba (<i>Vicia faba L.</i>) como material biológico'	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Lugar de la investigación	27
3.2. Material biológico	27
3.3. Materiales y reactivos	27
3.4. Metodología	28
3.5. Diseño experimental	29
3.6. Análisis estadístico	30
3.7. Análisis citogenético	30
3.8. Criterios para seleccionar células micronucleadas	31
4. RESULTADOS	32
5. DISCUSIÓN	45
6. CONCLUSIONES	50
7. RECOMENDACIONES	51
8. BIBLIOGRAFÍA	52
9. ANEXOS	56

I. ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida captán.....	32
Cuadro 2 Frecuencia del índice mitótico inducida por el fungicida captán.....	33
Cuadro 3 Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos inducido por el fungicida captán.....	33
Cuadro 4 Análisis de varianza para el índice mitótico inducido por el fungicida captán.....	33
Cuadro 5 Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia de micronúcleos inducido por el fungicida captán.....	34
Cuadro 6 Prueba de Tukey-Kramer para el índice mitótico inducido por el fungicida captán.....	35
Cuadro 7 Frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb.....	36
Cuadro 8 Frecuencia del índice mitótico inducido por el fungicida maneb.....	36
Cuadro 9 Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb.....	37
Cuadro 10 Análisis de varianza para la frecuencia del índice mitótico inducida por el fungicida maneb.....	37

Cuadro 11 Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb.....	38
Cuadro 12 Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia del índice mitótico inducida por el fungicida maneb.....	49
Cuadro 13 Cultivos agrícolas en los que se aplica el captán en México.....	57
Cuadro 14 Nombres comerciales del captán para uso agrícola en México.....	59
Cuadro 15 Cultivos agrícolas e intervalo de seguridad en la aplicación de captán en México.....	60
Cuadro 16 Límite máximo residual del captán para diversos cultivos en México.....	61
Cuadro 17 Utilización del captán para tratamiento de semilla de cultivos en México.....	62
Cuadro 18 Cultivos agrícolas en los que se aplica el maneb en México.....	64
Cuadro 19 Nombres comerciales del maneb para uso agrícola en México.....	65
Cuadro 20 Cultivos agrícolas e intervalo de seguridad en la aplicación de maneb en México.....	66
Cuadro 21 Límite máximo residual del maneb para diversos cultivos en México.....	67

II. INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Estructura química del captán.....	5
Figura 2 Estructura química del maneb.....	9
Figura 3 Daños causados por captán en vid silvestre (<i>Vitis rotundifolia</i>).....	12
Figura 4 Ciclo celular en células vegetales.....	17
Figura 5 Mitosis en células vegetales.....	18
Figura 6 Promedio del número de micronúcleos inducido por captán en células meristemáticas de raíz de haba (<i>Vicia faba L.</i>).....	40
Figura 7 Promedio del índice mitótico inducido por captán en células meristemáticas de raíz de haba (<i>Vicia faba L.</i>).....	40
Figura 8 Promedio del número de micronúcleos inducido por maneb en células meristemáticas de raíz de haba (<i>Vicia faba L.</i>).....	41
Figura 9 Promedio del índice mitótico inducido por maneb en células meristemáticas de raíz de haba (<i>Vicia faba L.</i>).....	41
Figura 10 Células de haba (<i>Vicia faba L.</i>) con micronúcleos inducidos por captán y maneb.....	42
Figura 11 Célula de haba (<i>Vicia faba L.</i>) en profase.....	43
Figura 12 Célula de haba (<i>Vicia faba L.</i>) en metafase.....	43
Figura 13 Célula de haba (<i>Vicia faba L.</i>) en anafase.....	44
Figura 14 Célula de haba (<i>Vicia faba L.</i>) en telofase.....	44

III. RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó la prueba de micronúcleos (MN) utilizando como sistema biológico a células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*), para determinar la genotoxicidad de los fungicidas de contacto captán y maneb, a concentraciones de 2, 3, 4, 5 y 6 ppm, considerando como testigo agua destilada. Como parámetros citogenéticos que, a su vez son indicadores del daño al material genético celular se consideraron a la frecuencia de micronúcleos (MN) y al índice mitótico (IM).

El diseño experimental fue completamente al azar, con un total de 6 tratamientos y 5 repeticiones para cada uno de los fungicidas evaluados. Cada unidad experimental estuvo constituida por una laminilla que contenía a las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*)

El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada fungicida estudiado, y consistió básicamente en identificar al o los tratamientos que presentaron un mayor efecto genotóxico en las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*).

Los resultados obtenidos indican, que el captán a concentraciones de 2, 3 y 4 ppm no ocasionaron incrementos estadísticamente significativos de células micronucleadas en el meristemo apical de raíz de haba con respecto al testigo; mientras que el fungicida maneb tampoco presentó diferencia estadística a concentraciones de 2 y 3 ppm, comparando con el testigo. Sin embargo, la concentración de 4 ppm del fungicida maneb manifestó una diferencia altamente significativa, representando un alto daño genotóxico.

La inducción de células micronucleadas por las concentraciones de 5 y 6 ppm de ambos fungicidas presentaron una diferencia estadística en relación a sus respectivos

testigos, lo cual indica que existe una dependencia del efecto llamado concentración-respuesta.

Los resultados para índice mitótico (IM) indicaron que el captán en todas las concentraciones evaluadas no presentaron diferencias estadísticas significativas en comparación con su testigo; en cambio, las concentraciones de 4, 5 y 6 ppm del maneb, mostraron una diferencia estadística altamente significativa, en relación al testigo. Estos resultados sugieren que independientemente de la concentración usada, el captán no influye en el índice de división celular, pero en cambio, al usar altas concentraciones de maneb se afecta la división mitótica.

INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la agricultura el ser humano ha trabajado intensamente para producir las provisiones necesarias de alimentación; sin embargo, para lograr esto ha tenido que enfrentarse a factores adversos, entre ellos a las enfermedades fungosas que atacan a las plantas cultivadas, las cuales ocasionan una disminución en su rendimiento y por consiguiente una pérdida económica. Para combatir este tipo de enfermedades el hombre se ha valido de diversos métodos, siendo uno de ellos el uso de productos químicos, particularmente de los fungicidas.

Existen diversos tipos de fungicidas, un grupo muy importante son los de contacto, de los cuales el captán y el maneb son ampliamente usados en la agricultura, debido a su carácter preventivo y amplio espectro de acción. Este tipo de fungicidas se aplican de manera intensa y permanente a cultivos de cereales, hortalizas y frutales, controlando diversos organismos fungosos tanto en el suelo, como en la semilla y el follaje de las plantas.

Sin embargo, el uso inadecuado e irracional de los fungicidas ha ocasionado la contaminación del agua y suelo, así como severos daños a la flora y fauna según lo ha declarado la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1993). Por otra parte, existe la posibilidad de provocar un daño tóxico a las plantas cultivadas (17).

La fitotoxicidad o daño a la planta es un fenómeno de interacción y reacción adversa del vegetal huésped y el fungicida, que se manifiesta mediante una serie de síntomas visibles tales como necrosis, deformación, disminución del crecimiento, quemaduras y un bajo rendimiento. Estos síntomas son más evidentes cuando los fungicidas se aplican en grandes cantidades y/o continuamente (20).

Algunos estudios han demostrado que estos agroquímicos son responsables de aumentar el grado de toxicidad en diversos organismos, causando alteraciones citogenéticas como el caso de trabajadores agrícolas expuestos a dosis crónicas. En las plantas cultivadas, a los fungicidas se les han atribuido propiedades mutagénicas, como la inducción de cambios a nivel de estructura cromosómica en forma de deleciones y deficiencias que pueden dar origen a los micronúcleos por lo que se les considera agentes genotóxicos potenciales en vegetales como: cebolla, haba, tradescantia, tabaco, pimiento, manzano, durazno, chabacano y fríjol. (1, 20)

Se pueden prevenir los daños que ocasionan estos productos mediante la realización de estudios genotóxicos que permitan hacer una evaluación temprana de una posible toxicidad a nivel genético en la planta, manifestación que se detecta antes de que se presente a nivel fisiológico y morfológico en el vegetal ya establecido y evitar posibles pérdidas económicas.

Existen varias pruebas para identificar el potencial genotóxico de estos productos; sin embargo, hay escasos estudios realizados en células de organismos vegetales. Un ensayo muy útil para la detección de la actividad genotóxica de una sustancia química es la prueba de micronúcleos en células meristemáticas del ápice de raíz de haba (*Vicia faba L.*), la cual es considerada una prueba a corto plazo, sencilla y de alta sensibilidad. A la rapidez se le agregan las ventajas de economía y la de emplear grandes poblaciones celulares en los ensayos, lo cual permite obtener resultados con alto grado de confiabilidad (41).

Por lo anterior, la prueba seleccionada para el presente trabajo en células del meristemo apical de raíz de haba (*Vicia faba L.*) es la de micronúcleos (MN), que se utilizará en la observación del daño citogenético ocasionado por los fungicidas captán y maneb.

1.1. Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto genotóxico de los fungicidas captán y maneb por medio de la prueba de micronúcleos (MN)

Objetivos particulares

Determinar si los fungicidas captán y maneb tienen un efecto genotóxico en células meristemáticas del ápice de raíz de haba (*Vicia faba L.*)

Evaluar la proliferación celular del meristemo apical de la raíz de haba (*Vicia faba L.*) después de la exposición de éste a los fungicidas captán y maneb.

1.2. Hipótesis

Los fungicidas captán y maneb son productos químicos que actúan como agentes genotóxicos induciendo un aumento en la frecuencia de micronúcleos en células apicales de raíz de haba (*Vicia faba L.*)

2.- REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1.- Generalidades de los fungicidas.

Los fungicidas son productos químicos que se utilizan para combatir enfermedades producidas por hongos en las plantas cultivadas (6, 30). Por su forma de actuar, los fungicidas, pueden ser de contacto, sistémicos y penetrantes.

Los fungicidas penetrantes, tal como su nombre lo indica, penetran en los órganos vegetales tratados y, aunque no son sistémicos, tienen propiedades preventivas y curativas, protegen solamente los órganos tratados y tienen la ventaja de que no son lavados por las lluvias (6 ,28).

Los fungicidas de contacto actúan sobre las partes de la planta en las que se aplica, produciendo una capa que sirve de barrera ante la germinación de los esporangios y las zoosporas. Estos fungicidas se utilizan de forma preventiva impidiendo el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Tienen como desventaja principal que son lavados por las lluvias, siempre que éstas superen los 10 lts / m² , su acción se limita a los órganos tratados de la planta y, por consiguiente, las partes formadas después del tratamiento no son protegidos (29, 31).

Los fungicidas de contacto se dividen en dos grupos: cúpricos y orgánicos. Dentro de los compuestos de cobre se pueden encontrar hidróxidos, oxicluros, óxidos, silicatos, sulfatos básicos, cloruros y fosfatos. Los orgánicos incluyen a dos subgrupos muy importantes, las ftalamidas (folpet, captafol y captán,) y los ditiocarbamatos (maneb, zineb y mancozeb) (6, 8).

Los fungicidas sistémicos, una vez aplicados en los órganos vegetales penetran en el interior de los tejidos, a través de los estomas de las hojas, y son transportados por la savia, protegiendo de esta manera a toda la planta y a los brotes que se forman después de la aplicación. Son curativos y no son lavados por las lluvias (6, 10, 29).

Todos estos agroquímicos poseen una actividad de corta duración, de manera que después de un plazo se desactivan y transforman en productos inocuos para las plantas, el hombre y el medio ambiente (29).

Por lo general, en la agricultura los fungicidas se utilizan de forma curativa en los cultivos, lo cual equivale a un mayor número de aplicaciones y altas dosis con el consiguiente incremento en los costos de producción y contaminación del medio ambiente (19). En la actualidad se han desarrollado diferentes combinaciones de varios compuestos con el fin de dar un mayor espectro de acción y evitar el desarrollo de resistencia (10, 29).

2.2.- Características del fungicida captán.

El captán, Cis-N-(triclorometilto) ciclohex-4-eno-1,2-dicarboximida, y cuya fórmula química es $C_9H_8Cl_3NO_2S$ (Figura 1), pertenece al grupo de las stalamidas; fue presentado por primera vez en 1949 por la Standard Oil Development Co. y posteriormente por Chevron Chemical Company. El material puro está en forma de cristales blancos o polvo amarillo y es inodoro (6, 14).

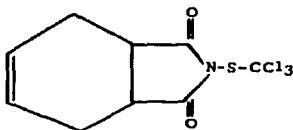


Figura 1 Estructura química del captán Fuente: (25)

Este fungicida, de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas, tiene una solubilidad en agua de 3.3 mg/l a una temperatura de 25 °C, también es soluble en solventes orgánicos como el cloroformo, acetona, benceno y etanol; es insoluble en aceites de petróleo. Tiene un punto de ebullición de 178°C. Es inestable en condiciones alcalinas y se descompone cerca del punto de ebullición (6, 10, 14).

