

---

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y**  
**AGROPECUARIAS**

---

**DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS**



**EVALUACION DE LA PRUEBA DE *Tradescantia* PARA LA**  
**DETECCION DE DAÑO MUTAGENICO**

---

**TESIS PROFESIONAL**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**INGENIERO AGRONOMO**  
**ORIENTACION FITOTECNIA**  
**P R E S E N T A**  
**JORGE RICARDO AGUILERA RODRIGUEZ**  
**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL. OCTUBRE DE 1996.**

---

17522/020440  
A2264  
7



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**  
**DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS**

COMITE DE TITULACION  
 IFI95020/96

**SOLICITUD Y DICTAMEN**

**SOLICITUD**

M.C. SALVADOR MENA MUNGUA  
 PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION  
 P R E S E N T E

Conforme lo indica la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara y su Reglamento, así como lo establece el Reglamento interno de la División de Ciencias Agronómicas, hemos reunido los requisitos necesarios para iniciar los trámites de Titulación, por lo cual solicitamos su autorización para realizar nuestro TRABAJO DE TITULACION, con el tema:

**"EVALUACION DE LA PRUEBA DE Tradescantia PARA LA DETECCION DE DAÑO MUTAGENICO"**

ANEXO ORIGINAL Y DOS COPIAS DEL PROYECTO DE INVESTIGACION  
 MODALIDAD: INDIVIDUAL

NOMBRE DEL SOLICITANTE	CODIGO	GENERACION	ORIENTACION O CARRERA	FIRMA
JORGE RICARDO AGUILERA RODRIGUEZ	094006139	90-95	ING. AGR. FIT.	

Fecha de solicitud 21 DE FEBRERO DE 1996

**DICTAMEN DE APROBACION**

DIRECTOR: M.C. CARLOS ALVAREZ MOYA  
 ASESOR: DR. JOSE RON PARRA  
 ASESOR: M.C. SALVADOR GONZALEZ LUNA

M.C. SALVADOR MENA MUNGUA  
 PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION

**AUTORIZACION DE IMPRESION**

DIRECTOR  
 M.C. CARLOS ALVAREZ MOYA

ASESOR  
 DR. JOSE RON PARRA

ASESOR  
 M.C. SALVADOR GONZALEZ LUNA

Vo. Bo. Pdte. del Comité

Fecha: 30 DE SEPTIEMBRE DE 1996.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A MIS PADRES: DANIEL Y ROSALIA, POR SU VALIOSA COMPRESION Y SUS GRANDES CONSEJOS QUE SIEMPRE SIN CONDICION ALGUNA ME HAN BRINDADO.**

**A MIS HERMANOS: MARICELA, DANIEL, ADRIAN HILARIO, JESUS ALONSO, MIROSLAVA Y JOSE CANDELARIO, QUE SIEMPRE ME HAN APOYADO.**

**A MIS ABUELITOS: HILARIO Y SOCORRO, FRANCISCO Y DOLORES, QUE SIEMPRE HAN ESTADO CONMIGO.**

**AL M. en C. CARLOS ALVAREZ MOYA: POR SU GRAN AYUDA Y VALIOSA COOPERACION EN LA PARTICIPACION DE ESTE TRABAJO.**

**A LOS ASESORES DOCTOR JOSE RON PARRA Y AL M. En C. SALVADOR SANCHEZ LUNA: POR SU GRAN APORTACION PARA HACER POSIBLE ESTE TRABAJO.**

**Y A TODOS AQUELLOS QUE DE ALGUNA U OTRA FORMA HAN APORTADO UN ALIENTO DE SABIDURIA PARA MI FORMACION PROFESIONAL.**

## **DEDICATORIAS**

**A MIS PADRES: QUE DE NO SER POR ELLOS, YO NO SERIA LO QUE SOY,  
UN SER.**

**A MIS HERMANOS: QUE SIEMPRE ME HAN APOYADO Y RESPETADO  
MIS DECISIONES, GRACIAS**

**A MI PRIMO CESAR: QUE ME AYUDO A DAR UN PASO ADELANTE.**

**A LA ESCUELA SUPERIOR DE AGRICULTURA HERMANOS ESCOBAR:  
QUE EN ELLA APRENDI A VALORAR LA EDUCACION POPULAR Y A TOMAR  
MIS PROPIAS DESICIONES SIN QUE OTROS LO HAGAN POR ML**

**A LA UNVERSIDAD DE GUADALAJARA: POR SU APOYO INVALORABLE  
AL PERMITIRME TOMAR SUS CONOCIMIENTOS.**

**A QUIEN EN LOS MOMENTOS DIFICILES SIEMPRE ESTUVO PRESENTE,  
DANDOME SU APOYO INCONDICIONAL, SIEMPRE ALENTANDOME A SEGUIR  
ADELANTE, A QUIEN SIEMPRE LLEVARE EN MIS RECUERDOS.....**

**.....A TI MADRE**

## CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS .....	i
LISTA DE FIGURAS .....	ii
LISTA DE GRAFICAS .....	iii
RESUMEN .....	iiii
<b>I INTRODUCCION</b>	
1.1 Importancia del Problema .....	1
1.2 Objetivos .....	2
1.3 Hipótesis .....	2
<b>II REVISION DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Antecedentes .....	3
2.2 Problema Ambiental .....	7
2.2.1 Agentes Físicos .....	11
2.2.2 Agentes Químicos .....	12
2.3 Sustancias Mutagénicas .....	14
2.4 Pruebas o Bioensayos .....	19
2.4.1 Sistema de prueba microbiano .....	20
2.4.2 Sistema de prueba en células de mamíferos .....	21
2.4.3 Sistema de prueba en roedores .....	21
2.4.4 Sistema de prueba en insectos .....	21
2.4.5 Sistema de prueba en SMART .....	22
2.5 <i>Tradescantia L.</i> .....	22
<b>III MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Fisiografía del Area de Estudio .....	24
3.2 Material Genético .....	24
3.3 Materiales Químicos .....	24
3.4 Materiales Físicos .....	24
3.5 Metodología Experimental .....	25
3.7 Desarrollo del Experimento .....	25
<b>IV RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
<b>V DISCUSIONES .....</b>	<b>34</b>
<b>VII CONCLUSIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>VII BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE CUADROS

i

	Descripción	Pág.
Cuadro	1. Pesticidas de uso restringido California-EPA .....	10
Cuadro	2. Sustancias reconocidas como cancerígenas en E.U.A. ....	16
Cuadro	3. Agentes químicos asociados con la inducción de cáncer en humanos ....	17
Cuadro	4. Pesticidas que se sabe o se sospecha que causan cáncer, EPA-Federal .....	18
Cuadro	5. Concentración de datos utilizados en <i>Tradescantia</i> .....	27
Cuadro	6. Análisis de varianza utilizado en la prueba de <i>Tradescantia</i> .....	32
Cuadro	7. Concentración de datos utilizados en <i>Tradescantia</i> .....	33

## LISTA DE FIGURAS

ii

	Descripción	Pág.
Figura	1. Plantas de <i>Tradescantias</i> utilizadas en la prueba .....	5
Figura	2. Medio de dispersión y vías de transferencia de los contaminantes ambientales .....	9
Figura	3. Plantas de <i>Tradescantias</i> mantenidas bajo condiciones ambientales de invernadero .....	28
Figura	4. Inflorescencias jóvenes de <i>Tradescantias</i> óptimas para la prueba .....	29

## LISTA DE GRAFICAS

iii

	Descripción	Pág.
Gráfica	1. Curva de dosis respuesta <i>Tradescantia</i> -Uretano .....	37
Gráfica	2. Curva de dosis respuesta <i>Tradescantia</i> -Azida de Sodio .....	38
Gráfica	3. Curva de dosis respuesta <i>Tradescantia</i> -N-Nitrosoetilamida .....	39
Gráfica	4. Curva de dosis respuesta <i>Tradescantia</i> -Hidrazina Maléica .....	40
Gráfica	5. Curva de dosis respuesta <i>Tradescantia</i> -N-Nitrosoetilurea .....	41
Gráfica	6. Curva de dosis respuesta Resumen- <i>Tradescantia</i> .....	42



En la actualidad hay una gran cantidad de compuestos químicos y físicos en el medio ambiente, que representan un riesgo para los seres vivos. Se han desarrollado pruebas de detección de daños, provocados por diversos agentes, pero son costosos y consumen mucho tiempo. Una de las pruebas que se ha utilizado con mucho éxito es el sistema en *Tradescantia*, que es económico y sencillo en su manejo.

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de *Tradescantia*, para la detección de daño provocado por diferentes agentes químicos (Uretano, Asida de Sodio, N-Nitrosoetilurea, N-Nitrosoetilamida e Hidrazina Maléica) realizandose bajo condiciones de invernadero y laboratorio.

Los resultados obtenidos muestran que de los compuestos químicos analizados, el que presentó mayor capacidad para provocar daño genético fué la Hidrazina Maléica, con una elevada diferencia en comparación con el testigo negativo, incluso con los demás compuestos.

La prueba de *Tradescantia* es un bioensayo confiable para la detección de cambios genéticos provocados por diferentes compuestos químicos y físicos en el medio ambiente, pero los resultados pueden variar según la naturaleza de los agentes.

## I INTRODUCCION

### 1.1 Importancia del Problema.

El desarrollo de las sociedades humanas se acompaña del uso de gran cantidad de agentes químicos (60 a 70 mil son de uso común y muchos de ellos tóxicos), los cuales se utilizan en la industria, el hogar, el campo, etc., de tal manera, que el hombre y otras especies que cohabitan con él, se encuentran continuamente expuestos a tales agentes (Grimmer, 1983). Muchos de estos agentes son capaces de producir daño fisiológico y genético. Cuando un compuesto químico ocasiona daño a nivel del ADN se le conoce como mutagénico (Perera y Weinstein, 1982).