El captán es un fungicida con actividad preventiva y curativa, de absorción por vía foliar y radicular; se trasloca a los tejidos tanto por tratamiento de semillas como al suelo y por vía foliar (10, 14, 29). La actividad fungicida del captán se debe fundamentalmente a la presencia del átomo de azufre que posee en su estructura química. La reacción principal que explica el mecanismo de acción, es la interacción del azufre con los grupos tiol presentes en sistemas enzimáticos (hexoquinasa y deshidrogenasa) y proteínas (coenzima A y cisteína) (10, 27).

Como consecuencia de esta reacción se produce tiofosgeno, que se considera como una sustancia tóxica para las células de los hongos fitopatógenos. Al interactuar el captán con la coenzima A interfiere en el mecanismo respiratorio, interrumpiendo el ciclo de Krebs y, por lo tanto, se inhibe la germinación de las esporas por falta de suministro de energía en forma de ATP. Esta acción tiene su repercusión en el metabolismo vegetal, cuando el captán entra en las células de las plantas; el efecto es una disminución de la tasa de respiración, originando una carencia de energía (ATP), afectando directamente a los procesos celulares (10, 27, 29).

En México, este fungicida se utiliza en muchos cultivos agrícolas como hortalizas, frutales y ornamentales, para combatir una gran variedad de enfermedades fungosas de importancia económica; se emplea también en la desinfección de suelos y en el tratamiento

de semillas en forma preventiva para el control de pudrición y marchitamiento de plántulas causada por hongos (Anexo, cuadro 13) (31, 55).

Este compuesto generalmente se encuentra en el mercado en varias presentaciones: polvo humectable con 50% de ingrediente activo (i.a); polvo para espolvoreo con 5%, y polvo para tratamiento de semillas con un 75%. Las formulaciones de polvo humectable al 50% se utilizan en pulverizaciones de alto volumen en frutales al 2.5%. En cultivos, las dosis de aplicación varían entre 1.5 a 3 kg/ha, tomando en cuenta el tipo de cultivo, estado de desarrollo y tipo de formulación empleada (6, 14, 55). Cuando se realizan espolvoreos las dosis deben ser de un 25% superiores a las realizadas en pulverizaciones (6).

En México al captán se le puede encontrar con diferentes nombres comerciales (Anexo, cuadro 14). Para el presente trabajo se utilizará el producto comercial captán 50 PH, con una concentración de 50% (equivalente a 500g de i.a/kg) en la presentación de polvo humectable.

Este fungicida presenta una baja toxicidad para mamíferos, por ejemplo la DL₅₀ oral para ratas es de 900 mg/kg (1,2,3,8). En pruebas para establecer su toxicidad crónica se ha experimentado en perros agregando a su ración diaria 300 mg de captán por Kg de peso, sin determinar efectos tóxicos en los mismos (1, 31).

Eventualmente la manipulación del polvo puede causar daño en los ojos e irritación en mucosas y piel en el ser humano. No se acumula en animales, ni es mutagénico, pero sí es muy tóxico a los peces y aves (1, 10). A pesar de lo anterior, recientes investigaciones han demostrado que en el ser humano el captán ocasiona daño a nivel genético, ya que es considerado teratogénico, alterando o destruyendo el material celular, bloqueando procesos enzimáticos, parcial o totalmente que afectan directamente al feto, es decir, es embriotóxico generando abortos espontáneos y en algunos casos malformaciones congénitas (17).

Oficialmente es considerado como cancerígeno por el gobierno del estado de California en E.U. El captán esta totalmente prohibido en países como Finlandia y Noruega, en Dinamarca existe una campaña para prohibirlo y en Costa Rica el fungicida tiene un uso restringido (10, 129).

El captán puede ser combinado con la mayoría de los fungicidas e insecticidas de uso común, a excepción de cal o caldo bordeles. De igual manera es incompatible con dinitros y polisulfuros (5, 6, 9, 29). Para proveer una mayor protección a plantas y semillas tratadas, este producto es formulado en mezclas con los fungicidas maneb, tirám, zineb, hexaclobenceno y sulfuros para tener una forma de acción sistémica y por contacto, reduciendo el riesgo de aparición de razas resistentes de hongos. También este fungicida puede ser formulado con insecticidas como los hectacloruros, lindano y diazinón (10, 14).

2.3. Características del fungicida maneb.

Entre los tipos de fungicidas, el grupo de los ditiocarbamatos es muy importante para el control de enfermedades fungosas. La mayoría son fungicidas foliares, otros se aplican al suelo y tratamiento de semillas. Los ditiocarbamatos presentes en el mercado son derivados del ácido ditiocarbámico, el cual fue sintetizado en 1920 por aceleración del sulfuro en la vulcanización del hule. Los fungicidas que pertenecen a este grupo y, sobresalen por su cobertura de uso y amplio espectro de acción en el control de enfermedades fungosas son el ferbam, zineb, mancozeb y maneb (10, 28)

El maneb es un fungicida foliar preventivo, de amplio espectro para controlar enfermedades fitopatógenas. Este fungicida ditiocarbamato, fue introducido en 1950 por la empresa E.I. Du Pont De Neumours and Co. que lo registró con la marca "Manzate" y por Rohm and Haas que patentó la marca "Dithane M-22" (10, 14).

Su nombre químico es: 1,2 etilendisitiocarbamato,2- de manganeso y su fórmula estructural sintetizada es $C_4 H_6 Mn N_2 S_4$ (Figura 2).

El producto presenta una pureza del 86 a 90%; en estado sólido es un polvo cristalino de color amarillo-parduzco y de olor débil (10, 14). En cuanto a su solubilidad, ésta difícilmente se presenta en ácidos, álcalis y disolventes orgánicos comunes; sin embargo, se disuelve en agentes quelantes (como la sal sódica de EDTA). Se desintegra a temperaturas superiores de 135 °C expuesto al aire y con humedad de 50%, en menos de 24 horas. Es inestable a la luz y a temperatura ambiente, por lo cual se recomienda almacenarlo en lugares secos y ventilados (6, 10).

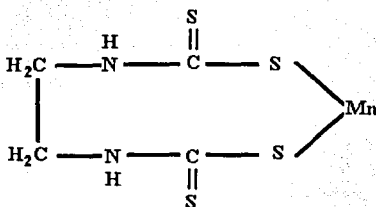


Figura. 2 Estructura química del maneb Fuente: (28)

El maneb manifiesta una toxicidad aguda en mamíferos; por ejemplo, según la EPA en ratas la DL50 oral es de 4, 400 mg/Kg, en conejo es de 2, 000 mg/Kg, causando irritación en la piel y, en el hombre, el contacto con el producto puede irritar la piel, ojos, nariz y garganta (1). A dosis muy altas es capaz de producir efectos congénitos, daño en la tiroides, tumores y defectos fisiológicos en animales de laboratorio. Es mutágeno, según se ha demostrado en algunos ensayos in vitro y altamente tóxico para peces de aguas cálidas a

una concentración de 800 g/l. (1, 6). En México este fungicida se utiliza ampliamente en cultivos de hortalizas, frutales y ornamentales para controlar diversas enfermedades foliares (Anexo, cuadro 18).

El mecanismo de acción del maneb no está totalmente definido por afectar a varios sitios celulares de los hongos. Un posible modo de acción es la interacción del disulfuro de carbono y el isotiocianato de etileno producidos por la descomposición oxidativa del maneb, con enzimas sulfhidrilicas provocando la inhibición de funciones celulares (10, 24).

El maneb en células vegetales se degrada en dos compuestos, el Etilentiouram monosulfuro (Etem) y la Etilentiourea (ETU), que han sido considerados como posibles metabolitos fungicidas; pero la etilentiourea por su mayor toxicidad, es motivo de estudio en los últimos años ya que es capaz de producir alteraciones y daños en los procesos celulares de los vegetales (24, 28).

Por su gran cobertura de uso este producto se le encuentra en México con otros nombres comerciales y en formulaciones de polvo humectable (PH) a diferentes concentraciones, principalmente (Anexo, cuadro 19). También es posible encontrarlo en mezclas con otros productos, pues se formula con: azufre, captán, carbendazima, clorotalonil, cobre, lindano, metalaxil, tiofanato-metil, tiram, tridemorf, y zineb. Por otra parte no es recomendable mezclarlo con permanganato potásico y líquidos emulsionables, pues se considera incompatible con estos productos (10, 14, 29).

2.4. Efecto tóxico del fungicida captán en las plantas.

2.4.1. Intervalo de seguridad en las aplicaciones de captán.

El intervalo de seguridad es el tiempo en días que va desde la última aplicación hasta la cosecha del cultivo para garantizar que no hay peligro de residuos dañinos a la salud humana.

En el caso del captán cuando la aplicación se hace al follaje de las plantas el intervalo de seguridad es de 7 días en algunos cultivos hortícolas como soya, chícharo, col y col de Bruselas (Anexo, cuadro 15). No existe un límite en el intervalo de seguridad para la mayoría de los cultivos frutales en lo que se refiere a las presentaciones de polvo humectable y suspensión acuosa (10, 29), sin embargo, algunos reportes señalan que no se aplique captán 15 días antes de la cosecha en cultivos como tomate, pimiento, haba, fresa, papa, cereales, rosal, clavel, crisantemo y frutales como manzana y pera (6). Otros trabajos indican, que en frutales y vid, el intervalo de seguridad debe ser de 15 y 21 días respectivamente.

En el caso del captán 50 PH que se utilizó en el presente trabajo, se reporta que no existen limitaciones entre la última aplicación y la cosecha en los cultivos recomendados (6).

2.4.2. Efecto tóxico del fungicida captán en las plantas.

Este fungicida es de gran cobertura para combatir muchas enfermedades fungosas en una amplia variedad de cultivos agrícolas. Se considera, en condiciones normales de aplicación, que el captán no tiene efectos fitotóxicos; sin embargo, puede afectar las células de las plantas cultivadas si alcanza a penetrar en ellas, produciendo células multinucleadas, muy alargadas debido a una mitosis incompleta (1, 6). El captán puede producir efectos fitotóxicos en ciertos cultivos, principalmente debido al empleo no autorizado del producto en determinadas variedades, ya que puede provocar quemaduras en órganos verdes a causa de la aplicación en días con altas temperaturas; por ejemplo, con base en estudios realizados no se recomienda aplicar el compuesto a manzanos en floración, en especial los cultivares "Red delicious" y "Wines"; de igual manera se prohíbe la aplicación a los cultivares de peral "Butirra D'anjuo" y "Bosc"; así como en cucurbitáceas y fresa para conserva. En vid

silvestre (*Vitis rotundifolia*), el captán causa agrietamientos y quemaduras en los frutos lo cual sucede cuando se aplica en días con alta humedad y temperatura. (Figura 3). De igual forma puede dañar las semillas de lechuga y, a altas dosis, las del apio y tomate (6, 29, 53).

Las aplicaciones al follaje del durazno y manzano pueden ocasionar daños severos, desarrollando síntomas fitotóxicos, tales como, manchas foliares seguidas de quemaduras y necrosis. El captán es compatible con la mayoría de los plaguicidas comunes, dando una mayor protección a plantas y semillas tratadas. Puede producir daños si se utiliza captán junto con una aspersión de aceite o inmediatamente antes o después de ella (6).

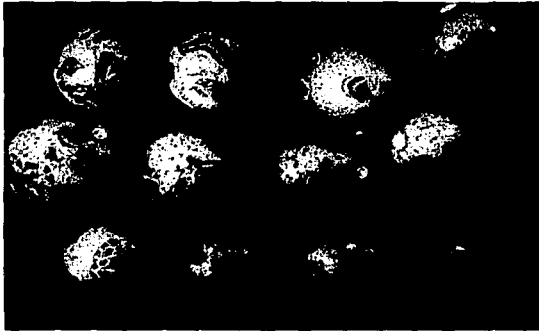


Figura. 3 Daños causados por captán en vid silvestre (*Vitis rotundifolia*) Fuente: (27)

En México no se recomienda la mezcla de captán con citrolina, ya que es fitotóxico para las hojas del aguacate provocando defoliación (4). En el caso particular del producto captán 50 PH, utilizado para el presente trabajo, si se usa en concentraciones superiores a las recomendadas puede ocasionar un manchado necrótico en las hojas tiernas de ciertas

variedades de frutales; para reducir el peligro de quemaduras foliares se recomienda usar el fungicida a dosis bajas evitando aspersiones de alto volumen (6, 29).

2.4.2. Residualidad del captán.

La residualidad de un fungicida está determinada por el Límite Máximo de Residuos (LMR), que se define como la concentración máxima de residuos de un plaguicida expresada en mg/kg o, en su caso, en ppm, permisible en productos alimenticios para consumo humano y animal recomendado por la Comisión del Codex Alimentarius (1994) (7).