Cada vez más compuestos químicos son producidos y por lo tanto es necesario tener conocimiento sobre los daños que ellos ocasionan (Albert, 1993). Para ello se han desarrollado una gran cantidad de sistemas de prueba (Grant *et al.*, 1981a). Uno de los que mejores ventajas ofrece es el sistema en *Tradescantia*, especialmente el clon 4430. Este clon a resultado de gran ayuda para la detección de mutaciones somáticas.

En la presente tesis se trabajó con cinco mutágenos positivos con el fin de estandarizar y evaluar la prueba de *Tradescantia* como un primer paso para el análisis de sustancias químicas cuya capacidad mutagénica se desconoce.

## 1.2 Objetivos

- 1 Evaluar la capacidad de la prueba de *Tradescantia* para detectar eficientemente el daño genético, provocado por diversas sustancias químicas.
  - 1.1 Estandarizar la prueba de *Tradescantia* a las condiciones prevalentes en nuestro entorno.
  - 1.2 Valorar la capacidad de respuesta de *Tradescantia* a varios mutágenos conocidos.

## 1.3 Hipótesis

La prueba de *Tradescantia* es capaz de detectar eficientemente el daño genético provocado por diversos compuestos químicos con actividad mutagénica.

## II REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes

Existe gran cantidad de compuestos químicos y de agentes físicos y biológicos capaces de producir daño genético. Este problema ha sido detectado hace ya mucho tiempo (Salamanca, 1990), sin embargo día a día, las sociedades modernas demandan más y diferentes sustancias químicas (fármacos, pesticidas, conservadores de alimentos, etc.).

Un compuesto químico puede provocar no solo daño fisiológico si no también genético; cuando esto último ocurre el compuesto es llamado mutágeno, este puede atravesar la membrana celular y atacar directa o indirectamente al ADN de formas muy diversas (mutaciones puntuales y aberraciones) (Heflich, 1991).

Muchos mutágenos químicos entran en contacto con el hombre a través de la actividad ocupacional o su hábitat y existen trabajos que señalan la relación existente entre el tipo de cáncer, la actividad ocupacional y la vía de entrada del compuesto químico (De Nava, 1990).

Por otra parte, los compuestos encontrados como contaminantes también pueden representar riesgo genético, y lo más grave es, que a ello se expone a la gran mayoría de las poblaciones, ya sea de manera directa o través de los metabolitos (Albertini y Robinson, 1991).

Muchos son los contaminantes químicos que se hayan en los diversos ambientes, así tenemos por ejemplo: los hidrocarburos aromáticos policíclicos, el bióxido de azufre, el del nitrógeno, las partículas de plomo (Badillo, 1990; Molina, 1990), el trióxido de cromo, pesticidas (Gómez y *et al.*, 1992a), el arsénico (Villalobos *et al.*, 1990), el cadmio (Gómez *et al.*, 1989).

Se han desarrollado una gran variedad de bioensayos para detectar el daño genético como son: pruebas en animales que se basan principalmente en observaciones de aberraciones cromosómicas y de intercambio de cromátidas hermanas (Preston *et al.*, 1982), otro sistema en animales esta basado en la visualización de cambios fenotípicos debido a la expresión de genes recesivos, estos en algunas cepas de ratón (Russell *et al.*, 1982). El problema de los sistemas en mamíferos radica en el tiempo empleado para realizar las observaciones así como su elevado costo. Existen otros sistemas en *Drosophila melanogaster* como es el caso de la prueba de Letales Recesivos Ligados al Sexo (LRLS), observación de micronucleos etc., pero consumen mucho tiempo y requieren un elevado número de personal. Debido a estas desventajas se ha optado por realizar estudios de mutagenicidad en plantas dado que resulta económico y eficaz trabajar con ellas. Para ello existe una prueba que utiliza la planta de *Tradescantia* (Figura 1) (Sparrow *et al.*, 1974).

Las mutaciones somáticas son aquellas que se presentan en células no reproductoras y pueden detectarse fenotípicamente en plantas heterocigóticas para el color de la flor, de las hojas u otras características. Estas mutaciones son marcadores que permiten evaluar el daño genético ocasionado por diversos agentes (Sparrow *et al.*, 1974).

La heterocigosidad es de suma utilidad ya que en condiciones normales se manifiesta el gen dominante, pero al ocurrir una pérdida o alteración de ese locus se manifiesta el carácter recesivo.

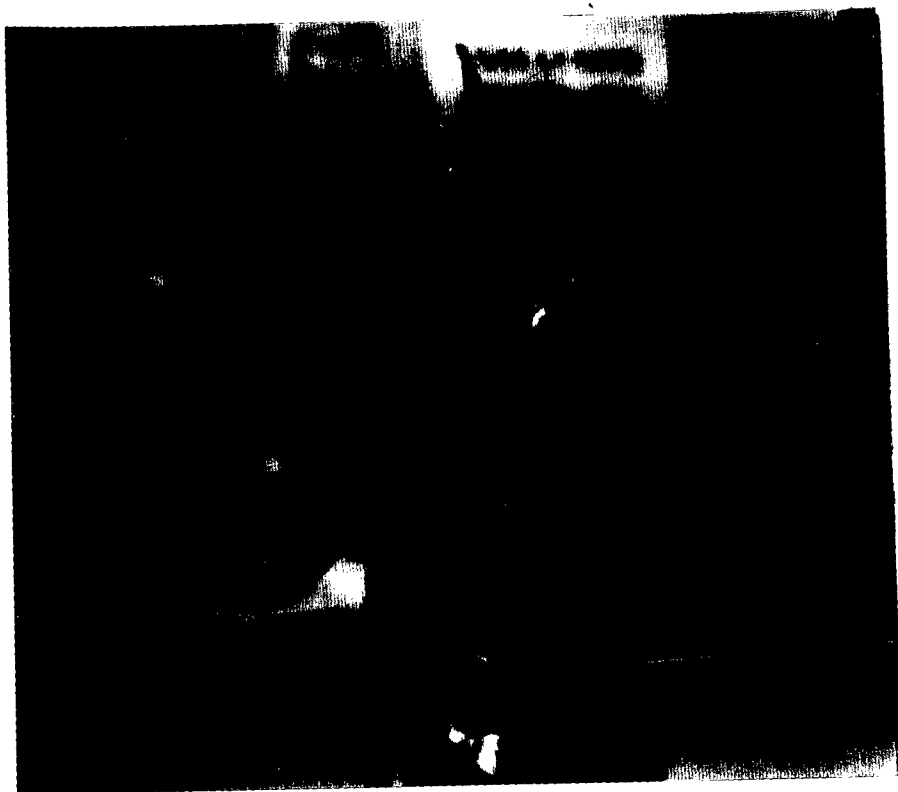


Figura 1. Plantas de *Tradescantias* utilizadas en la prueba

Una de las plantas más utilizadas para el estudio de mutaciones somáticas es la *Tradescantia*, la cual se propaga vegetativamente y se puede mantener en condiciones de invernadero floreciendo por largos periodos de tiempo. Esta prueba utiliza los cambios de color en células de las partes florales como criterio para determinar mutación (Mericle y Mericle, 1967). Se utiliza la condición heterocigótica (Aa) en la que se expresa el color azul de las flores como dominante, pudiendo expresar el carácter rosa como recesivo (Mericle y Mericle, 1967),

En *Tradescantia* es común emplear los pelos estaminales para evaluar mutagenicidad y el sistema ha demostrado una gran sensibilidad tanto con radiaciones X, gamma y neutrones, como con una gran cantidad de sustancias químicas incluyendo pesticidas (Ahmed y Grant, 1972).

Cuando los pelos de los estambres son jóvenes y se encuentran en división celular activa, es la etapa más adecuada para la inducción de mutaciones. Cada pelo estaminal se deriva de una célula epidérmica simple y crece a través de divisiones sucesivas de células terminales y subterminales. En la madurez los estambres muestran un rango de 40-75 pelos cada uno conteniendo arriba de 32 células (el número varía de acuerdo al clon y a las condiciones de cultivo).

## 2.2 Problema ambiental.

A pesar de la impresionante lista acumulada de mutágenos químicos y físicos, se considera que la mayoría de los agentes químicos ambientales comunes investigados no inducen mutaciones, pero existe un conocimiento incompleto respecto de la magnitud y naturaleza de los efectos sobre el ambiente y la salud, relacionados con la manufactura, uso, disposición final y manejo en general de las sustancias químicas. Los principales problemas relacionados con las sustancias químicas están asociadas con el modo de exposición y los riesgos resultantes (Programa Regional de Sustancias Químicas, 1987). Con la acumulación de sustancias químicas en el ambiente aumenta la probabilidad de la exposición del humano a estas durante algún periodo de su vida, incluyendo la gestación (Vega, 1985), por lo tanto el uso de indicadores biológicos se hace necesario para evaluar la calidad del ambiente (Goldstein, 1972).

Hasta la fecha existe evidencia de carcinogenicidad en el humano para varios millares de sustancias y mezclas complejas de compuestos o procesos industriales (IARC, 1987), en su mayoría, se trata de carcinógenos ocupacionales y de fármacos empleados en la quimioterapia del cáncer, los cuales por lo general (salvo en casos en los que no han podido reproducirse el modelo de exposición humana), son capaces de inducir cáncer en animales de experimentación (Shelby, 1988). La concentración de las sustancias contaminantes en cada región depende de las características socioeconómicas que en ellas prevalecen.

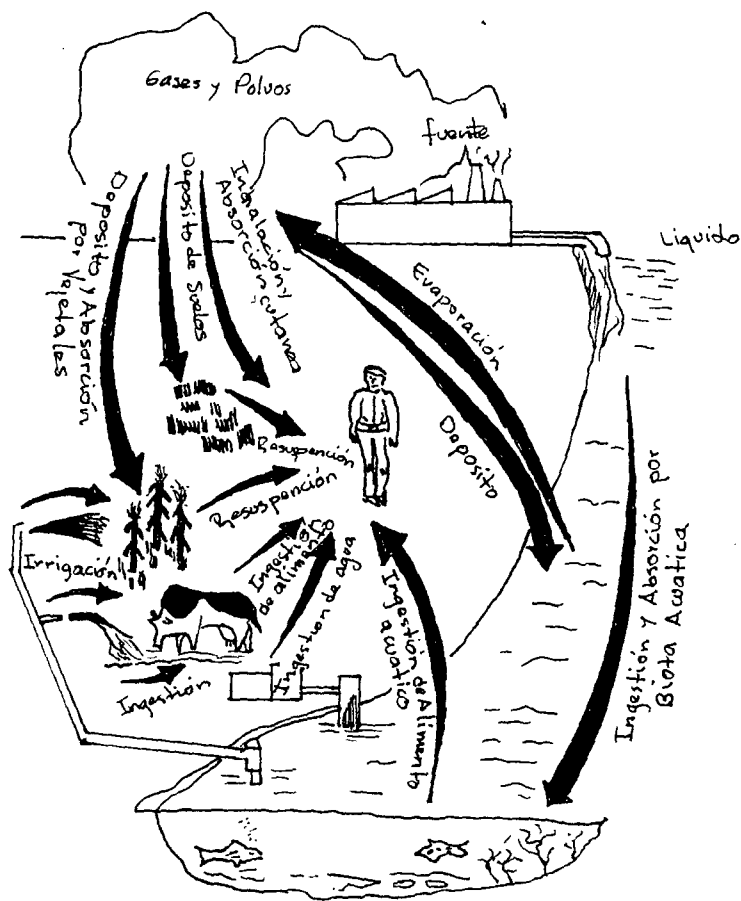
El movimiento de un contaminante a través del aire, tierra y bióta, así como sus interacciones y modificaciones en cada uno de estos ámbitos, son procesos complejos y pocos estudiados. Como se sabe solo para algunos contaminantes se conocen parte de sus ciclos en los ecosistemas.



Los contaminantes del aire, agua, y suelos son un riesgo para el hombre, debido a su incorporación a los alimentos y las cadenas alimentarias (Figura 2).

Las sustancias químicas ingresan en el medio ambiente y al humano a través de vías complejas e interrelacionadas

Algunas de ellas como los fertilizantes, plaguicidas y herbicidas (Cuadro 1) ingresan en el medio ambiente como resultado de su aplicación directa otras, como los óxidos de nitrógeno y los hidrocarburos aromáticos policíclicos aparecen en los procesos de combustión. Una tercera fuente de sustancias químicas son los afluentes resultantes de la fabricación, transporte y consumo de casi todos los productos utilizados por la sociedad moderna (Molina, 1990). En muchos procesos de fabricación se generan subproductos y residuos transportados por el aire y las aguas que a veces resultan más tóxicos que las materias primas, una vez que han ingresado en el medio ambiente (OMS, 1990).



**Figura 2. Medio de dispersión y vías de transferencia de los contaminantes ambientales**

<b>Nombre Común</b>	<b>Otro Nombre</b>	<b>Nombre Común</b>	<b>Otro Nombre</b>
<b>Bentazon</b>	<b>Basagran</b>	<b>Endosulfan</b>	<b>Tiodan</b>
<b>Bromacil</b>	<b>Hyvar</b>	<b>Flumeturon</b>	<b>Cotoran</b>
<b>Cianuro de calcio</b>	—	<b>Folex</b>	<b>Merfos</b>
<b>Carbaril</b>	<b>Sevin</b>	<b>Metalocloro</b>	<b>Dual</b>
<b>Carbofenotion</b>	<b>Triton</b>	<b>Metribusin</b>	<b>Sencor</b>
<b>Bisulfato de carbón</b>	—	<b>Molinete</b>	<b>Ordram</b>
<b>2,4-D</b>	<b>Many</b>	<b>Naftalan</b>	<b>Alanap</b>
<b>2,4-DB</b>	<b>Mutoxone</b>	<b>Pebulate</b>	<b>Tilam</b>
<b>Dimetón</b>	<b>Systox</b>	<b>Prometon</b>	<b>Paramitol</b>
<b>Dialiflor</b>	<b>Torak</b>	<b>Propanil</b>	<b>Propanez</b>
<b>Dicamba</b>	<b>Banvel</b>	<b>Propargite</b>	<b>Omite</b>
<b>2,4-dinitrofenol</b>	<b>Chemox PE</b>	<b>Sharan</b>	<b>OMPA</b>
<b>4,6-dinitro-p-cresol</b>	<b>DNOC</b>	<b>Simazine</b>	<b>Princep</b>
<b>2,4-DP</b>	<b>Diclorop</b>	<b>Tiobencarb</b>	<b>Bolero</b>
<b>Diurón</b>	<b>Karmex</b>	<b>Vernolate</b>	<b>Vernam</b>

**Cuadro 1. Pesticidas de uso restringido, California-EPA**

### 2.2.1 Agentes Físicos.

Los agentes físicos se consideran importantes porque son capaces, en general, de producir variaciones estructurales en los cromosomas. A continuación mencionaremos algunos de estos.

*Rayos X.* El descubrimiento de los rayos X fué efectuado por Muller en 1927. El descubrió un incremento en la frecuencia de mutación proporcional a la dosis de exposición (Mc Nulty *et al*, 1974) y desde entonces se han venido acumulando datos sobre la inducción de mutaciones génicas y variaciones estructurales por agentes físicos, siendo la mosca *Drosophila melanogaster* el material que se ha usado con más frecuencia (Lindsley y Grell, 1968).

*Rayos ultravioleta.* Los rayos ultravioleta (UV) también inducen la formación de mutaciones. Gran número de los mutantes obtenidos en *Neurospora* y en diversas levaduras, se han provocado por medio de los UV, además de que producen más mutaciones aparentes en relación con los letales y en menos variaciones estructurales detectables que otros, esto es debido a que afecta fundamentalmente a la piel en donde produce las formaciones de tumores (Lí y Loretz, 1991).

*Ondas ultrasónicas.* También las ondas de ultrasonido han resultado capaces de inducir mutaciones. Estudios preliminares han demostrado que una frecuencia de 400 000 vibraciones por segundo producen mutaciones letales aparentes en *Drosophila*, así como variaciones estructurales en los cromosomas somáticos de varias plantas (Michaelson, 1982).

### 2.2.2 Agentes Químicos.

La demostración de que un compuesto químico puede provocar alteraciones fisiológicas y también a nivel del ADN es generalmente tomado como evidencia suficiente para ser considerado como riesgo mutagénico potencial o carcinogénico. Tales alteraciones son estudiadas por varios o diferentes sistemas de detección. Estos sistemas pueden detectar alteraciones en el genoma (mutaciones puntuales, deleciones, amplificaciones de genes o rearrreglos). De los muchos compuestos químicos de los cuales se tiene datos sobre su peligrosidad e incluso son utilizados como testigos positivos en diferentes bioensayos, se presentan algunos.

*N-Nitrosaminas.* La exposición a este compuesto químico ocurre concretamente a través del consumo de alimentos, tabaco, el contacto con cosméticos y algunos productos de goma, además de calmantes para niños. Esta reacción proviene del efecto catalizador de ácidos estomacales y la intervención de las bacterias presentes en la flora normal. La N-Nitrosamina resulta mutagénica en numerosos sistemas de prueba y carcinogénica en diferentes variedades y especies de plantas.

*Carbamatos.* Gran número de químicos agrícolas han sido clasificado dentro de los carbamatos, ésteres y derivados del ácido carbámico, aunque los ditiocarbamatos manifiestan mayor actividad mutagénica en este grupo. El que mayor actividad ha presentado es el etil carbamato uretano; este agente se ha usado como anestésico de tejidos, en los procesos de elaboración de cerveza, como conservador en jugo de naranja y en cigarrillos, a pesar de que se ha demostrado químicamente que el etil carbamato es mutagénico.

✓

*Hidrazinas.* Estas se usan en la industria como un producto intermedio, propulsor y como agente quimioterapéutico, en otras ocasiones como aditivos. Algunas hidrazinas se producen naturalmente por ejemplo en el tabaco y en algunos hongos comestibles. Aunque la más pequeña cantidad de hidrazina se ha visto que es tumorigénica en animales, por su capacidad de producir mutaciones, comúnmente es usado en pruebas de corto plazo para identificar algunas variables. Este agente es potencialmente mutagénico al ADN ya que el daño es claramente producido por las hidrazinas.

*Arlaminas y arilamidas.* Las arlaminas han estado entre los primeros químicos carcinogénicos reconocidos. A principios de siglo, estudios epidemiológicos indicaron que la exposición a 2-naftilamina, benzidina y 4-aminobifenilo en ciertas actividades ocupacionales provoca cáncer de la vejiga. Además, en este caso está implicada la activación metabólica de procarcinógenos y promutágenos.

### 2.3 Sustancias Mutagénicas.

Se calcula que en la actualidad una persona normal se encuentra expuesta a aproximadamente 30 000 compuestos químicos de uso común en su vida cotidiana (CHAS, 1976). Algunas sustancias provocan daño a nivel fisiológico bloqueando o alterando determinados procesos vitales. La acción fisiológica específica es interesante y con frecuencia pueden preverse sus efectos. Las sustancias químicas también pueden ocasionar daño a nivel genético. Si el daño ocurre en células somáticas la célula muere o se transforma en una célula cancerosa. Si el daño ocurre a nivel de los gametos este es manifestado en las generaciones posteriores (Clive *et al.*, 1983). La mutación puede ser de tres tipos; a) puntual, en la cual existe alteración de una o más bases del ADN, b) cromosómica, en este tipo el daño se manifiesta por alteración en el número o estructura de los cromosomas y c) daños a nivel de todo el genoma (Higginson, 1975).