En México, actualmente la ley Federal de Sanidad Vegetal contempla el concepto de LMR, el cual es convergente con el concepto publicado en el Codex Alimentarius (7); en los Estados Unidos, se tolera hasta 100 ppm de captán en frutos y hortalizas (1). La persistencia de este producto en frutales es de 12 a 14 días; sin embargo, se pueden reducir a 4 días con lluvia continua (6). El LMR establecido para diversos cultivos en México, se presenta en el anexo, cuadro 16.

2.5. Efecto tóxico del fungicida maneb en las plantas.

2.5.1. Intervalo de seguridad en las aplicaciones de maneb.

Para el maneb el tiempo que se considera óptimo para el consumo de los vegetales y no representar ningún peligro para la salud humana, esta en función de la persistencia y la degradación del producto en las plantas. El principal metabolito en los vegetales es la etilentiourea (ETU) (10, 25).

En el anexo, cuadro 20 se presenta el intervalo de seguridad para diversos cultivos en México, y se observa que es variable dependiendo del cultivo, a excepción de los ornamentales que no presentan por ser cultivos no comestibles (6, 55).

Las dosis de aplicación de maneb en cultivos en general va desde 1.5 hasta 3 kg/ha. En pulverizaciones de alto volumen para frutales se usan concentraciones de 2 a 2.5% expresados en formulaciones de polvo humectable con no menos de 60% de ingrediente activo (14, 55).

Se recomienda no aplicar si se esperan lluvias o heladas; de igual manera si el cultivo se encuentra debilitado a causa de sequía, daños físicos y químicos. También se sugiere no dar como alimento al ganado cuando las hojas de las plantas estén tratadas (10, 14).

2.5.2. Efecto tóxico del maneb en las plantas.

En lo referente a la fitotoxicidad de este fungicida, se tiene que cultivos como cerezo, ciclamen, crisantemo, espárrago, gloxinia, manzano variedad "Jonathan" y peral variedad "Blanca de Aranjuez", son sensibles a este compuesto pues provoca quemaduras foliares en forma de puntos (6, 25).

En caña de azúcar se observaron síntomas de clorosis, las cuales fueron provocadas por excesivas aplicaciones de maneb en tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) que fue el cultivo anterior a la caña de azúcar (29, 30).

En semilleros de tabaco, coliflor, pimiento, tomate y lechuga puede provocar anomalías en plántulas, tales como deformaciones e inhibición del crecimiento y germinación del polen cuando es aplicado en etapa de floración, por lo que, no es recomendable su aplicación (27).

2.5.3. Residualidad del maneb.

Como consecuencia del uso de este fungicida en una amplia gama de cultivos se tiene el problema de los residuos en los productos agrícolas que, al ingerirlos el hombre continuamente pueden provocar trastornos a su salud (1, 17).

A la porción de producto que queda en el vegetal después de cosechado se le denominan residuos y está determinada por el Límite Máximo Residual (LMR), se expresa en partes por millón (ppm) con respecto al peso de la muestra fresca (6).

En México, el límite máximo residual (LMR) de este fungicida establecido para diferentes cultivos agrícolas se puede observar en el anexo, cuadro 21.

El maneb como fungicida autorizado tiene un LMR determinado en función de sus características toxicológicas, prácticas agrícolas, número y momento de aplicaciones, condiciones climáticas, dosis empleada y tiempo transcurrido entre la última aplicación y la cosecha (10, 55).

Por ejemplo, en un estudio de residuos de maneb en tomates, se encontró 0.28 mg de etilentiourea por kilogramo de tomate con cuatro aplicaciones de maneb y después de 56 días de la última aplicación. Los niveles no son detectables después de los 101 días. Sin embargo, se determinó un incremento del 17.5% como resultado de la cocción (27, 29).

2.6. Ciclo celular y mitosis en células meristemáticas.

2.6.1. Ciclo celular.

El crecimiento y desarrollo de los organismos vivos depende del crecimiento y multiplicación de sus células, las cuales deben completar un ciclo celular (16).

El ciclo celular es un conjunto ordenado de eventos que culmina con el crecimiento de la célula y la división de ésta en dos células hijas (Figura. 4) (32).

Las etapas que comprenden dicho ciclo son la interfase y mitosis. A su vez la interfase se divide en los siguientes periodos o fases:

G1. Esta fase se caracteriza por la síntesis de RNA y proteínas. Comienza a partir del final de la división celular anterior, la célula hija resulta pequeña y posee un bajo contenido de

ATP resultante del gasto experimentado en el otro ciclo, por lo que en este período se produce la acumulación de ATP necesario y el incremento del tamaño celular (32,33).

Es el período que más variación de tiempo presenta en células vegetales, pudiendo requerir de 25 a 50% de tiempo interfásico (33).

Las células que no se dividen nuevamente pasan toda su vida en el período llamado G₀, ya que éstas, se retiran del ciclo celular (32).

S. Es la fase de síntesis o replicación del DNA y ocupa del 35 al 45% del tiempo que dura la interfase en células vegetales, comienza cuando la célula adquiere el tamaño suficiente y el ATP necesario; dado que el DNA lleva la información genética de la célula y antes de la mitosis deben generarse dos moléculas idénticas para ser repartidas entre las dos células hijas (12, 33).

G₂. Es el tiempo que transcurre entre la replicación del DNA y el inicio de la mitosis. Se caracteriza por un aumento en el volumen nuclear y tiene una duración promedio similar a la mitosis de 1 a 4 horas en células vegetales; durante este período se sintetizan las proteínas necesarias para la formación del huso acromático, parte de RNA que es esencial para la entrada de la célula en mitosis (12, 32).

Debido a que el proceso de síntesis consume una gran cantidad de energía la célula entra nuevamente en un proceso de crecimiento y adquisición de ATP. La energía reunida durante la fase G₂ se utiliza para el proceso de mitosis (33).

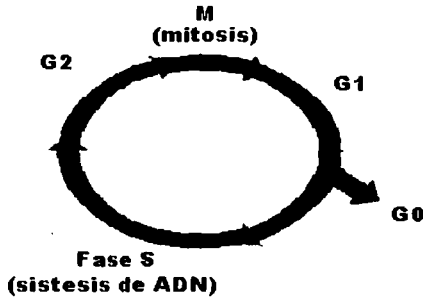


Figura.4. Ciclo celular en células vegetales (Fuente: 32)

El estado M representa "mitosis" y es cuando ocurre la división nuclear (los cromosomas se separan) y citoplasmática (citocinesis). En células vegetales este ciclo se puede completar en 16–24 horas, pero puede durar más debido a las extensiones de tiempo de la interfase, particularmente de los períodos G1 y G2. Todo el ciclo es sensible a la temperatura, la cual influye directamente en su duración; si la temperatura es mayor, el tiempo en que se lleva a cabo el ciclo sufre un decremento. Por ejemplo, en haba (*Vicia faba L.*) el ciclo celular a 19 °C dura 19,3 horas; en cambio en *Tradescantia (Tradescantia sp.)* a 21 °C el ciclo celular es de 17 horas, reduciéndose considerablemente (12, 32).

En el caso particular de haba (*Vicia faba L.*) el tiempo que dura su ciclo celular se reparte entre sus etapas de la siguiente manera: interfase 17,3 horas (correspondiendo a G1 4,9 horas, S 7,5 horas y G2 4,9 horas) y mitosis 3 horas (12).

2.6.2. Mitosis.

El crecimiento mediante la formación de nuevas células es característico de los organismos vivos, proceso que se conoce como división celular (12).

La división celular en las plantas superiores ocurre principalmente en las yemas de los tallos, en las puntas de las raíces y en el cambium, es decir, en los meristemos primarios y secundarios (16, 33).

La mitosis es el proceso de división celular en el cual a partir de una sola célula se producen dos células hijas idénticas, por replicación y división de la célula original (32). Este proceso es sólo la fase final y microscópicamente visible de cambios previos ocurridos a nivel molecular y bioquímico. Los componentes fundamentales de la célula particularmente los que están relacionados con la transmisión hereditaria, se duplican antes de que la célula se divida por mitosis. La figura 5 es un esquema general de las diferentes etapas de la mitosis en células vegetales, que son consideradas como fases de un ciclo que comienza al final del periodo de interfase. Las principales divisiones de este ciclo son: profase, metafase, anafase y telofase (12).

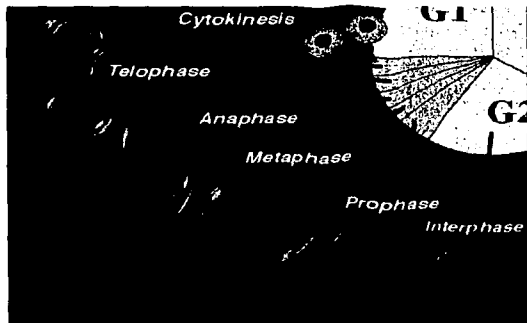


Figura 5. Mitosis en células vegetales (Fuente:33)

Profase. Es el primer estadio de la mitosis. La aparición de los cromosomas como filamentos delgados indica el comienzo de la profase; durante esta etapa, cada cromosoma está compuesto por dos filamentos enrollados, las cromátidas, resultantes de la duplicación

del DNA durante el periodo S. A medida que la profase avanza, las cromátidas se hacen más cortas y gruesas; los cromosomas están distribuidos homogéneamente en la cavidad nuclear, pero luego se aproximan a la membrana del núcleo, de modo que aparece un espacio vacío en el centro del mismo (12, 16).

Este movimiento centrífugo ocasiona que la membrana nuclear se disuelva, se forma el huso acromático. Al final de la profase cuando, desaparece la membrana del núcleo, el material contenido en el se libera en el citoplasma (32).

Metafase. En esta etapa los cromosomas alcanzan su máxima condensación y migran al ecuador de la célula en donde se alinean. Las fibras del huso invaden el área central y sus microtúbulos se extienden entre los polos. Mediante sus cinetocoros, los cromosomas se unen a algunas de las fibras del huso y sufren movimientos oscilatorios hasta que se ordenan en el plano ecuatorial. Esta organización ayuda a asegurar que en la próxima fase, cuando los cromosomas se separen, que cada nuevo núcleo reciba una copia de cada cromosoma (12, 33).

Anafase. La anafase comienza con la separación de los centrómeros y el arrastre de las cromátidas a los polos opuestos. Esta separación ocurre simultáneamente en todos los cromosomas y rompe el equilibrio de fuerzas característico de la metafase. Durante la anafase, los microtubulos de las fibras cromosómicas del huso se acortan de su longitud original (16). El movimiento es el resultado del desplazamiento del cinetocoro a lo largo de los microtubulos del huso y la interacción física de los microtubulos polares (33).

Telofase. El final de la migración polar de los cromosomas hijos señala el principio de la telofase. En esta etapa las cromátidas llegan a los polos opuestos de la célula, y nuevas membranas se forman alrededor de los núcleos hijos (32).

Los cromosomas se dispersan y pasan a formar la cromatina y el núcleo, que desapareció durante la profase. Las células hijas presentan movimientos activos que parecen separarlas por tracción. La alta viscosidad del citoplasma, característica de la metafase y anafase, disminuye durante la telofase (12, 16).

La citocinesis es el proceso de separación de las células formadas, en la cual ocurren la formación de la pared celular, la división y la relocalización de los organelos en cada nueva célula (33).

La duración de las fases de la mitosis varían considerablemente bajo diferentes condiciones ambientales y de organismo a organismo. El tiempo total para que se complete la mitosis puede variar desde 5 a 10 minutos hasta varias horas. Los valores promedio oscilan entre 30 minutos y 2 – 3 horas. De las fases de la mitosis, la profase es usualmente la más larga; la telofase es la que le sigue; luego la metafase, y finalmente la anafase que necesita el menor tiempo para su terminación (33, 34).

La mitosis en haba (*Vicia faba L.*), utilizado como material de estudios citológicos, tiene una duración total de tres horas bajo determinadas condiciones de cultivo como la temperatura propia de laboratorio y humedad ambiental. Los valores de tiempo a 26 °C para las distintas fases son los siguientes: profase 95 minutos, metafase 35 minutos, anafase 23 minutos y telofase 27 minutos (12).

En células vegetales una serie de vesículas dividen al citoplasma en la línea media, formando una placa celular que crece en forma centrífuga y se fusiona a la membrana de la célula madre dividiendo a la célula en dos (32).

Donde antes había una célula, ahora existen dos pequeñas con exactamente la misma información genética y número cromosómico. Estas células pueden luego diferenciarse durante el desarrollo vegetal (16).

2.7. Importancia de la evaluación genotóxica.

Entre las sustancias con efecto tóxico merecen ser destacadas aquellas que por su estructura son capaces de interactuar con los ácidos nucleicos, presentando una posible actividad mutagénica, carcinogénica y genotóxica. La toxicidad que afecta al material genético y que manifiesta una expresión retardada en el tiempo, se denomina genotoxicidad (34). Algunas sustancias genotóxicas son mutagénicas, es decir, son sustancias capaces de incrementar la tasa de mutación, algunas otras son carcinógenas capaces de incrementar las posibilidades de aparición de un tumor en animales y en el ser humano. Se ha demostrado experimentalmente que existe una correlación positiva entre agentes genotóxicos y carcinogénicos (53).