Se ha demostrado que muchas sustancias son mutagénicas en diversos organismos, pero en la mayor parte de los casos no se conoce su modo exacto de actuar. Recientemente se ha visto que una gran cantidad de sustancias interaccionan con el ADN y parcialmente se conoce su modo de acción, muchas de ellas figuran como ingredientes en mezclas, soluciones, polvos, y demás productos. El interés del estudio de los mutágenos químicos reside sobre todo en la interpretación de la especificidad de acción en efectos que modifican la secuencia de los nucleótidos del ADN (ECE, 1977).

Muchos de estos compuestos se utilizan ampliamente en procesos industriales, otros en cambio se emplean como pesticidas, insecticidas (Cuadro 2, 3 y 4), antibióticos y aditivos de alimentos. Por lo tanto existe una necesidad creciente para identificar sustancias químicas mutagénicas y para garantizar protección contra estos.

Todos los años se descubren varios millares de sustancias químicas nuevas. Aunque la mayoría de estos nuevos compuestos son curiosidades de laboratorio que no llegan a producirse comercialmente, los productos químicos nuevos que ingresan cada año en el mercado suman varios centenares. Aunque no cabe la menor duda de que muchos productos químicos han proporcionado efectos beneficiosos para la humanidad y medio ambiente, algunos, sin embargo, han acarreado perjuicios sin precedentes (Tomatitis *et al.*, 1978).



<b>SUSTANCIAS</b>	<b>FECHA DE LEGISLACION</b>
<b>Asbesto</b>	<b>Junio 07-1972 (reg. fed. 11318)</b>
<b>2-Acetelaminofluoreno</b>	<b>Enero 29-1947 (reg. fed. 3756 )</b>
<b>Alfa-naftilamina</b>	
<b>4-Aminobifenilo</b>	
<b>Bencidina</b>	
<b>Beta-naftilamina</b>	
<b>Beta-propiolactona</b>	
<b>3,3-diclorobencidina</b>	
<b>4-Dimetilaminobenceno</b>	
<b>Eter bosclorometilico</b>	
<b>Eter clorometilmetilico</b>	
<b>4,4-metilen-bis(2-cloroanidina)</b>	
<b>4-Nitrobifenilo</b>	
<b>N-Nitrosodimetilamina</b>	
<b>Cloruro de vinilo</b>	<b>Octubre 4-1974 (39 reg. fed. 35890)</b>
<b>Emissiones de onda hulla</b>	<b>Octubre 22-1976 (41 reg. fed. 46741)</b>

**Cuadro 2. Sustancias reconocidas como cancerígenas en E.U.A.**

<b>AGENTE QUIMICO</b>	<b>TIPO PRINCIPAL DE EXPOSICION</b>	<b>ORGANO BLANCO</b>	<b>VIA PRINCIPAL DE EXPOSICION</b>
<b>Aflatoxina</b>	<b>Ambiente y ocup.</b>	<b>Hígado y vejiga</b>	<b>Oral y respiratorio</b>
<b>4-Aminofenil</b>	<b>Ambiente y ocup.</b>	<b>Vejiga</b>	<b>Oral, cutáneo y resp.</b>
<b>Der. del arsénico</b>	<b>Ambiente y ocup.</b>	<b>Hígado,piel y pulmón</b>	<b>Oral, cutáneo y resp.</b>
<b>Asbestos</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Piel y vejiga</b>	<b>Respiratorio y oral</b>
<b>Auramina</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Vejiga</b>	<b>Oral, cutáneo y resp.</b>
<b>Benceno</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Sistema hemático</b>	<b>Respiratorio y cutáneo</b>
<b>Bencedina</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Vejiga</b>	<b>Respiratorio y cutáneo</b>
<b>Eter bicloro metílico</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Respiratorio</b>
<b>Cadmio</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Prostata y pulmón</b>	<b>Respiratorio y oral</b>
<b>Cloranfenicol</b>	<b>Medicinal</b>	<b>Sist. hematopoyetico</b>	<b>Parenteral y oral</b>
<b>Eter cloro metílico</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Inhalación</b>
<b>Derivados del cromo</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Pulmón y cav. nasal</b>	<b>Inhalación</b>
<b>Ciclotusfamida</b>	<b>Medicinal</b>	<b>Vejiga</b>	<b>Inyección y oral</b>
<b>Dietilestilbestrol</b>	<b>Medicinal</b>	<b>Útero</b>	<b>Oral</b>
<b>Minería de hematita</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Respiratorio</b>
<b>Aceites isopropiles</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Cavidad nasal y laringe</b>	<b>Respiratorio</b>
<b>Níquel (refinería)</b>	<b>Ocupacional</b>	<b>Cavidad nasal</b>	<b>Inhalación</b>

**Cuadro 3. Agentes químicos asociados con la inducción de cáncer en humanos**

<b>INSECTICIDAS</b>	<b>FUNGICIDAS</b>	<b>HERBICIDAS</b>	<b>FUMIGANTES</b>
<b>Anidro</b>	<b>Captafol</b>	<b>Acetocloro</b>	<b>DBCP</b>
<b>Arsénico</b>	<b>Captan</b>	<b>Acifluorfen</b>	<b>EDB</b>
<b>Cadmio</b>	<b>Clorotalonil</b>	<b>Alacloro</b>	<b>Dicloropropano</b>
<b>Clordano</b>	<b>Folpet</b>	<b>Amitroles</b>	<b>Dicloropropeno</b>
<b>Clorodimerform</b>	<b>Hexaclorobenzeno</b>	<b>Oxadiazon</b>	<b>Felone II</b>
<b>DDT</b>	<b>Maneb</b>		
<b>Diclorvos</b>	<b>Mancozeb</b>		
<b>Dieldrin</b>			
<b>Heptacloro</b>			
<b>Propoxur</b>			

**Cuadro 4. Pesticidas que se sabe o se sospecha que causan cáncer, E.P.A.-Federal**

## 2.4 Pruebas o Bioensayos.

Los estudios epidemiológicos aportan evidencia respecto a que un agente induce mutaciones heredables en humanos, sin embargo, es difícil obtener tales datos, debido a factores como: variabilidad genética humana, número reducido de hijos, tiempos prolongados entre las generaciones etc., por lo tanto, en ausencia de datos epidemiológicos es apropiado atenerse a datos en sistemas experimentales sobre animales, siempre que estén claramente expresados en las limitaciones (diferencias en el metabolismo y en los sistemas de reparación del ADN) (Williams, 1981). El propósito de la evaluación biológica de las sustancias químicas es el de ofrecer un enfoque cualitativo y cuantitativo para decidir si un mutágeno identificado experimentalmente es también efectivo en cualquier ser vivo incluyendo poblaciones humanas, y de ser posible, determinar si es más o menos activo en humanos que en animales de laboratorio (Clayson, 1987).

En muchos países se ha establecido el requisito de ensayo agudo de corto plazo y crónico de largo plazo, así mismo, se han fijado normas y niveles de tolerancia, y se elaboran listas de compuestos permitidos y prohibidos (Winegar y Preston, 1988).

En los últimos años se desarrollaron una serie de bioensayos de tiempo corto para la observación de cambios genéticos de tiempos cortos para varios usos como son: 1) búsqueda de productos ambientales con actividad carcinogénica; 2) identificación de carcinógenos en fluidos y sus cuerpos; 3) entendimiento de los mecanismos de activación química de carcinógenos y sus reacciones con el ADN y; 4) predicción de carcinogenicidad en sustancias químicas, este último es el más importante, porque su interpretación es difícil. Generalmente para afirmar que una sustancia química es carcinogénica se requieren de dos o tres bioensayos.

Ya que actualmente se cuenta con sistemas de prueba que pueden añadir información acerca del potencial mutagénico de un compuesto en estudio con respecto a varios daños genéticos. Recientemente estas pruebas han sido evaluadas a través de varios programas.

Los sistemas de prueba para detectar daños mutacionales incluyen a bacterias, microorganismos eucariontes y procariotes, plantas superiores, insectos, cultivos de células somáticas y germinales de mamíferos (EPA, 1988a).

#### 2.4.1 Sistema de prueba microbiano.

Los microorganismos fueron los primeros en utilizarse en genética toxicológica. El ensayo de reversión de histidina en *Salmonella typhimurium* (prueba de alelos) fué el primero usado para correlacionar mutagenicidad y carcinogenicidad (Ashby y Tennant, 1988). Son tres los bioensayos más utilizados con microorganismos; a) reversión de histidina en *Escherichia coli*; b) reversión de histidina *Salmonella typhimurium* y; c) ensayos en *Sacharomyces cereviseae*, basados en la acumulación de pigmentos rojos en la cepa.

Las dos primeras son usadas para medir la dirección de la mutación que conduce a la reversión de las cepas especialmente construidas que requieren histidina. En cuanto al tercero en *Sacharomyces cereviseae*, las cepas ADE1 y ADE2, forman colonias blancas cuando hay poco suplemento de adenina. Cuando estas cepas mutan en los genes ADE1 y ADE2 la levadura forma colonias blancas.

#### **2.4.2 Sistema de prueba en células de mamíferos.**

Debido a la diferencia en la organización y complejidad del genoma se han utilizado células de animales para complementar los ensayos en microorganismos con células de mamíferos cultivadas, virtualmente todos los mecanismos de mutación pueden ser estudiados (mutación en un gen, aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas etc.). La observación del cariotipo es la forma más simple para detectar mutaciones de tipo numérico y/o estructural.

#### **2.4.3 Sistema de prueba en roedores.**

El empleo de animales para identificar agentes carcinogénicos y estudiar sus mecanismos de acción surgió como una opción para corroborar las observaciones clínicas y epidemiológicas, indicativas de la participación de factores ambientales en el desarrollo del cáncer en el humano. Fué así, que en un inicio se investigó y confirmó que el pincelamiento de la piel con alquitranes podría desencadenar la acción y la aparición de carcinomas en conejos (Farber y Tennant, 1988).

#### **2.4.4 Sistema de prueba en insectos.**

La prueba de Letales Recesivos Ligados al Sexo (LRLS) en la mosca *Drosophila melanogaster* es uno de los bioensayos más utilizados y surgió por la necesidad de abaratar los costos en pruebas de mutagenicidad ya que por otros sistemas de prueba resultan muy costosos.

La prueba de LRLS se basa en la proporción de hembras y machos de la F2 obtenidos después de la generación parental que fué sometida a un tratamiento, en este caso se utilizan hembras de la línea CIB (C= inversión cromosómica, I= gene dominante y B= marcador ojo en barra).

#### 2.4.5 Sistema de prueba de Mutación y Recombinación Somática (SMART).

Este sistema también utiliza la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* ha demostrado ser eficiente para identificar compuestos genotóxicos de diversa naturaleza química. Ya que es evidente la necesidad de contar con métodos estadísticos para el análisis de resultados, particularmente para agentes químicos que producen efectos letales. (Graf, 1994).

#### 2.5 *Tradescantia L.*

Es una planta de la familia de las commelinaceas y es monocotiledonea, a la que pertenecen plantas herbáceas y perennes además de ser con frecuencia viváceas, con tallos nudosos, varias hojas, son anuales o de corta vida, muy persistentes, raíces fibrosas, el perianto es completo con cáliz y corola, tiene hasta seis estambres con filamentos muchas veces revestidos con pelos (los cuales proporcionan el material para el estudio mutagénico), todos fértiles y ovario súpero bío o más a menudo triovulado, el fruto es una cápsula que contiene pocas semillas y de frecuentemente de superficie marcada por un retículo.

Hasta ahora conocemos un género de aproximadamente 70 spp ampliamente distribuidas en América, incluyendo 37 especies en México, miembros de este género son encontrados no solo en los trópicos y subtropicos en el norte de México, donde numerosas especies nativas habitan los bosques templados y pastizales hasta cerca de la frontera norte de los Estados Unidos, en donde varias especies ornamentales son ampliamente cultivadas, el conjunto de especies de nuestra area (dos de ellas introducidas), anteriormente se referían a cinco distintos géneros, se refieren a 7 de las 12 secciones del género establecido por Hunt (1980-1986).

*Commelina* y *Tradescantia* son los dos géneros más conocidos de la familia. Algunas especies como son *T. subacaulis* y *T. hirsutiflora* forman un híbrido interespecífico llamado clon 4430. Ya que tiene la característica de poseer pocos cromosomas de gran tamaño, por lo tanto representa un material muy adecuado y útil para estudios de genética experimental.

Esta planta es utilizada como sistema de detección de daño mutagénico en la prueba llamada "prueba de *Tradescantia*", esta consiste en la inducción de sustancias químicas para observar las reacciones que pudieran presentarse y así determinar si la sustancia es capaz de provocar daño nivel genético. Algunos de los tipos de daño son: aberración de cromosomas en varios tipos de raíces, pelos estaminales y en microesporas. También es posible la detección de mutaciones somáticas en pétalos y pelos estaminales.

La gran sensibilidad de *Tradescantia* ha servido para probar el efecto de radiaciones ionizantes y de químicos en forma gaseosa, tales como los oxidantes atmosféricos, pesticidas y algunos químicos comerciales.



### **III MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 Fisiografía del Area de Estudio**

El experimento se realizó dentro del invernadero y laboratorio de la División de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara

\* Dadas las condiciones ambientales controladas no se describen las características agroclimáticas de las Agujas.

#### **3.2 Material genético:**

*Tradescantia* clon 4430

#### **3.3 Materiales químicos:**

Hidrazina maléica

Uretano

N-Nitrosoetilamida

N-Nitrosoetilurea

Azida de sodio

Agua destilada (como testigo negativo)

Acido acético

#### **3.4 Materiales Físicos:**

Vasos de precipitado

Portaobjetos

Pinzas de relojero

Agujas de chaquirá

Microscopio esteroscópico

Bisturíes

### 3.5 Metodología Experimental

En el presente trabajo se utilizó el diseño experimental de Bloques Completos al Azar con cinco tratamientos y tres repeticiones, usándose un solo testigo negativo para todos, la unidad experimental fué de 30 cortes florales por tratamiento, además de un análisis de varianza, un coheficiente de variación y una prueba de medias.

### 3.6 Desarrollo del Experimento

Para esta prueba se utilizó la *Tradescantia* (clon 4430) cuyas plantas se mantuvieron en el invernadero de la División de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara, en bolsas de plástico a temperatura de 25°C (+ -) y con humedad relativa del 60% (Figura 3). Se escogieron 30 plantas de las más vigorosas y con inflorescencias jóvenes por grupo experimental (Cuadro 5) (Figura 4). Después de hacer los cortes de los brotes florales se colocaron en un recipiente con las diferentes concentraciones a probar por tres horas, pasado el tiempo del tratamiento se lavaron con agua corriente por media hora y después se colocaron en otros recipientes con agua destilada. Los brotes que salieron después del sexto día se tomaron para el conteo y los que salieron antes del sexto día no se consideraron. Para la observación de los eventos rosas se hicieron preparaciones poniendo una gota de aceite de parafina extendida en un portaobjetos colocando los seis estambres (3 antisépalos y 3 antipétalos). Bajo un microscopio esteroscópico se peinaron los estambres con una aguja de chaquiras y se contaron los pelos de un antisépalo y de un antipétalo, obteniendo el total al multiplicar la suma por tres. Cada estambre ya peinado se revisó con cuidado buscando mutaciones (eventos rosas).

/

Para cuantificar los eventos se tomó en cuenta el siguiente criterio, una hilera de células rosas en un pelo estaminal así como una célula rosa entre dos azules se consideró como un evento. En el caso de dos células rosas estuvieran separadas por una o varias azules se registró como dos eventos. Se obtuvo la frecuencia de mutación por día dividiendo la cantidad de eventos entre el total de pelos estaminales.

QUIMICO	CONCENT.	Nº DE CORTES	Nº DE PELOS ANALIZADOS	Nº DE EVENTOS ROSAS	FRECUENCIA
Testigo - (agua dest.)	0.0 Mm	30	80551	130	0.001613
Hidrazina Maléica	0.5 Mm	30	17141	254	0.0148182
	1 Mm	30	19517	410	0.0210073
	2 Mm	30	30612	1195	0.039036
N-Nitrosoetil urea	1 Mm	30	25789	68	0.0026367
	3 Mm	30	9988	26	0.0026031
	5 Mm	30	9420	27	0.0028641
Azida de Sodio	1 Mm	30	20941	90	0.0042973
	2 Mm	30	28973	72	0.0024850
	3 Mm	30	15466	46	0.0029742
Uretano	5 Mm	30	15735	43	0.0012531
	10 Mm	30	17544	50	0.0028499
	20 Mm	30	22396	82	0.0036613
N-Nitrosoetil amida	1 Mm	30	18681	41	0.0021947
	6 Mm	30	18285	45	0.0020876
	9 Mm	30	18213	46	0.0024610

Cuadro 5. Concentración de datos utilizados en *Tradescantia*

7670  
Pesta  
10<sup>a</sup> VOSO



BIBLIOTECA CENTRAL



**Figura 3. Plantas de *Tradescantias* mantenidas bajo condiciones ambientales de invernadero**



**Figura 4.** Inflorescencias juvenes de *Tradescantias* óptimas para la prueba

#### IV RESULTADOS

*Uretano*. El efecto del uretano resultó positivo y marcadamente proporcional a la concentración (Gráfica 1). El mayor efecto se alcanza con la concentración de 20 Mm donde la frecuencia de mutación inducida llega a ser de 0.37 por cada 100 pelos estaminales observados, en otras palabras, 3.7 eventos rosas por cada mil pelos estudiados. El efecto del uretano es marcadamente contrastante con el testigo negativo donde la diferencia resultó estadísticamente significativa (Gráfica 1).

*Azida de Sodio*. El efecto de este compuesto resultó positivo a una concentración de 1 Mm pero no así a 2 Mm, sin embargo a la dosis de 3 Mm el resultado fué positivo en relación al testigo negativo (Gráfica 2).

*N-Nitrosoetilamida*. La capacidad de las diferentes concentraciones de este compuesto para provocar daño al material genético es apreciable mostrando un ligero incremento la dosis de 9 Mm. En relación al testigo negativo mostró una diferencia significativa (Gráfica 3).

*Hidrazina Maléica*. Las frecuencias resultantes en las dosis aplicadas (0.5, 1 y 2 Mm) a pesar que son menores en relación a las concentraciones de los diferentes compuestos aplicados, mostraron mayor capacidad mutagénica, por lo que su significancia es sumamente alta (Gráfica 4).

*N-Nitrosoetilurea*. En concentraciones similares este compuesto mostró un efecto mutagénico muy parecido al N-Nitrosoetilamida, en relación al testigo negativo mostró una diferencia estadísticamente significativa (Gráfica 5).

En el cuadro 6 se presenta el análisis de varianza realizado, donde se observa que existen diferencias altamente significativas, es decir que si se producen efectos diferentes (tasa mutacional) por los distintos compuestos químicos utilizados.

En relación al coeficiente de variación este fue de 81.76% el cual se considera muy alto, este se debe a las condiciones ambientales en el que se realizó el experimento, donde se observó el comportamiento o los efectos del medio ambiente influyeron de manera directa en los resultados obtenidos (Cuadro 6).