Muchas de estas sustancias pueden alcanzar el medio ambiente, fundamentalmente el terrestre, y producir efectos directos o indirectos sobre el hombre, los animales y las plantas, incluso a bajas concentraciones. Las plantas cultivadas, debido a la agricultura intensiva, están expuestas a un gran número de agroquímicos, de los cuales los fungicidas son utilizados ampliamente. Se ha encontrado que entre los impactos que pueden tener los fungicidas están la de estimular la producción de sustancias mutagénicas en el hombre, animales y vegetales, por lo que obliga a la adopción de estrictas medidas de control, siendo imprescindible la realización de pruebas de determinación de genotoxicidad de estos compuestos de uso frecuente, así como de sus mezclas complejas debidas a la actividad del hombre y que están presentes en el medio ambiente (22, 21, 48).

Se han desarrollado más de 200 pruebas para evaluar y detectar la genotoxicidad de agentes contaminantes (21). Entre las pruebas más utilizadas destacan: aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos y ensayo cometa (34). Son también numerosos los organismos que se emplean como elementos de investigación

para determinar el potencial genotóxico de una sustancia química o muestra ambiental, entre los que cabe citar a peces, anfibios, ratones y plantas (34). En este tipo de estudios se ha demostrado que utilizando, como bioindicadores a los vegetales, se encuentra en ellos un excelente método para la detección de agentes genotóxicos; entre las plantas que más se utilizan está la cebolla (*Allium cepa L.*), tradescantia (*Tradescantia spp.*) y haba (*Vicia faba L.*), en las cuales se han evaluado parámetros citogenéticos como el índice mitótico, aberraciones cromosómicas, aneuploidía, c- mitosis y frecuencia de micronúcleos. Este tipo de plantas han demostrado ser un medio muy valioso para determinar el potencial genotóxico de un compuesto químico, debido a que son muy sensitivas a la presencia de éstos. Además, estos ensayos son sencillos, fáciles de realizar, baratos, poseen alto grado de confiabilidad, son a corto plazo y recomendables para un constante monitoreo ambiental in situ o en laboratorio (18, 21,47).

Aunque son muchas las pruebas que se han realizado para determinar el nivel de genotoxicidad de los compuestos químicos, es mínima la investigación que se ha hecho con fungicidas para determinar el daño posible en plantas cultivadas (34, 40). La gran variedad de pruebas de determinación de la genotoxicidad indica la importancia que se le está dando actualmente a las sustancias genotóxicas (3, 40)

2.8. Antecedentes e importancia de la prueba de micronúcleos

Los diferentes tipos de sustancias que forman parte de los agroquímicos y a los que una planta está expuesta, es una cuestión de interés general (24), pues estos pueden ocasionar un daño al DNA, lo cual afectaría a la progenie de las células vegetales.

Para la detección de compuestos genotóxicos existen diversas pruebas in vitro e in vivo, y entre éstas se tiene a la prueba de micronúcleos (MN).

Los micronúcleos son corpúsculos intracitoplasmáticos de cromatina separados del núcleo principal. Estudios realizados sobre este tema sugieren que los MN se forman a partir de la ruptura de fragmentos cromosómicos acéntricos o bien por cromosomas que sufren un rezago anafásico (24, 36, 51).

El primero en identificar a los micronúcleos fue Howell en 1891 en eritrocitos humanos (41), su asociación con el daño cromosómico fue estudiado en trabajos del campo de la radiación en donde se menciona su frecuencia. El primer intento formal de uso de la frecuencia de MN como monitor de daño citogenético fue reportado por Evans y colaboradores en 1959; sin embargo, entre los años de 1956 y 1970, es cuando Schroeder recomendó el uso de médula ósea para detectar el daño in vivo de mutágenos químicos, demostrando la presencia de MN en células de la médula citada, relacionándolo con un daño citogenético (24).

De la misma manera, otros investigadores utilizaron esta prueba en estudios citogenéticos tanto en el ser humano, como en animales (56). El aumento de ensayos con micronúcleos desde 1973, indudablemente sirvió para detectar las ventajas de esta prueba como la de poseer un gran poder de resolución, eficaz, confiable, económica, rápida, simple y de gran sensibilidad a la presencia de mutágenos (23, 24, 51). Se ha detectado también la importancia del conteo de MN, ya que es considerablemente más rápido que el conteo de aberraciones cromosómicas (24). La inducción de MN utilizando cebolla (*Allium cepa* L.) y haba (*Vicia faba* L.) se efectúa desde 1930 y en 1976 se implementó esta técnica utilizando a la planta *Tradescantia* spp. Con esta prueba se ha podido evaluar la genotoxicidad de diversos insecticidas y herbicidas (54), pero no se tienen antecedentes de ensayos o pruebas de MN con fungicidas.

La prueba de MN permite determinar y evaluar el efecto genotóxico y mutagénico en células humanas (linfocitos), bacterias, células animales (ratones principalmente utilizando eritrocitos policromáticos) e insectos como la mosca de la fruta (*Drosophylla melanogaster*) (57).

La medición de la frecuencia de MN en células vegetales ha comenzado a establecerse como una prueba rutinaria para detectar el daño citogenético con ensayos realizados in vitro (24) y se han aplicado a células vegetales en exposiciones a diferentes concentraciones de agroquímicos.

Se han empleado células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*), cebolla (*Allium cepa L.*), polen e inflorescencia de tradescantia (*Tradescantia spp.*), maíz (*Zea mays L.*) y cebada (*Hordeum vulgare L.*) (9, 18, 23, 42).

La prueba de MN en células meristemáticas de raíz de haba es una prueba clásica para evaluar un daño citogenético en células tratadas con un producto químico; esta técnica proporciona una rápida comparación, así como la medición de aberraciones cromosómicas y pérdida de segmentos cromosómicos que llevan a la formación de MN (24).

La técnica consiste en obtener células del meristemo apical de raíz de haba, y exponerlas por un determinado tiempo con los productos químicos a evaluar, para posteriormente cortar los ápices, tratarlos con alguna solución fijadora y teñirlos para la observación al microscopio y cuantificar el número de micronúcleos y fases mitóticas (5).

La International Programme Chemical Safety (IPCS), tiene un programa para el monitoreo ambiental dentro del cual se ha establecido el International Programe Plant Bioassays (IPPB) creado para el monitoreo y observación de agentes genotóxicos en un ambiente contaminado en aire, agua y suelo, utilizando la prueba de MN en células de haba (5).

La República Popular de China desde 1980 a establecido la prueba de MN como bioensayo oficial de genotóxicidad, para el monitoreo de aire, agua y suelo contaminado (36, 42, 44).

La técnica de micrónúcleos en células meristemáticas de raíz de haba como sistema biológico de detección, es de gran utilidad para mostrar y medir el potencial genotóxico de muchas sustancias químicas en el ambiente y es considerada para ser usada en diversos lugares con diferentes climas, tipos de agua y suelo contaminado, esto en condiciones de laboratorio o in situ. La prueba de MN es también recomendable para determinar la genotóxicidad potencial de gases, líquidos ambientales y radiaciones como, rayos uv, rayos x y neutrones (41, 45, 57). Asimismo, se ha confirmado que la prueba de MN sirve para evaluar la actividad mutagénica de iones de metales pesados (zinc, cadmio, níquel, vanadio y cobre) presentes en agua y suelo (38, 45).

2.9. El haba (*Vicia faba L.*) como material biológico.

El haba (*Vicia faba L.*) es un sistema vegetal muy útil para la detección de la actividad genotóxica de los contaminantes ambientales. Como sistema biológico de ensayo ha sido adoptado en países como China y Estados Unidos, este último a través de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para evaluar mutágenos que se encuentran en el medio ambiente (47, 51).

Más de la tercera parte de los estudios con plantas para el análisis de daño cromosómico utiliza el haba como biomonitor citogenético para evaluar químicos considerados como mutágenos potenciales. Para evaluar el daño genotóxico se utilizan comúnmente las células meristemáticas del ápice de su raíz por ofrecer ventajas como: sus células están en constante división, posee un ciclo celular corto que dura aproximadamente 19.3 horas, representa un fácil manejo y rapidez en la obtención de resultados. Por otra

parte, se ha demostrado que este tipo de células es la fuente de material somático para el estudio de la conducta de los cromosomas mitóticos, aspecto muy importante para la detección de los posibles daños causados por sustancias químicas (12, 19, 23).

Los meristemas de su raíz contienen células en diversas etapas de la mitosis, principalmente en metafase que es la más utilizada en el estudio citogenético. Este vegetal cuenta con pocos cromosomas 6 pares ($2n=12$), son grandes, lo cual, lo convierten en un material excelente para la observación de las aberraciones que producen los agentes tóxicos. A todas estas ventajas se le agregan las de economía pues es un sistema barato que no requiere equipo sofisticado y es a corto plazo, lo cual es muy importante para la prevención a tiempo de los posibles daños genotóxicos (12, 16, 23).

Como biomonitor ambiental, el haba tiene, una cualidad bioquímica muy importante; posee una fracción metabólica S10 que es capaz de convertir compuestos químicos promutágenos en mutágenos, aspecto relevante, ya que muchos agentes químicos no son mutágenos por sí mismos y requieren de este tipo de metabolismo vegetal para activarse y provocar daños en el DNA (12).

3. MATERIALES Y METODOS.

3.1. Lugar de la investigación.

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica, Fisiología y Genética Vegetal de la carrera de Ingeniería Agrícola, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

3.2. Material biológico.

El material vegetal que se utilizó como sistema biológico de prueba se obtuvo de ápices de raíz de haba (*Vicia faba L.*) los cuales se cultivaron en condiciones de laboratorio.

3.3. Materiales y reactivos.

Los fungicidas utilizados fueron: captán PH 50, en presentación de polvo humectable, con una concentración del 50%, equivalente a 500 gramos de ingrediente activo por kilogramo de producto, y maneb PH 80 en presentación de polvo humectable, con una concentración del 80%, equivalente a 800 gramos de ingrediente activo por kilogramo de producto.

- Vermiculita como sustrato para la germinación de las semillas.
- Vasos de precipitado con capacidad de 100, 500, y 1000 ml.
- Pipetas graduadas de 0.5, 1 y 5 ml.
- Navaja esterilizada.
- Tubos de ensayo de 10 ml.
- Cajas de petri.
- Vidrios de reloj.
- Agujas de disección.
- Estufa.
- Porta , cubre objetos y papel secante.

- Microscopio óptico.
- Agua destilada.
- Cloro.
- Tween 20.
- Solución de etanol-ácido acético (proporción 3:1).
- Etanol al 70%.
- Solución tampón- citrato, pH= 4.2
- Enzima pectinasa al 0.5%
- Acido clorhídrico 5N.
- Colorante aceto-orceína.

3.4. Metodología.

3.4.1. Una vez adquirida la semilla de haba se seleccionaron cuidadosamente aquellas que no presentaran daños visibles y reunieran características de tamaño y textura homogénea. Posteriormente se desinfectaron colocándolas en 400 ml de agua destilada con 46 ml de cloro y 7 gotas de tween 20, durante 20 minutos.

3.4.2. Las semillas desinfectadas se sumergieron durante 24 horas en los tratamientos, que consistieron en una solución de 2, 3, 4, 5 y 6 partes por millón (ppm) de ingrediente activo para captán y por separado; la misma operación se repitió para maneb. Se utilizó agua destilada como testigo para ambos fungicidas. Esto se realizó con la finalidad de que la semilla imbibiera la mayor cantidad posible de solución y se agilizará la germinación de las mismas.

3.4.3. Las semillas se sembraron en cajas de petri utilizando como sustrato vermiculita la cual presenta características agronómicas de buena aireación, retención y disponibilidad de

humedad para las semillas, a si como, baja densidad con un pH cercano al neutro. Además presenta una estructura ideal para la germinación, lo que permite uniformidad en la misma.

3.4.4. Las semillas se mantuvieron bajo condiciones constantes de temperatura y humedad ambiental hasta que las raíces alcanzaron una longitud de 2 a 3 centímetros, realizando inmediatamente el corte de los ápices a una longitud aproximada de 3mm.

3.4.5. Los ápices se transfirieron a una solución de etanol- ácido acético en proporción de 3:1 durante 24 horas, con la finalidad de lograr su fijación.

3.4.6. Los ápices fijados, se sumergieron en una solución de etanol al 70% durante 15 minutos.

3.4.7. Posteriormente, en un vidrio de reloj los ápices se lavaron en una solución tampón citrato de pH= 4.2

3.4.8. El paso siguiente fue la incubación de los ápices en la enzima pectinasa al 0.5% en estufa a 37 °C, durante una hora.

3.4.9. Terminada la incubación, los ápices se hidrolizaron con ácido clorhídrico 5N a temperatura ambiente durante 20 minutos.