En el cuadro 7 se presenta la prueba de medias (DMS 0.05) se observa que se formaron dos grupos, detectándose también que la media más alta la presenta la Hidrazina Maléica, siendo diferente a las demás.



FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	5	0.001264	0.000253	9.7519	0.002
BLOQUES	2	0.000062	0.000031	1.1876	0.345
ERROR	10	0.000259	0.000026		
TOTAL	17	0.001585			

C.V. = 81.76%

Cuadro 6. Análisis de varianza utilizado en la prueba de *Tradescantia*

TRATAMIENTO	MEDIAS
5	0.0249 A
3	0.0033 B
6	0.0027 B
4	0.0026 B
2	0.0023 B
1	0.0016 B

**NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05%**

**DMS = 0.0093**

**Cuadro 7. Comparación de medias utilizadas en *Tradescantia***

## V DISCUSIONES

La evidencia de que un agente induce mutaciones genéticas en los seres vivos incluyendo a los humanos proviene en muchas ocasiones de datos epidemiológicos que indican una fuerte relación entre la exposición a sustancias y los efectos heredables. Ya que es difícil obtener tales datos porque las mutaciones específicas son infrecuentes, se recurre entonces a los bioensayos o sistemas de prueba para la detección de daño genético provocado por agentes físicos o químicos.

Los bioensayos nos permiten obtener datos de las actividades mutagénicas de diversos agentes, en otras palabras, nos pueden ayudar a conocer el riesgo genético que representa un agente antes que de ocurra un daño, pero solo unos cuantos han mostrado viabilidad y efectividad entre los que destaca la prueba de *Tradescantia*. La prueba de *Tradescantia* es un sistema reciente que ha demostrado gran efectividad, rapidéz y sencilléz.

Los resultados muestran que la prueba de *Tradescantia* posee un alto grado de eficacia para detectar el daño genético inducido por diferentes mutágenos. El uretano ha sido reportado como mutágeno en diversas pruebas. El presente estudio confirma lo antes mencionado, ya que presenta un comportamiento casi similar entre las dosis y el número de mutaciones producidas.

El N-Nitrosoetilurea, también reportado como mutágeno, presentó una elevada actividad mutagénica incluso en dosis menores a las del uretano.

El N-Nitrosoetilamida a pesar de estar reportado en la literatura como mutágeno en la prueba de *Tradescantia* no presentó gran actividad sino hasta una concentración de 9 Mm, probablemente tal actividad se incrementa en dosis superiores.

Al trabajar con la Azida de sodio, los resultados fueron positivos ya que indican que es mutagénica, pero datos recientes en pruebas con *Drosophila melanogaster* revelan que es letal para larvas tratadas, pero no así con *Tradescantia* ya que es capaz de provocar daño al material genético (datos no publicados).

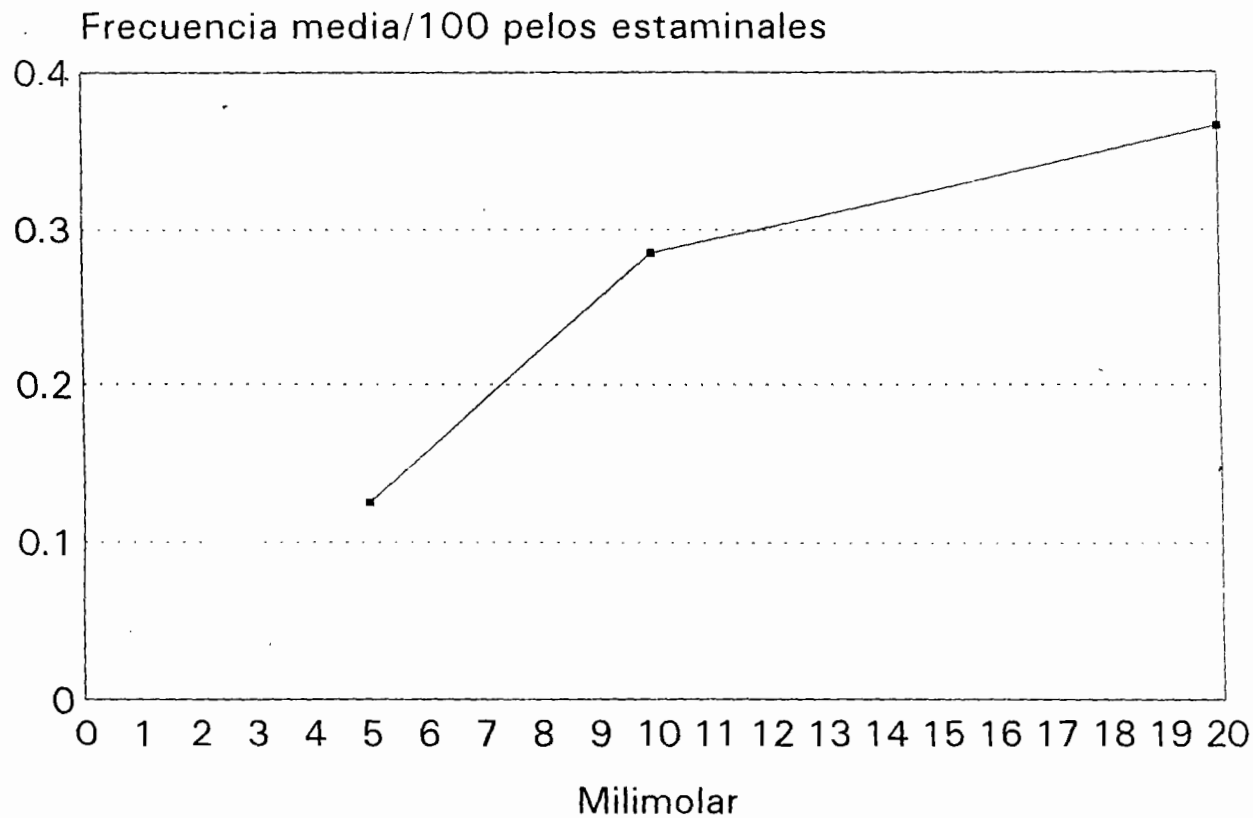
La Hidrazina Maléica (HM) ha sido reportada como altamente mutagénica en sistemas de pruebas vegetales pero estudios recientes muestran que no muestra mayor efecto en *Drosophila melanogaster*. Con los resultados obtenidos en la prueba de *Tradescantia* se corrobora lo mencionado en la literatura, por lo que se concluyó que si es mutagénico en plantas. No podemos asegurar que HM sea mutagénica en el hombre pero tampoco podemos descartarlo.

Los compuestos químicos estudiados y analizados en comparación a un testigo negativo (agua destilada) para la correlación de los mismos en cuanto a los resultados obtenidos siendo así el uretano quien mostró efecto mutagénico mayor, no siendo igual con el N-Nitrosoetilamida y el N-Nitrosoetilurea que mostraron gran similitud entre sí, pero pocos daños al material genético. La Azida de Sodio mostró en la primera dosis una frecuencia de 0.42 eventos rosas por cada 100 pelos estaminales estudiados pero a mayor dosis la frecuencia aumentó, la Hidrazina Maléica en comparación con los otros compuestos fué la que presentó frecuencias más altas por lo que es diferente estadísticamente en relación al testigo negativo, siendo la más contrastante de los compuestos químicos probados (Gráfica 6).

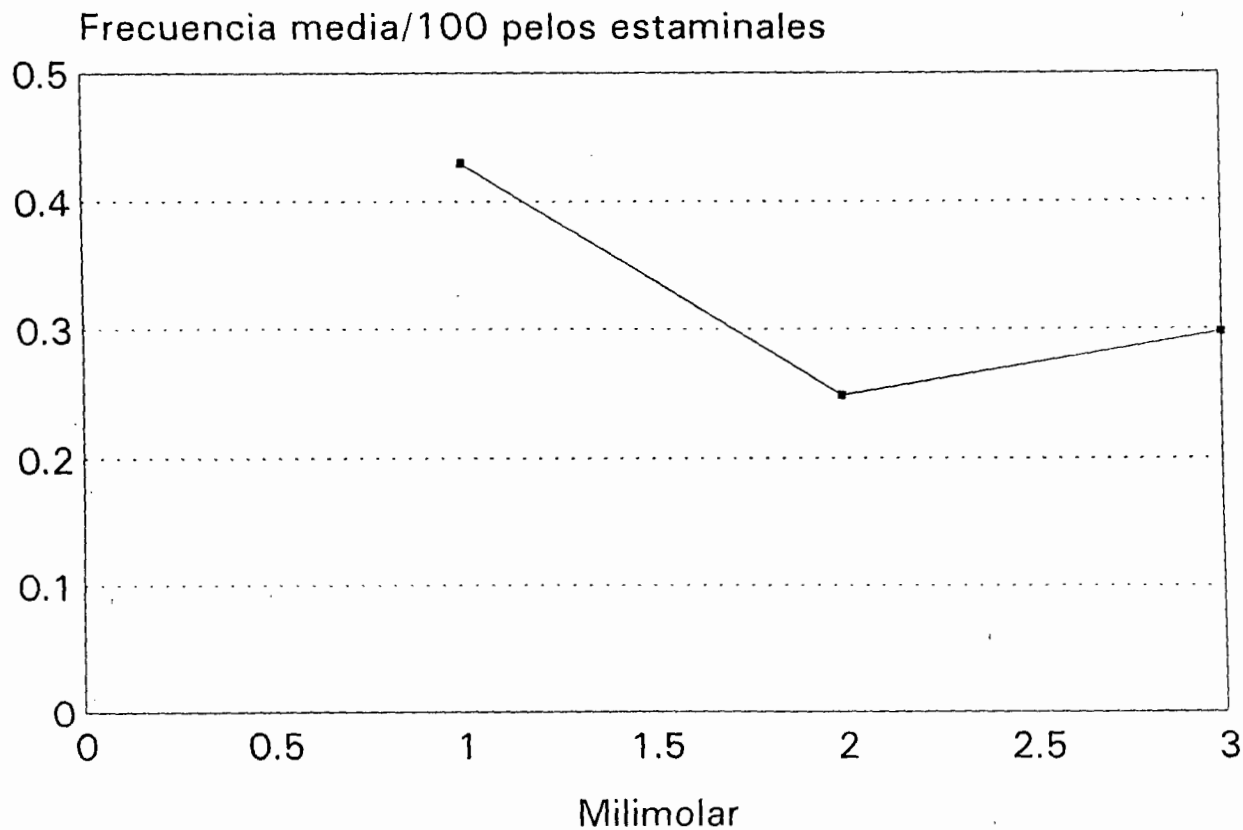
La prueba de *Tradescantia* es una excelente herramienta para detectar el daño genético producidos por los compuestos químicos mutagénicos. Además de lo anterior existen otras ventajas que se observaron y que permiten utilizar la prueba de *Tradescantia* en forma rutinaria como son; a) barata; se requiere solo de un mínimo indispensable de equipo y de material de laboratorio, además, las plantas pueden ser cuidadas en un invernadero; b) rápida; con esta prueba es posible obtener resultados en tan solo 2 -3 semanas ya que el efecto de los mutágenos es observado directamente sobre las plantas tratadas; c) eficaz; ya que la sensibilidad mostrada es contundente.