3.4.10. Se procedió a la realización de las preparaciones para cada uno de los tratamientos.

3.4.11. Se seleccionaron las mejores preparaciones tomando como parámetros su visibilidad, tinción y separación de células, para su montaje definitivo con resina.

3.5. Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un total de 6 tratamientos y 5 repeticiones, dando un total de 30 unidades experimentales para cada uno de los fungicidas evaluados. Cada unidad experimental estuvo constituida por una laminilla que contenía las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*). Los tratamientos con captán y maneb fueron concentraciones de 2, 3, 4, 5 y 6 partes por millón (ppm) de

ingrediente activo, considerando como testigo agua destilada. Los parámetros a evaluar fueron la frecuencia de micronúcleos (MN) y el índice mitótico (IM).

3.6. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada fungicida estudiado en el presente trabajo.

Se utilizó el programa estadístico INSTAT2 versión 2.03 de Aceves (1990-1993). Para evaluar la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico se realizó como primer paso un análisis de varianza con la finalidad de determinar la significancia entre los tratamientos de cada fungicida y a continuación se compararon las concentraciones de estudio por medio de la prueba de significancia de Tukey- Kramer.

Se adoptó un nivel de probabilidad de error de 0.05 y 0.01, con la finalidad de establecer niveles significativos de confiabilidad tanto en el análisis de varianza como en la prueba de Tukey-Kramer.

3.7. Análisis citogenético.

Para la determinación de la frecuencia de micronúcleos (MN) en los tratamientos evaluados de 2, 3, 4, 5 y 6 partes por millón de ingrediente activo (i.a.) de captán y maneb, por separado, considerando como testigo agua destilada, se procedió al análisis en cada una de las 5 repeticiones. Por cada repetición se contaron 1,000 células, resultando un total de 5,000 células por tratamiento y indiccando el número de células que presentan micronúcleos.

Para la determinación del índice mitótico (IM) en los tratamientos utilizados para cada fungicida de 2, 3, 4, 5, 6 ppm de ingrediente activo y el testigo, se observó cuántas células se encontraban en alguna fase mitótica, determinadas en 5 repeticiones de 1,000 células cada una, obteniendo un total de 5,000 células por tratamiento.

3.8. Criterios para seleccionar células micronucleadas.

Los criterios de selección que se consideraron fueron los siguientes:

1. Que las preparaciones presentaran una buena tinción.
2. Los micronúcleos debían distinguirse como corpúsculos circulares bien definidos, con una coloración roja característica.
3. Los micronúcleos no deberían exceder de $1/3$ del diámetro del núcleo principal y que estuvieran localizados dentro de la pared celular y en el área del citoplasma circundante al núcleo principal.
4. Las células con corpúsculos fusionados con el núcleo principal deberían excluirse, pues éstos pueden ser el resultado de extrusiones nucleares o de procesos degenerativos.
5. Los micronúcleos no debían mostrar refractibilidad, es decir, que al momento de mover el micrométrico del microscopio el objeto no debía desaparecer o pasar a otro plano, ya que si esto se presentaba entonces se excluía como micronúcleo.

4. RESULTADOS.

La frecuencia de micronúcleos (MN) de cada uno de los tratamientos evaluados con el fungicida captán se presentan en el cuadro 1 y la figura 6. En el cuadro se observa que la concentración de 6 ppm ocasionó un mayor número de MN, seguida de la concentración de 5 ppm, con respecto al testigo. Por otra parte, la concentración de 2 ppm fue la que mostró la menor frecuencia de MN. En la figura 6 se aprecia que la frecuencia de micronúcleos va en aumento con la concentración del fungicida para todos los tratamientos evaluados, mostrando una correlación directa.

Cuadro 1. Frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida captán.

Concentración (ppm)	REPETICIONES					\bar{X}	Desviación Estándar
	I	II	III	IV	V		
2	1	2	10	10	14	7.4	5.6
3	6	10	10	10	11	9.4	1.9
4	5	5	8	14	18	10.0	5.7
5	4	11	10	10	22	11.4	6.5
6	6	10	21	10	14	12.2	5.6
Testigo	1	2	0	0	0	0.60	0.89

En lo referente al índice mitótico (IM), los resultados se presentan en el cuadro 2 y figura 7, se puede observar que, las concentraciones de 6 ppm y 2 ppm presentaron los índices mitóticos más altos, seguidos de la concentración de 4 ppm. El IM con valor más bajo se presentó con la concentraciones de 5 ppm y 3 ppm, junto con el testigo. Estos resultados muestran que el IM no disminuye al aumentar gradualmente la concentración de captán, ya que presenta un efecto irregular.

Cuadro 2. Frecuencia del índice mitótico inducido por el fungicida captán.

Concentración (ppm)	REPETICIONES					\bar{X}	Desviación Estándar
	I	II	III	IV	V		
2	59	300	29	200	23	122.2	122.66
3	42	45	50	100	16	50.6	30.591
4	49	60	115	122	202	109.6	60.937
5	51	23	23	50	24	34.2	14.890
6	112	123	183	150	79	129.4	39.310
Testigo	27	33	22	50	30	32.4	10.644

El Análisis de varianza (ANAVA) realizado con el objetivo de determinar el grado de significancia entre los tratamientos evaluados, presentó una diferencia significativa para los parámetros de frecuencia de micronúcleos (MN) e índice mitótico (IM) (Cuadros 3 y 4).

Cuadro 3. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos inducido por el fungicida captán.

Factor de variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrados medios (CM)
Tratamientos	5	443.9	88.78
Error	24	579.6	24.15
Total	29	1023.5	

$$F_c = 3.676$$

Cuadro 4. Análisis de varianza para el índice mitótico inducido por el fungicida captán.

Factor de variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrados medios (CM)
Tratamientos	5	51 623	10 325
Error	24	86 304	3 596
Total	29	137 928	

$$F_c = 2.871$$

La prueba de Tukey – Kramer efectuada para conocer la diferencia estadística entre tratamientos en ambos parámetros mostró que, para la prueba de MN, existe diferencia significativa entre el testigo y las concentraciones de 5 y 6 ppm; mientras que para los tratamientos restantes no se dió ninguna diferencia estadística. Por otra parte, se obtuvo que para el IM no existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (Cuadros 5 y 6).

Cuadro 5. Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida captán.

Comparación	Significancia
2 ppm vs 3 ppm	ns $P > 0.05$
2 ppm vs 4 ppm	ns $P > 0.05$
2 ppm vs 5 ppm	ns $P > 0.05$
2 ppm vs 6 ppm	ns $P > 0.05$
2 ppm vs TESTIGO	ns $P > 0.05$
3 ppm vs 4 ppm	ns $P > 0.05$
3 ppm vs 5 ppm	ns $P > 0.05$
3 ppm vs 6 ppm	ns $P > 0.05$
3 ppm vs TESTIGO	ns $P > 0.05$
4 ppm vs 5 ppm	ns $P > 0.05$
4 ppm vs 6 ppm	ns $P > 0.05$
4 ppm vs TESTIGO	ns $P > 0.05$
5 ppm vs 6ppm	ns $P > 0.05$
5 ppm vs TESTIGO	* $P < 0.05$
6 ppm vs TESTIGO	* $P < 0.05$

Cuadro 6. Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia del índice mitótico inducido por el fungicida captán.

Comparación	Significancia
2 ppm vs 3 ppm	ns P > 0 .05
2 ppm vs 4 ppm	ns P > 0 .05
2 ppm vs 5 ppm	ns P > 0 .05
2 ppm vs 6 ppm	ns P > 0 .05
2 ppm vs TESTIGO	ns P > 0 .05
3 ppm vs 4 ppm	ns P > 0 .05
3 ppm vs 5 ppm	ns P > 0 .05
3 ppm vs 6 ppm	ns P > 0 .05
3 ppm vs TESTIGO	ns P > 0 .05
4 ppm vs 5 ppm	ns P > 0 .05
4 ppm vs 6 ppm	ns P > 0 .05
4 ppm vs TESTIGO	ns P > 0 .05
5 ppm vs 6 ppm	ns P > 0 .05
5 ppm vs TESTIGO	ns P > 0 .05
6 ppm vs TESTIGO	ns P > 0 .05

En el cuadro 7 y la figura 8 se observan los resultados para la frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb, en los cuales se aprecia que las concentraciones de 4, 5 y 6 ppm aumentaron significativamente la frecuencia de micronúcleos en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*). La concentración de 2 ppm fue la que produjo un menor efecto sobre el número de MN, al presentar el valor más bajo. La frecuencia de MN se altera al aumentar la concentración del fungicida presentando un efecto de concentración - respuesta.

Cuadro 7. Frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb.

Concentración (ppm)	REPETICIONES					\bar{X}	Desviación Estándar
	HI	II	III	IV	V		
2	3	2	3	0	4	2.4	1.517
3	4	2	4	6	5	4.2	1.483
4	2	10	11	8	13	8.8	4.207
5	5	3	6	8	13	7	3.808
6	10	14	12	3	8	9.4	4.219
Testigo	1	0	1	0	0	0.40	0.547

Para el índice mitótico los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 8 y la figura 9, se puede observar que para los tratamientos de 2 y 3 ppm corresponde el IM más alto, con respecto al tratamiento de 6 ppm que fue el que ocasionó un IM muy bajo. Por otra parte, en el testigo el IM es significativamente mayor en relación al valor obtenido por los tratamientos evaluados. El índice mitótico disminuye al aumentar la concentración del fungicida maneb, tal como se puede ver en el cuadro y la figura antes mencionados.

Cuadro 8. Frecuencia del índice mitótico inducido por el fungicida maneb.

Concentración (ppm)	REPETICIONES					\bar{X}	Desviación Estándar
	I	II	III	IV	V		
2	22	49	33	14	41	31.8	14.096
3	10	30	42	41	14	27.4	14.893
4	10	43	6	30	4	18.6	17.111
5	22	21	3	8	17	14.2	8.349
6	18	11	13	11	13	13.2	2.864
Testigo	44	58	39	64	38	48.6	11.739

Los resultados del análisis de varianza (ANAVA), muestran que existe un efecto significativo de los tratamientos sobre la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico, tal como se presenta en los siguientes cuadros.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos inducida por el fungicida maneb.

Factor de variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrados medios (CM)
Tratamientos	5	327.77	65.553
Error	24	219.20	9.133
Total	29	546.97	

$$F_c = 7.177$$

Cuadro 10. Análisis de varianza para la frecuencia del índice mitótico inducida por el fungicida maneb.

Factor de variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrados medios (CM)
Tratamientos	5	4517	903.39
Error	24	3716	154.83
Total	29	8233	

$$F_c = 5.835$$

La prueba de comparación múltiple entre tratamientos de Tukey-Kramer dio como resultado que para la frecuencia de MN existe una diferencia significativa entre el tratamiento de 2 ppm con respecto a los tratamientos de 4 y 6 ppm. De la misma forma se observa esta diferencia entre el tratamiento de 5 ppm y el testigo. Por otra parte, existe una diferencia altamente significativa de los tratamientos 4 y 6 ppm con respecto al testigo como se puede ver en el siguiente cuadro.

Cuadro 11. Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia de micronúcleos inducido por el fungicida maneb.

Comparación	Significancia
2 ppm vs 3 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs 4 ppm	* P < 0.05
2 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs 6 ppm	* P < 0.05
2 ppm vs TESTIGO	ns P > 0.05
3 ppm vs 4 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs TESTIGO	ns P > 0.05
4 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
4 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
4 ppm vs TESTIGO	** P < 0.01
5 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
5 ppm vs TESTIGO	* P < 0.05
6 ppm vs TESTIGO	** P < 0.01

Para el índice mitótico los resultados de la prueba de Tukey-Kramer se presentan en el cuadro 12. Existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos de 4,5 y 6 ppm con respecto al testigo; mientras que para los tratamientos restantes no presentaron diferencia significativa alguna.

Cuadro 12. Prueba de Tukey-Kramer para la frecuencia del índice mitótico inducido por fungicida maneb.

Comparación	Significancia
2 ppm vs 3 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs 4 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
2 ppm vs TESTIGO	ns P > 0.05
3 ppm vs 4 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
3 ppm vs TESTIGO	ns P > 0.05
4 ppm vs 5 ppm	ns P > 0.05
4 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
4 ppm vs TESTIGO	** P < 0.01
5 ppm vs 6 ppm	ns P > 0.05
5 ppm vs TESTIGO	** P < 0.01
6 ppm vs TESTIGO	** P < 0.01

Para el parámetro citogenético frecuencia de micronúcleos, la figura 10 muestra la presencia de células micronucleadas del ápice de raíz de haba, inducidas por los fungicidas captán y maneb. De manera similar para el índice mitótico, en las figuras 11, 12, 13 y 14 se aprecian células meristemáticas de raíz de haba que presentan alguna fase de la mitosis, para los dos fungicidas utilizados en el presente trabajo.