Aunque los resultados obtenidos por la prueba de *Tradescantia* son confiables resulta indispensable probarlo en otro bioensayo simultáneamente para incrementar el grado de certeza.

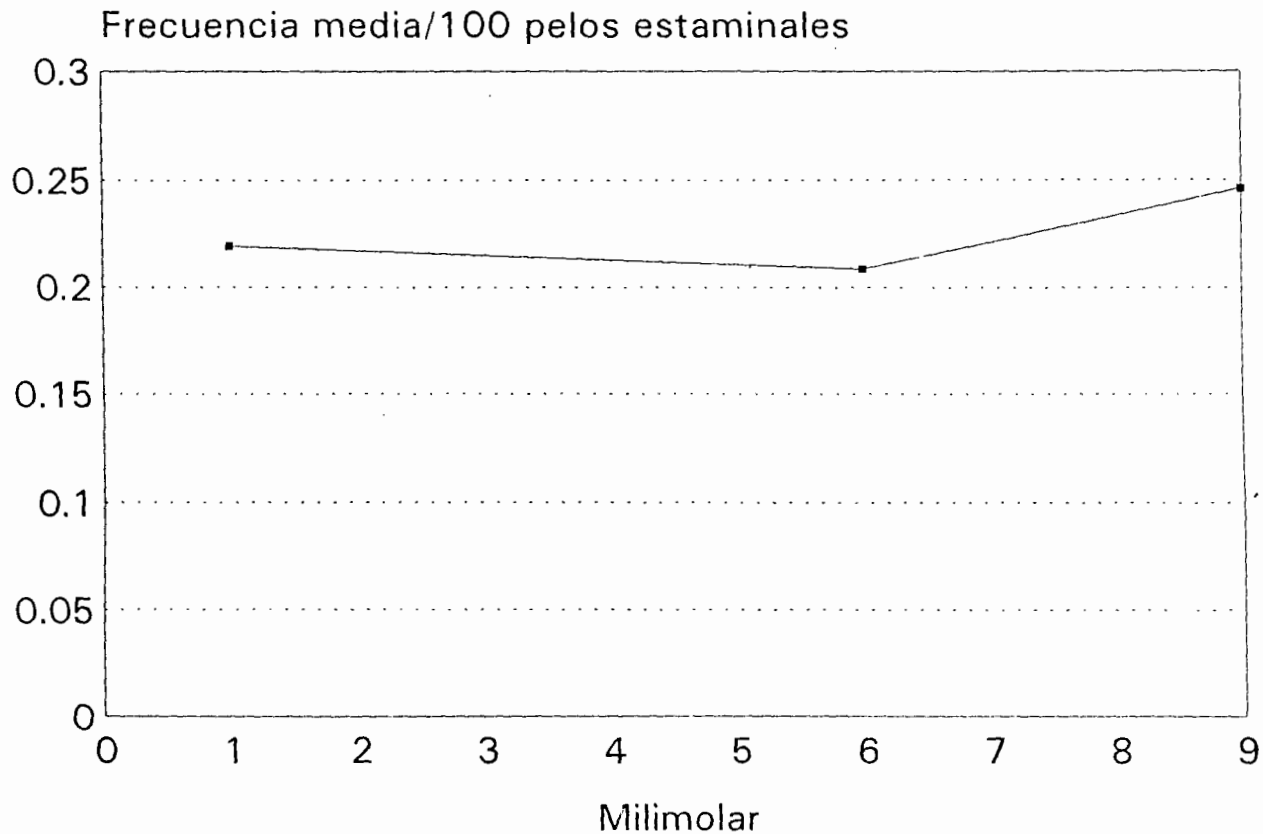
# GRAFICA 1. CURVA DE DOSIS RESPUESTA *Tradescantia*-URETANO