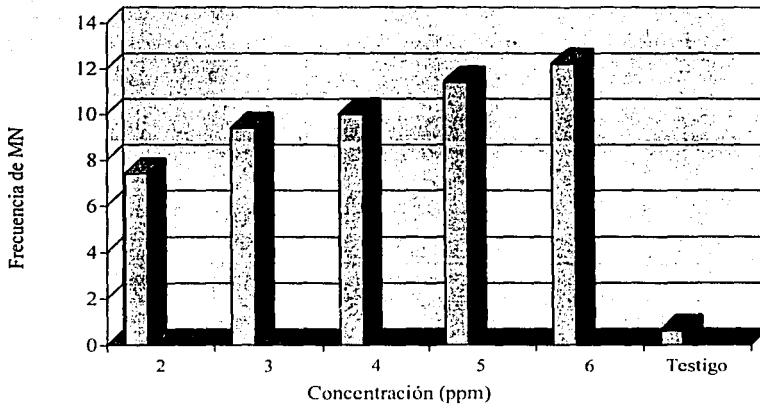


Figura. 6. Promedio del número de micronúcleos inducido por captán en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*).

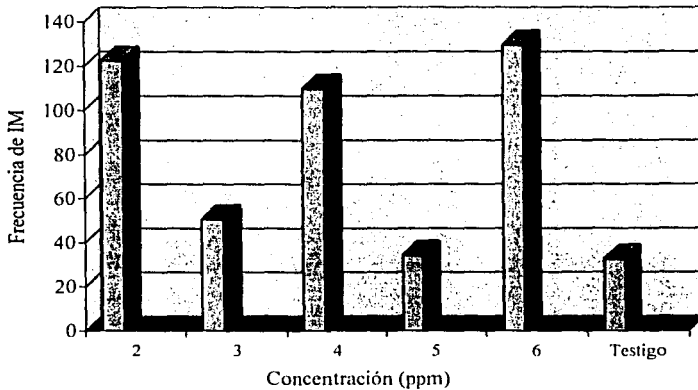


Figura. 7. Promedio del índice mitótico inducido por captán en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*).

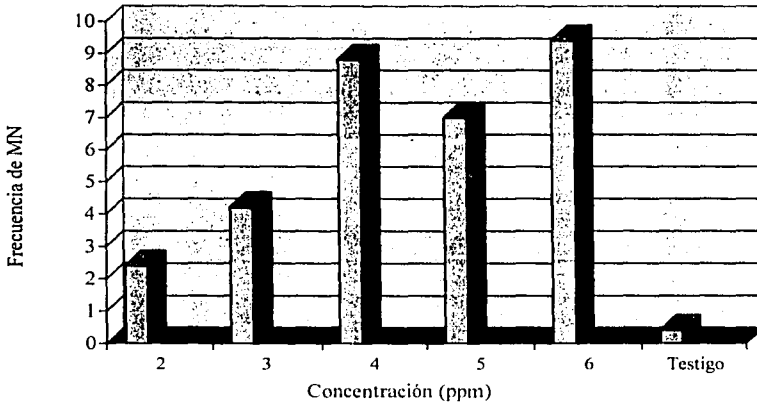


Figura.8 Promedio del número de micronúcleos inducido por maneb en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*).

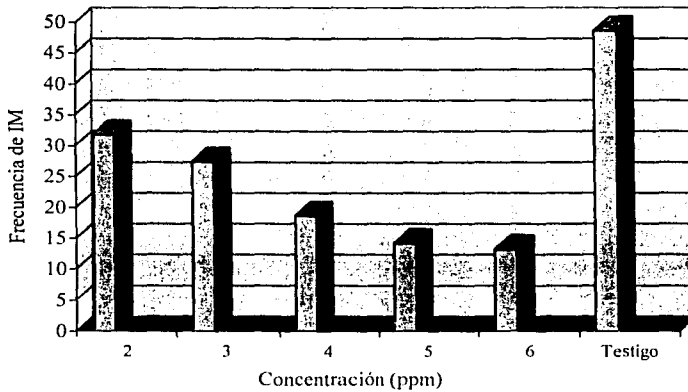
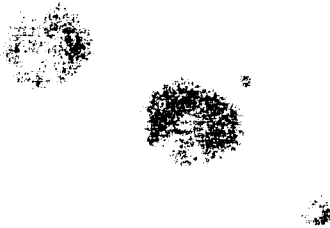
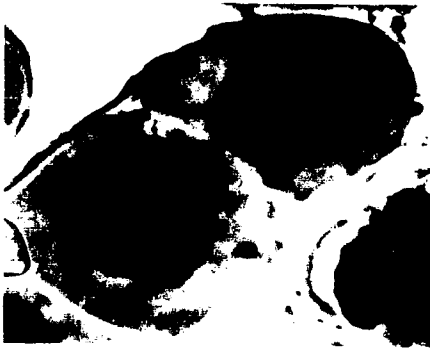


Figura 9. Promedio del índice mitótico inducido por maneb en células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*).

Figura 10. Células de haba (*Vicia faba* L) con micronúcleos inducidos por captán y maneb



Micronúcleo inducido por el fungicida captán



Micronúcleo inducido por el fungicida maneb

**TESIS CON
FALSA DE ORIGEN**

Figura 11. Célula de haba (*Vicia faba L.*) en profase

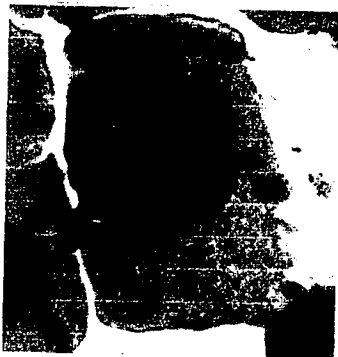


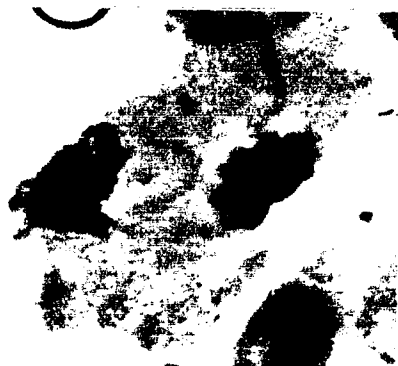
Figura 12. Célula de haba (*Vicia faba L.*) en metafase



Figura 13. Célula de haba (*Vicia faba L.*) en anafase



Figura 14. Célula de haba (*Vicia faba L.*) en telofase



5. DISCUSIÓN

Los estudios efectuados para identificar el potencial genotóxico de los agroquímicos y poder reducir el peligro de un daño al material genético se enfocan a demostrar que la mayoría de estos productos químicos tienen la capacidad de producir cambios a nivel de la estructura cromosómica, como son las deleciones o deficiencias que pueden dar origen al desarrollo de los micronúcleos en células de plantas, tal como puede suceder con los fungicidas; por tal motivo surge el interés de estudiarlos y determinar las concentraciones que potencialmente pueden ocasionar un daño al material genético de los vegetales.

En el presente trabajo de investigación, los resultados obtenidos están apoyados en la prueba de micronúcleos (MN), usando como sistema biológico células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba L.*) debido a como se argumentó anteriormente, es considerado una técnica sencilla, de fácil manejo, económico y representa un excelente bioensayo de monitoreo para evaluar el daño genotóxico.

En base a lo anteriormente mencionado, el análisis estadístico de este trabajo se realizó de manera independiente para cada fungicida estudiado y consistió básicamente en identificar el o los tratamientos con mayor efecto genotóxico ocasionado en las células meristemáticas de raíz de haba.

El cuadro 1 y la figura 6 muestran que el fungicida captán en todas las concentraciones incrementó la frecuencia de micronúcleos en relación proporcional, ya que, conforme aumenta la concentración del fungicida se incrementa el número de micronúcleos, siendo la concentración de 6 ppm la que provocó un mayor número de MN en las células meristemáticas de raíz de haba. Sin embargo, no todas las concentraciones pueden provocar un daño genotóxico ya que la prueba estadística de comparación entre tratamientos utilizada,

no establece diferencia significativa entre las concentraciones de 2, 3 y 4 ppm con respecto al testigo, tal como se puede ver en el cuadro 5.

Las concentraciones de 5 y 6 ppm presentan una diferencia estadística significativa en comparación con el testigo, lo cual indica que estos tratamientos ocasionan un mayor daño genotóxico sobre las células meristemáticas. Por otra parte, estadísticamente no existen diferencias significativas entre las concentraciones estudiadas lo que sugiere que el captán tiene un alto grado de solubilidad en el agua, lo que ocasiona que el compuesto penetre en su totalidad en las células y que el daño genotóxico presentado varíe de acuerdo a la concentración aplicada presentándose el efecto concentración-respuesta, lo cual concuerda con la literatura citada, en donde en varios trabajos se cita una estrecha correlación entre concentración- respuesta y que ha sido demostrada (2, 5, 13, 15).

Con respecto al testigo, la frecuencia de células micronucleadas resultante se considera normal, dadas las condiciones propias de manejo durante el tiempo en que se realizó el estudio, presentándose diferentes factores que pudieron influir como la calidad del agua con que se regaron las semillas de haba, así como el origen, edad y calidad de las mismas, tal como lo reporta Moreno (2001).

En lo referente al índice mitótico, considerado como otro factor que permite evaluar el daño genotóxico, se observó que el captán modifica de forma irregular este parámetro citogenético, presentándose una serie de altibajos en cuanto al número de células en alguna fase mitótica, ocasionado por las concentraciones evaluadas. Por ejemplo, el cuadro 2 muestra que entre las concentraciones de 2 y 6 ppm es mínima la diferencia en cuanto al número de células en alguna fase mitótica, presentando las otras concentraciones valores intermedios. Así mismo, no existe una diferencia estadística significativa entre las concentraciones y tampoco con respecto al testigo, como se observa en cuadro 6.

Lo anterior manifiesta que no existe una relación inversamente proporcional entre las concentraciones e índice mitótico, como habría de esperarse teóricamente, considerando el supuesto de que a medida de que aumenta la concentración de captán el índice mitótico debería disminuir. De la misma forma, el testigo presentó un IM bajo en relación con todas las concentraciones, lo cual teóricamente no es lógico, estos resultados sugieren que el índice mitótico no está relacionado con el cierto grado de genotoxicidad del captán, lo que quiere decir que este fungicida no interactúa directamente con los procesos que intervienen en la división celular.

Este diferente comportamiento de todos los tratamientos, se puede deber a la calidad de la semilla utilizada, a las condiciones ambientales de laboratorio, como la temperatura existente durante la parte experimental y a la composición química del captán que puede influir de manera diferente en el metabolismo celular.

Sin embargo, de acuerdo a la literatura revisada y a los resultados obtenidos en este trabajo, el captán debe considerarse como un agroquímico que a concentraciones altas es ligeramente genotóxico como se señala en los resultados obtenidos por Cepeda (1990) y Romero (1992).

La frecuencia de micronúcleos es inducida por el fungicida maneb en todas las concentraciones evaluadas, donde 6 ppm ocasionó el mayor número de células micronucleadas. Las concentraciones de 4 y 5 ppm provocaron también un daño genotóxico en las células meristemáticas de raíz de haba (cuadro 7 y figura 8). El cuadro 11 indica que las concentraciones de 4 y 6 ppm tienen diferencias estadísticas altamente significativas con respecto al testigo, mientras que para la concentración de 5 ppm la diferencia fue únicamente significativa.

Estadísticamente estas tres concentraciones provocan un daño genotóxico en las células meristemáticas y, por consiguiente, en todo el organismo vegetal. Las concentraciones menores de 2 y 3 ppm presentaron una menor frecuencia de micronúcleos, lo cual puede deberse al efecto concentración-respuesta, es decir, que al aumentar la concentración de maneb se incrementa el número de células micronucleadas. Estas concentraciones no representan estadísticamente ningún peligro para provocar una acción genotóxica y, por lo tanto, no presentaron una diferencia estadística en comparación con el testigo que tuvo una frecuencia de micronúcleos muy baja, ocasionada posiblemente por los mismos factores antes mencionados en el caso del fungicida captán (cuadro 7 y figura 8).

La diferencia estadísticamente significativa existente entre las concentración de 2 y las concentraciones de 4 y 6 ppm se debe a que la frecuencia de MN en la primera fue baja, en comparación con las dos últimas concentraciones que presentaron las frecuencias de MN más altas.

En lo referente al índice mitótico (cuadro 8 y figura 9), en general todas las concentraciones de maneb presentaron una relación lineal inversa, es decir, el índice mitótico disminuye conforme aumenta la concentración del fungicida; sin embargo, únicamente las concentraciones 4, 5 y 6 ppm influyen en el IM, ya que se observa una baja frecuencia de células en alguna fase mitótica en comparación con el testigo que presentó un IM mayor. En el cuadro 12 se muestra que estadísticamente se presenta una diferencia altamente significativa entre el testigo y las concentraciones de 4, 5 y 6 ppm lo que quiere decir que en estas concentraciones el fungicida manifiesta una relación inversamente proporcional entre las dosis e índice mitótico. Esto se traduce en un cierto grado de citotoxicidad ocasionado por las concentraciones anteriores, lo cual indica que si interfieren

con los mecanismos que intervienen con la división celular en el meristemo apical de raíz de haba.

Por otra parte, las concentraciones de 2 y 3 ppm no presentaron diferencia estadística con respecto al testigo a pesar de que el IM fue bajo.

Estos resultados permiten determinar que los fungicidas de contacto, además de prevenir y controlar enfermedades fungosas, a altas concentraciones inducen un daño genotóxico en las células vegetales, independientemente del compuesto químico que se trate tal como se observó en este trabajo, ya que el fungicida captán es del grupo de las ftalamidas y el maneb pertenece al grupo de los ditiocarbamatos, por lo que, su mecanismo de acción es diferente en las células vegetales, afectando directamente a los procesos de las mismas.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

6. CONCLUSIONES

1.- Los fungicidas captán y maneb incrementan la frecuencia de micronúcleos en todas las concentraciones evaluadas ocasionando un daño genotóxico, sin embargo, en las dosis bajas de ambos fungicidas no se observó una diferencia estadística con respecto a los testigos.

2.- Las concentraciones de 5 y 6 ppm de los dos fungicidas incrementaron significativamente la frecuencia de células micronucleadas, ocasionando un mayor daño en el material genético de las células.

3.- El captán produjo un efecto irregular en el índice mitótico de las células.

4.- Todas las concentraciones de maneb alteran el índice mitótico.

7. RECOMENDACIONES

1.- Realizar este mismo ensayo con fungicidas sistémicos y comparar los resultados con los obtenidos en este trabajo, ya que, este tipo de fungicidas tienen diferentes mecanismos de acción en las células vegetales.

2.- Considerar otros parámetros citogenéticos como las aberraciones cromosómicas para determinar el daño genotóxico.

3.- Evaluar en haba, además de la concentración de fungicidas, el tiempo de exposición a éstos y determinar si existe una correlación entre estas variables y el daño al material genético.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA). 2001. Toxicology chapter for fungicides. U.S.A pp 56-90.
2. Amer, y Fawzia, A.E.A. 1992. Cytogenetic effects of pesticides. IV. Cytogenetic effects of the insecticides gardona and dursban. *Mutation Research* 379: 189-206.
3. Amer, S.M. y Farah, O.R. 1983. Cytological effects of pesticides. XII. Meiotic effects of the insecticide dursban. 48: 557-563.
4. Anónimo. 1998. Boletín informativo del aguacatero. No. 6. Asociación Agrícola Local de Productores de Uruapan, Michoacán. pp 58-69.
5. Cabrera, G.L. y Rodríguez, D.M.G. 1999. Genotoxicity of the leachates from a landfill using three bioassays. *Mutation Research* 426: 207-210.
6. Cepeda, S.M. 1990. Fungicidas Agrícolas; aspectos generales, formulaciones y usos. Departamento de Parasitología, División de Agronomía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. pp 1-40.
7. Codees Alimentarius. 1994. Residuos de plaguicidas en los alimentos. Programa conjunto FAO/ OMS sobre normas alimentarias. Roma, Italia. 314 pp.
8. Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas. Fertilizantes y sustancias tóxicas (CICOPLAFEST). 1999. Catálogo oficial de plaguicidas. SAGAR, SEMARNAP, SSA y SECOFI. pp 525-590.
9. Cotellet, S. et. al. 1999. Assesment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/ Vicia* micronucleus and the *Tradescantia* micronucleus assays. *Mutation Research*. 426: 167-171.
10. Cremllyn, R. 1995. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Limusa. México. pp 525-569.
11. Coscolla, R. 1993. Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp 2-52.
12. Curtis, P.G. 1986. Introducción a la citología vegetal. UACH. Ediciones patena. pp 115-123.
13. Chauchan, L.K.S. et.al. 1986. Effect of the deltamethrin on plant cells. I. Cytological effects on the root meristems of the *Allium cepa L.* *Mutation Research* 171: 25-30.

14. Diccionario de especialidades Agroquímicas 2000. Ediciones PMLM. México. pp 1129-1130.
15. De Marco, A. et. al. 1990. Importance of the type of soil the induction micronuclei and the growth of primary roots of *Vicia faba L* treated with the herbicides atrazine, glyphosate and maleic hidrazide. *Mutation Research* 279: 9-13.
16. De Robertis, E.D.P. 1987. *Biología celular y molecular*. Editorial el ateneo. pp 628-636.
17. FAO. 1993. Pesticide residue in food. Evaluations part I. Residues FAO. Plant production and protection. pp: 351
18. Gollapudi, BB. et. al. 1995. Evaluation of the genetic toxicity of the organophosphate insecticides. *Mutation Research* 342: 25-36.
19. Gómez, A.S. y Villalobos, P.R. 1997. El intercambio de cromátidas hermanas en *Vicia faba L* como monitor genético de contaminantes ambientales. En resúmenes del VII congreso nacional de genética. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C.
20. Gopalan, H.N.B. 1999. Ecosystem health and human web being: the mission of the International Programme on Plant Bioassays. *Mutation Research* 426: 99-102.
21. Grover, I.S. y Satwinderjeet, K. 1999. Genotoxicity of waste water samples of sewage and industrial effluent detected by *Allium cepa L* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutation Research* 426: 183-188.
22. Guillén, A.O.H. 2000. Apuntes de clase de citogenética. FES- Cuautitlán, UNAM. México.
23. Gustavino, B. y et. al. 1995. A comparison between short- term evolution of micronuclei induced by X- rays and colchicines in root tips of *Vicia faba L* . *Mutation Research* 192: 109-119.
24. Heddle, J. et.al. 1983. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. *Mutation Research* 126: 61-118
25. <http://www.agripac.com.ec/manual-agricola/fungicidas>
26. <http://www.redpav/fpolar.info.ve/fagroluz/v14>
27. <http://www.rap-alt.com/rapal.htm>
28. <http://www.provelte.es/estermilo.htm>
29. <http://www.mcx.es/plagicidas/plaresul.asp>

30. <http://www.gobcam.es/agricultura/sanidadvegetal/divulgaci3n/plagas>
31. <http://www.captone.es/capt3n.htm>
32. <http://www.biologia.arizona.edu/cell>
33. <http://www.fai.unne.edu.ar/biologia>
34. <http://www.uma.es/estudios39/micro.html>
35. Jaramillo, Cuberto y M.T. Moreno. 1983. Leguminosas de grano. Editorial Mundiprensa . Madrid, Espa1a. pp 359.
36. Ji, Q. et. al. 1999. *Vicia* -root micronuclei assays on the clastogenicity of water samples from the Kui River near Xuzhou City, People's of Republic of China. Mutation Research 426: 133-135.
37. Juscafresa, Baudilio. 1983. Arboles frutales. Editorial mexicana S.A. M3xico. pp. 381.
38. Knasmuller, S. et. al. 1998. Detection of the genotoxicity effects of heavy metal contaminated soils with palnt bioassays. Mutation Research 420: 37-48.
39. L3pez, V.A. 1994. Producci3n de hortalizas. UTEHA. M3xico. pp. 298.
40. Lu, F.F. 1992. Toxicolog3a b3sica . Editorial Harla. pp. 23-56.
41. Lyr, H. 1995. Modern selective fungicides. Properties, applications and mechanisms of action. Second edition. New York. PP. 567-598.
42. Ma, T.H. et. al. 1994. *Tradescantia* micronucleus bioassay. Mutation Research 310: 221-230.
43. Maroto, J.V. 1992. Horticultura herbacea especial. Mundi-prensa. Madrid, Espa1a. pp. 568.
44. Miao, M. et. al. 1999. *Vicia* root micronucleus assay on the clastogenicity of water samples from the Xiaoquin river in Shandong Province of the People's Republic of China. Mutation Research 426: 143-145.
45. Minissi, S. y Lombi, E. 1997. Heavy metal content and mutagenic activity, evaluated by *Vicia faba* L micronucleus test, of Tiber river sediments. Mutation Research 393: 17-21.
46. Moreno, L. J.F. 2001. Genotoxicidad del insecticida clorpirifos en celulas apicales de ra3z de haba (*Vicia faba* L.). Tesis Licenciatura Ingenier3a Agr3cola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitl3n, UNAM. Cuautitl3n Izcalli, Edo. de M3xico, M3xico.

47. Mohamed, K.B. y Ma, T.H. 1999. *Tradescantia* micronucleus and Stament hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. *Mutation Research* 426: 193-199.
48. Orozco, G.R. 1999. Estudio de la relación dosis-efecto de proteínas de choque térmico (HPS70) por exposición en metales en *Drosophila melanogaster*. En: 4º. Congreso Nacional Estudiantil de Toxicología Genética. Taxco, Guerrero; México. Pag. 1.
49. Restrepo, R.J. 1998. Venenos: Del invento al uso y de la muerte a la vida. En: Memorias del III taller de Agricultura Orgánica. Mayo, 1998. México. Pag. 41-72.
50. Ritcey, G. et. al. 1991. Persistence and biological activity of residues of granular insecticides in organic soil and onion maggot. (Diptera): Anthomyiidae. *Journal of Economic Entomology*. 84 (4): 1339-1343.
51. Rizzoni, M. et. al. 1997a. Micronucleus induction by low doses of X rays in *Vicia faba* L root tips. *Mutation Research* 176: 205-209.
52. Rodríguez, G.S. et. al. 1998a. Insitu assesment of genotoxicity in an integrated pest management program I *Tradescantia* micronucleus assay. *Mutation Research* 412: 235-244.
53. Romero. D.E. 1992. Tratamiento de semilla con insecticida K-Kiobol y fungicida captán 360 para controlar *Protephanus truncatus* y *Sitiphilus zeamais* en maíz y *Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfasciatus* en frjol. Tesis profesional de parasitología agrícola. UACH. Chapingo, México. pp: 22-30, 57-58.
54. Sambroska, C.A. 1993. Changes in genetic material of *Vicia faba* L. var. minor caused by desiccants. II. Cytogenetic effects of dessiccants applied under laboratory conditions. *Genética Polonica* 34 (1): 27-34.
55. Schmid, W. 1975. The micronucleus test. *Mutation Research* 31: 9-15.
56. Wang, S. y Wang, X. 1999. The *Tradescantia* micronucleus test on the genotoxicity of UV- B radiation. *Mutation Research* 426: 151-15.

ANEXOS

Cuadro 13. Cultivos agrícolas en los que se aplica el captán en México

CULTIVO	ENFERMEDAD	DOSIS/ha
Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	Mancha foliar (<i>Mycosphaerella</i> sp.) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)	2 - 4 kg
Berenjena (<i>Solanum melongena</i> L.)	Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> sp.) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	2 - 3 kg
Calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> sp.) Mildiu vellosa (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>) Mancha de la hoja (<i>Alternaria cucumerina</i>)	3 - 4 kg
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	Mancha púrpura (<i>Alternaria porri</i>) Botritis (<i>Botrytis allii</i>) Mildiu vellosa (<i>Peronospora</i> sp.)	2 - 4 kg
Col (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata) Col de bruselas (<i>Brassica oleracea</i> var. gemifera zenk) Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. botrytis)	Mildiu vellosa (<i>Peronospora parasitica</i>)	2 - 3 kg
Chicharo (<i>Pisum sativum</i> L.)	Mancha de la hoja (<i>Alternaria</i> sp.) Marchitez de la hoja (<i>Phytium</i> sp.)	2 - 3 kg
Chile (<i>Capsicum annum</i> L.)	Antracnosis (<i>Colletotrichum capsici</i>) Cercospora (<i>Cercospora capsici</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>) Pudrición radical (<i>Rhizoctonia solani</i>)	2 - 3 kg
Fresa (<i>Fragaria mexicana</i> L.)	Mancha de la hoja (<i>Mycosphaerella fragariae</i>) Pudrición del fruto (<i>Botrytis cinerea</i>)	3 - 4 kg
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> sp.) Mancha de la hoja (<i>Septoria lycopersici</i>) Mancha gris (<i>Stemphylium solani</i>) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	1.5 - 3 kg

Continuación ...

Melón (<i>Cucumis melo L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	2 - 3 kg
Papa (<i>Solanum tuberosum L.</i>)	Mancha de la hoja (<i>Stemphylium solani</i>) Putrición de la semilla y raíz (<i>Fusarium sp.</i>) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	2 - 4 kg
Pepino (<i>Cucumis sativus L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum lagenarium</i>) Mancha de la hoja (<i>Alternaria cucumerina</i>) Mildiu veloso (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)	2 - 3 kg
Soya (<i>Glycine max L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum dematium</i>) Mancha ojo de rana (<i>Cercospora sojina</i>) Tizón de la vaina (<i>Diaporthe Phaseolorum</i>)	1 - 2 kg
Aguacate (<i>Persea americana L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum gloesporioides</i>) Mancha de la hoja (<i>Cercospora purpurea</i>) Roña o sarna del fruto (<i>Sphaeloma persea</i>)	.2 - .5 kg
Ciruelo (<i>Prunus domestica L.</i>)	Putrición café (<i>Monilia fruticola</i>)	.3 - .5 kg
Cítricos	Antracnosis (<i>Colletotrichum gloesporioides</i>) Mancha grasosa (<i>Micosphaerella citri</i>) Melanosis (<i>Diaporthe citri</i>) Roña o sarna (<i>Elsinoe fawcettii</i>)	.25 - .3 kg
Durazno (<i>Prunus persica L.</i>)	Cenicilla polvorienta (<i>Podosphaera leucotricha</i>) Verrucosus (<i>Taphrina deformans</i>)	.3 - .4 kg
Mango (<i>Mangifera indica L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum gloesporioides</i>) Cenicilla (<i>Oidium mangiferae</i>) Roya del fruto (<i>Elsinoe mangifera</i>)	.25 - .3
Manzano (<i>Pyrus malus L.</i>)	Cenicilla polvorienta (<i>Podosphaera leucotricha</i>) Roña o sarna (<i>Venturia inaequalis</i>)	.3 - .4 kg

Continuación ...

Peral (<i>Pyrus communis L.</i>)	Cenicilla polvorienta (<i>Podosphaera leucotricha</i>) Roña o sarna (<i>Venturia pirina</i>)	.2 - .4 kg
Vid (<i>Vitis vinifera L.</i>)	Mildiu o cenicilla vellosa (<i>Plasmopara viticola</i>)	2 - 3 kg
Ornamentales	Antracnosis (<i>Sphaceloma rosarum</i>) Mancha foliar (<i>Mycosphaerella sp</i>) Mancha negra (<i>Diplocarpon rosae</i>) Podrición de la flor (<i>Botrytis sp.</i>)	.2 - .4 kg

Fuente: (8, 35, 37, 43)

Cuadro 14. Nombres comerciales del captán para uso agrícola en México.

NOMBRE COMERCIAL	FORMULACION %	PRESENTACION
Captán técnico	90	Polvo técnico
Orthocide	90	Polvo técnico
Captán técnico	95	Polvo técnico
Capto Dragón 500	50	Polvo humectable
Captán	50	Polvo humectable
Orthocide 50	50	Polvo humectable
Intercaptan 50	38	Suspensión acuosa
Captan 50 W	50	Polvo humectable
Intercaptán 360	30	Suspensión acuosa

Fuente: (8)

Cuadro 15. Cultivos agrícolas e intervalo de seguridad en la aplicación de captán en México

CULTIVO	INTERVALO DE SEGURIDAD (días)
Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	Sin límite
Berenjena (<i>Solanum melongena</i> L.)	Sin límite
Calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	Sin límite
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	Sin límite
Col (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata)	7
Col de bruselas (<i>Brassica oleracea</i> var. gemifera zenk)	
Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. botrytis)	
Chicharo (<i>Pisum sativum</i> L.)	7
Chile (<i>Capsicum annum</i> L.)	Sin límite
Fresa (<i>Fragaria mexicana</i> L.)	Sin límite
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Sin límite
Melón (<i>Cucumis melo</i> L.)	Sin límite
Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Sin límite
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	Sin límite
Soya (<i>Glycine max</i> L.)	7
Aguacate (<i>Persea americana</i> L.)	Sin límite
Ciruelo (<i>Prunus domestica</i> L.)	Sin límite
Cítricos	Sin límite
Durazno (<i>Prunus persica</i> L.)	Sin límite
Mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	Sin límite
Manzano (<i>Pyrus malus</i> L.)	Sin límite
Peral (<i>Pyrus communis</i> L.)	Sin límite
Vid (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Sin límite
Ornamentales	* No tiene tolerancia debido a que nos son cultivos comestibles

Fuente: (39,8)

Cuadro 16. Límite máximo residual del captán para diversos cultivos en México

CULTIVO	LÍMITE RESIDUAL MÁXIMO (ppm)
Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	25
Berenjena (<i>Solanum melongena</i> L.)	25
Calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	25
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	25
Col (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata)	2
Col de bruselas (<i>Brassica oleracea</i> var. gemifera zenk)	
Coliflor (<i>Brassica oleracea</i> var. botrytis)	
Chicharo (<i>Pisum sativum</i> L.)	2
Chile (<i>Capsicum annum</i> L.)	25
Fresa (<i>Fragaria mexicana</i> L.)	25
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	25
Melón (<i>Cucumis melo</i> L.)	25
Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	25
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	25
Soya (<i>Glycine max</i> L.)	2
Aguacate (<i>Persea americana</i> L.)	25
Ciruelo (<i>Prunus domestica</i> L.)	50
Cítricos	25
Durazno (<i>Prunus persica</i> L.)	50
Mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	50
Manzano (<i>Pyrus malus</i> L.)	25
Peral (<i>Pyrus communis</i> L.)	25
Vid (<i>Vitis vinifera</i> L.)	50
Ornamentales	* No tiene tolerancia debido a que nos son cultivos comestibles

Fuente: (37, 43, 55)

Cuadro 17. Utilización del captán para tratamiento de semilla de cultivos en México.

CULTIVO	ENFERMEDAD	DOSIS (gramos de i.a / ton)
Ajonjolí (<i>Sesamum indicum L.</i>)	Marchitez (<i>Fusarium sp.</i>) Pudrición de semilla y plántulas (<i>Rhizoctonia sp.</i>)	1,250
Algodón (<i>Gossypium hirsutum L.</i>)	Pudrición de raíz (<i>Phymatotrichum omnivorum</i>) Marchitez (<i>Fusarium sp.</i>)	1,400
Arroz (<i>Oryza sativa L.</i>)	Carbón (<i>Neovossia horrida</i>) Pudrición del cuello (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Pythium sp.</i>)	850
Avena (<i>Avena sativa L.</i>)	Marchitez (<i>Fusarium sp.</i>) Carbón cubierto (<i>Ustilago killeri</i>) Pudrición de semilla (<i>Cladosporium sp.</i>)	1,000
Cacahuete (<i>Arachis hipogaea L.</i>)	Pudrición de semillas y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>), (<i>Phytophthora sp.</i>)	800
Cebada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)	Carbón descubierto (<i>Ustilago nuda</i>) Carbón cubierto (<i>Ustilago hordei</i>) Pudrición de semilla (<i>Pythium sp.</i>)	2,000
Frijol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>)	1,000
Garbanzo (<i>Cicer arietinum L.</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>), (<i>Fusarium sp.</i>)	1,000
Girasol (<i>Helianthus annuus L.</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>), (<i>Fusarium sp.</i>), (<i>Verticillium sp.</i>)	800
Lenteja (<i>Lens esculentum</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>)	780

Continuación ...

Maíz (<i>Zea mays L.</i>)	Carbon (<i>Ustilago maydis</i>) Marchitez sureña (<i>Gloeosporium buleyi</i>) Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Fusarium moniliforme</i>)	1,250
Sorgo (<i>Sorghum vulgare L.</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>)	1,250
Soya (<i>Glycine max L.</i>)	Pudrición de semilla y plántulas (<i>Pythium sp.</i>), (<i>Rhizoctonia sp.</i>)	1,000
Trigo (<i>Triticum aestivum L.</i>)	Carbón descubierto (<i>Ustilago Tritici</i>) Carbón apestoso (<i>Tilletia foetida</i>)	650

Fuente: (8, 39)

Cuadro 18. Cultivos agrícolas en los que se aplica el maneb en México.

CULTIVO	ENFERMEDAD	DOSIS/ha.
Apio (<i>Apium graveolens L.</i>)	Mancha foliar (<i>Mycosphaerella sp.</i>) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)	1 - 3 kg
Berenjena (<i>Solanum melongena L.</i>)	Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	2 - 3 kg
Calabacita (<i>Cucurbita pepo L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum sp.</i>) Mildium veloso (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>) Mancha de la hoja (<i>Alternaria cucumerina</i>)	2 - 3 kg
Cebolla (<i>Allium cepa L.</i>)	Mancha púrpura (<i>Alternaria porri</i>) Botrytis (<i>Botrytis allii</i>)	2 - 3 kg
Col (<i>Brassica oleracea var. capitata</i>)	Mildium veloso (<i>Pseudoperonospora parasitica</i>)	2 - 3 kg
Chile (<i>Capsicum annum L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum capsici</i>) Cercospora (<i>Cercospora capsici</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>) Pudrición radical (<i>Rhizoctonia solani</i>)	2 - 3 kg
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum Mill</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum sp.</i>) Mancha de la hoja (<i>Septoria lycopersici</i>) Mancha gris (<i>Stemphylium solani</i>) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	2 - 3 kg
Melón (<i>Cucumis melo L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	1 - 3 kg
Papa (<i>Solanum tuberosum L.</i>)	Mancha de la hoja (<i>Stemphylium solani</i>) Pudrición de la semilla (<i>Fusarium sp.</i>) Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>) Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	1 - 3 kg

Continuación ...

Pepino (<i>Cucumis sativus L.</i>)	Antracnosis (<i>Colletotrichum lagenarium</i>) Mancha de la hoja (<i>Alternaria cucumerina</i>) Mildium velloso (<i>Pseudoperonospora parasitica</i>)	1 - 3 kg
Sandia (<i>Citrillus lanatus Schrad</i>)	Mildium velloso (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>) Antracnosis (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	1 - 3 kg
Manzano (<i>Pyrus malus L.</i>)	Roña o sarna (<i>Venturia inaequalis</i>)	.2 - .3 kg
Papayo (Carica papaya L.)	Antracnosis (<i>Colletotrichum gloesporoides</i>)	.2 kg
Peral (<i>Pyrus communis L.</i>)	Roña o sarna (<i>Venturia pirina</i>)	.18 - .25 kg
Plátano (<i>Musa acuminata Colla</i>)	Chamusco (<i>Mycosphaerella musicola</i>)	.200 kg / cepa
Vid (<i>Vitis vinifera</i>)	Cenicilla vellosa (<i>Plasmopara viticola</i>)	2 - 3 kg
Ornamentales	Mancha foliar (<i>Mycosphaerella sp.</i>)	.25 - .35 kg

Fuente:(35, 43, 55)

Cuadro 19. Nombres comerciales del maneb para uso agrícola en México

NOMBRE COMERCIAL	FORMULACIÓN %	PRESENTACIÓN
Maneb 80	80	Polvo técnico
Folyram	80	Polvo humectable
Maneb 6.4	6	Polvo
Manex	80	Polvo humectable
Maneb Plus	80	Polvo humectable
Fluman	33	Suspensión acuosa
Intermaneb	80	Polvo humectable

Fuente: (8)

Cuadro 20. Cultivos agrícolas e intervalo de seguridad en la aplicación de maneb en México.

CULTIVO	INTERVALO DE SEGURIDAD (días)
Apio (<i>Apium graveolens</i> L.)	7
Berenjena (<i>Solanum melongena</i> L.)	7
Calabacita (<i>Cucúrbita pepo</i> L.)	Sin límite
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	Sin límite
Col (<i>Brassica oleracea</i> var. capitata)	7
Chile (<i>Capsicum annum</i> L.)	7
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	5
Melón (<i>Cucumis melo</i> L.)	5
Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	7
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	5
Sandía (<i>Citrillus lanatus</i> Schrad)	5
Manzano (<i>Pyrus malus</i> L.)	30
Papayo (<i>Carica papaya</i> L.)	10
Peral (<i>Pyrus communis</i> L.)	15
Plátano (<i>Musa acuminata</i> Colla)	30
Vid (<i>Vitis vinifera</i>)	10
Ornamentales	*No tiene por no ser un cultivo comestible

Fuente:(43, 55)

Cuadro 21. Límite máximo residual del maneb para diversos cultivos en México.

Cultivo	LÍMITE MÁXIMO RESIDUAL (ppm)
Apio (<i>Apium graveolens L.</i>)	5.0
Berenjena (<i>Solanum melongena L.</i>)	7.0
Calabacita (<i>Cucúrbita pepo L.</i>)	4.0
Cebolla (<i>Allium cepa L.</i>)	7.0
Col (<i>Brassica oleracea var. capitata</i>)	10.0
Chile (<i>Capsicum annum L.</i>)	7.0
Jitomate (<i>Lycopersicon esculentum Mill</i>)	4.0
Melón (<i>Cucumis melo L.</i>)	4.0
Papa (<i>Solanum tuberosum L.</i>)	0.1
Pepino (<i>Cucumis sativus L.</i>)	4.0
Sandía (<i>Citrillus lanatus Schrad</i>)	4.0
Manzano (<i>Pyrus malus L.</i>)	2.0
Papayo (<i>Carica papaya L.</i>)	7.0
Peral (<i>Pyrus communis L.</i>)	10.0
Plátano (<i>Musa acuminata colla</i>)	4.0
Vid (<i>Vitis vinifera</i>)	7.0
Ornamentales	*No tiene por no ser un cultivo comestible

Fuente:(43, 55)