## GRAFICA 2. CURVA DE DOSIS RESPUESTA *Tradescantia*-AZIDA DE SODIO

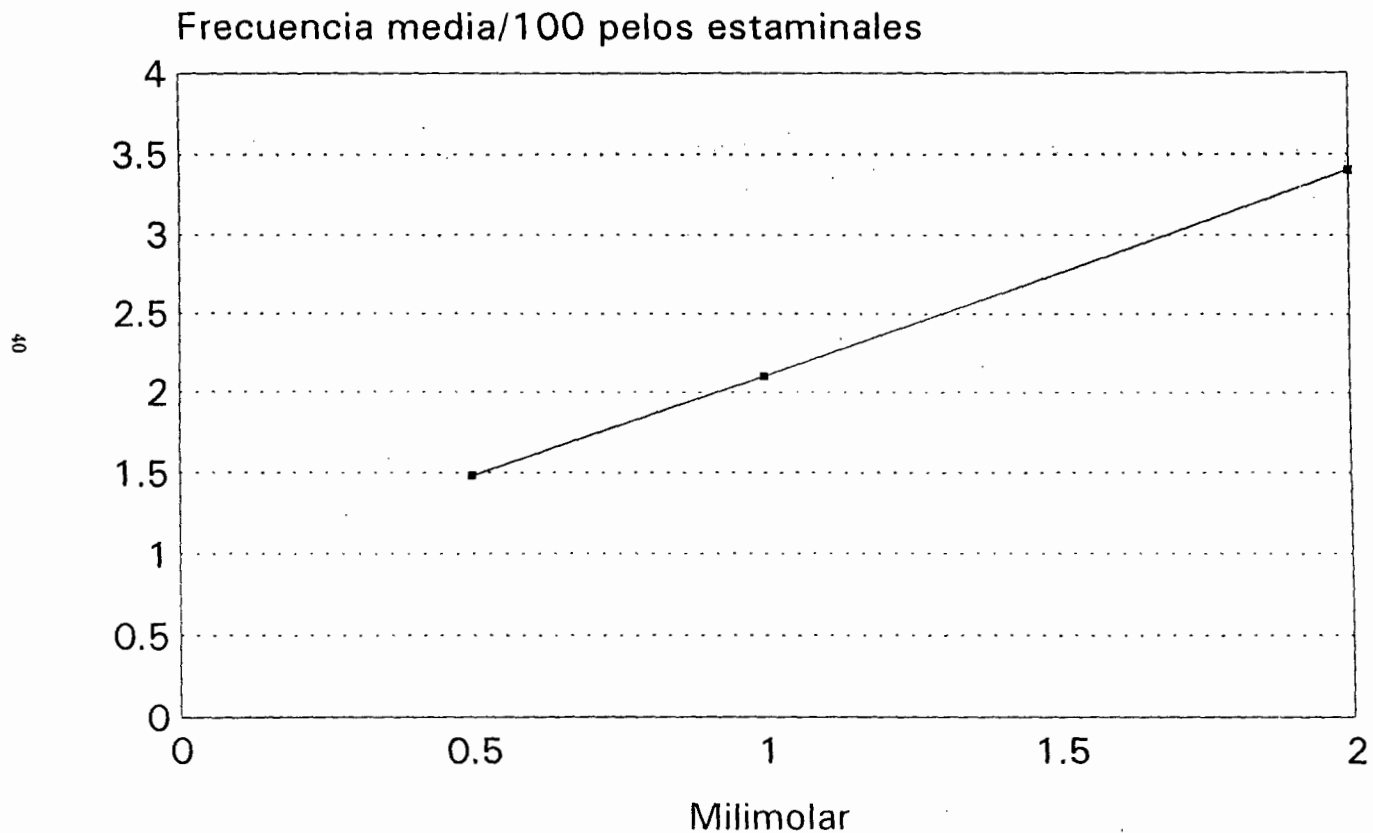


GRAFICA 3. CURVA DE DOSIS RESPUESTA *Tradescantia*-N-NITROSOETILAMIDA

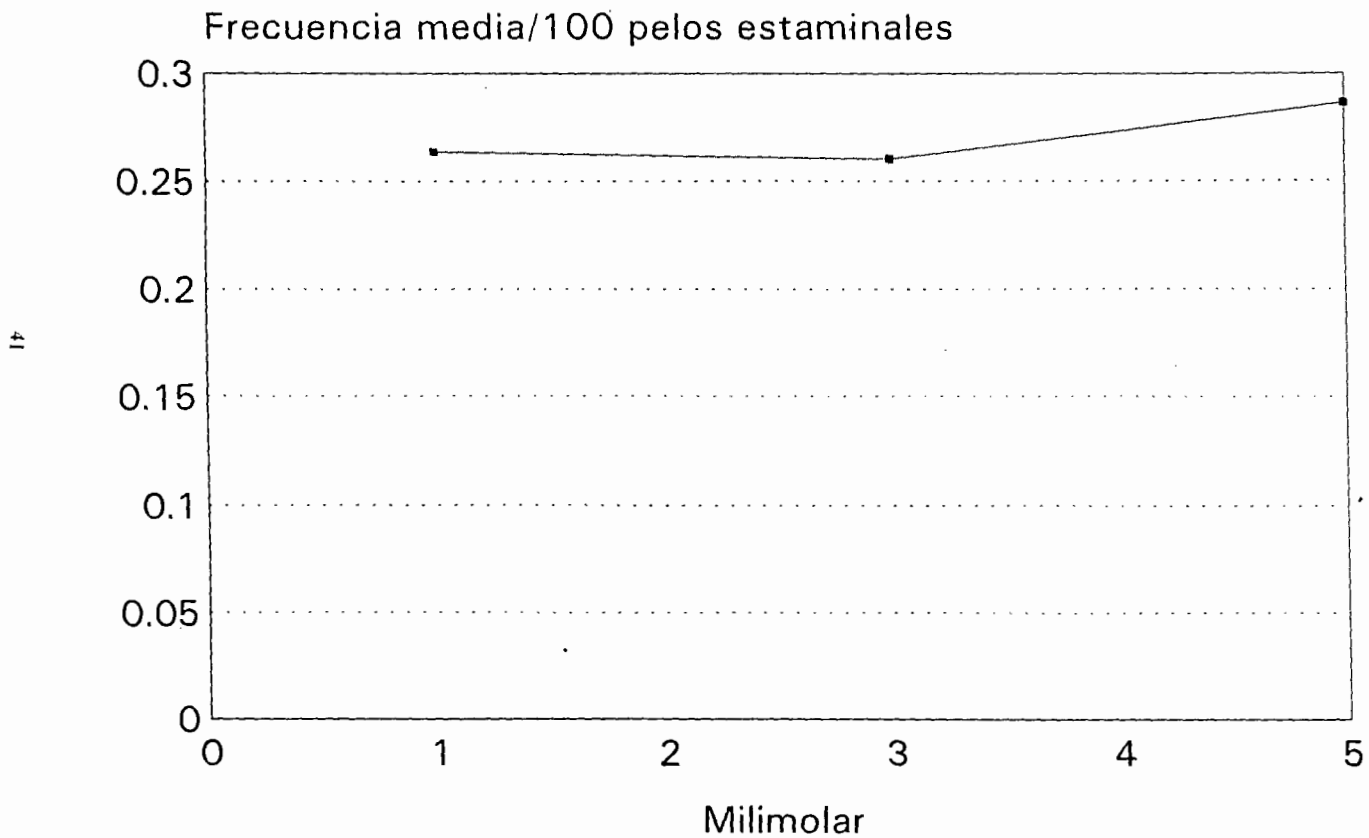




GRAFICA 4. CURVA DE DOSIS RESPUESTA *Tradescantia*-HIDRAZINA MALEICA

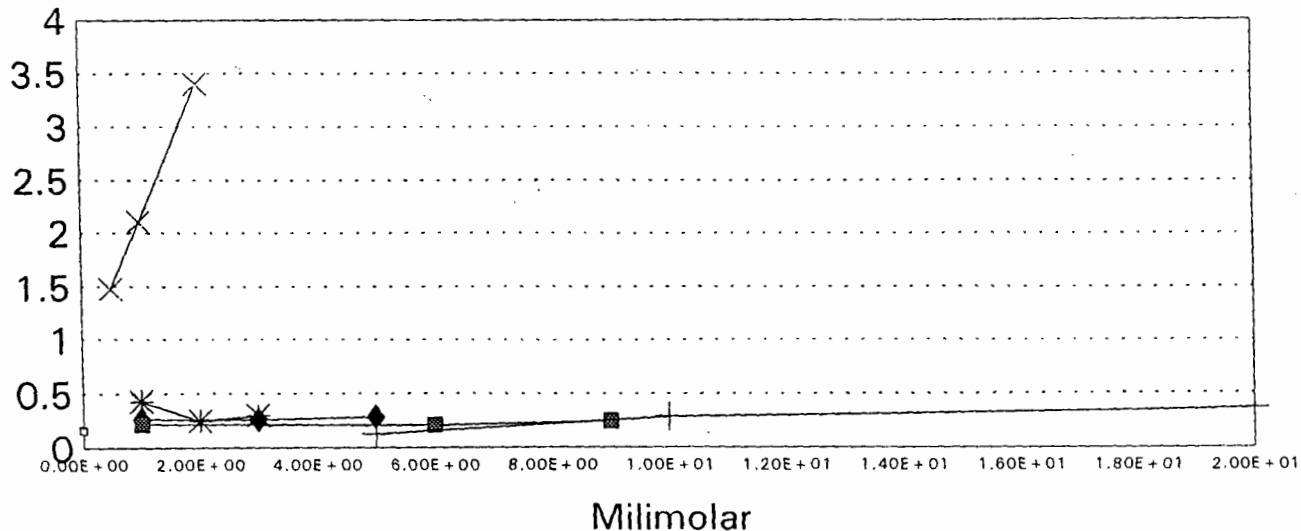


GRAFICA 5. CURVA DE DOSIS RESPUESTA *Tradescantia*-N-NITROSOETILUREA



# GRAFICA 6. CURVA DE RESPUESTA RESUMEN-*Tradescantia*

Frecuencia media/100 pelos estaminales



○ TESTIGO-

\* AZIDA DE SODIO

\* HIDRAZINA MALEICA

+ URETANO

■ N-NITROSOETILAMIDA

◆ N-NITROSOETILUREA

#### IV CONCLUSIONES

1.- La prueba de *Tradescantia* es un bioensayo confiable para la detección de cambios genéticos provocados por diversos agentes químicos y físicos encontrados en el medio ambiente.

2.- La capacidad de detección del daño genético con *Tradescantia* puede variar según la naturaleza de los agentes químicos y físicos, de ahí que se recomienda usar la prueba de *Tradescantia* y otro bioensayo más.

3.- La prueba de *Tradescantia* tiene enormes ventaja en cuanto a rapidéz, económica y sencilla.

## VII BIBLIOGRAFIA

Ahmed D. y Grant W.F. 1972. Citological effects of the pesticides phosdrin and bladex on Tradescantia and Vicia faba. Can. J.Genetic. Cytol. 14, 157-165.

✓ Albert A. L. 1993. Toxicología Ambiental. Editorial Limusa. México, D. F., 7 p.

Albertini J. R. y Robinson H. S. 1991. Human population monitoring. En: Genetic Toxicology (P.A. Li y R.H. Heflich, ed.). CRC Press, New Jersey, pp 375-420.

Ashby, J. y Tennant, R. W. 1988. Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the U. S. NCI/NTP (MTR 01277). Mutation Res. 204, 17-115.

✓ Aust A. E. 1991. Mutation and cancer. En: Genetic toxicology (P. A. Li y R. H. Heflich, Ed.). CRC Press, New Jersey, pp 93-118.

✓ Badillo J. F. 1990. Plomo. En: Toxicología Ambiental (A. L. Albert, Ed.). Editorial Limusa, México, pp. 105-121.

Chemical Abstracts Service 1976. Informe N°5.

Clive D. R., Spector J. F., Piper C. y Mavourmin K. H. 1983. Specific gen mutation in L5178Y cell in culture. (A report of the U.S. Environmental Protection Agency genotox Program). Mutation. Res. 115, 225-251.

Clayson, D.B. 1987. The need for biological risk assessment in reaching decisions about carcinogens. Mutation Res. 185, 243-269.

✓ De Nava C. C. 1990. Carcinogenesis ambiental En: Toxicología ambiental. (A. L. Albert, Ed.). Editorial Limusa, México D. F., pp. 23-42.

ECE: 1977. Control of the floe toxic sustances throughort the enviromental. ENV/R, pp.69.

✓ EPA 1988a. Evaluación epidemilógica para evaluar riesgos causados por agentes quimicos ambientales, Vol.2, Mextepec, México, pp. 4-9.

✓ EPA 1988b. Guías para evaluar riesgos de mutagenicidad, Vol.3, Mextepec, México, pp. 6-27.

Farber, E. y Tennant R. W. 1988. Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 tested in rodents by the U:S: NCI/NTP (MTR 01277). Mutation Res. 204, 17-115.

Goldstein G. 1972. Biochemical indicators of environmental pollution; En: Indicators of environmental quality. (Thomas W. A. Plenum publishing corporation). New York.

Gómez-Arroyo S., Abarca-Hernández J. C., Cortéz-Eslava J. y Villalobos-Pietrini R. 1989. Sister Chromatid Exchanges Induced by cadmium in Vicia faba. Rev. Int. Contam. Ambient. 3, 55-61.

Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N, Osorio A, Galicia F, Ling S, and Villalobos-Pietrini R. 1992a. Sister Chromatid Exchanges analysis in a rural population of México exposed to pesticides Mutat. Res. 281, 173-179.

Gómez-Arroyo S., Rodríguez-Madrid L. y Villalobos-Pietrini R. 1992b. Chromosomal alterations induced by the thicarbamate herbicide molinate (ordram), in Vicia faba. Rev. Int. Contam. Ambient. 8, 77-80.

Graf U., Delgado Rodríguez A, Villalobos-Pietrini R, Gómez-Arrollo S. (1994). Taller Latinoamericano de Genética toxicológica. Rev. Int. Contam. Ambient. 10, (Suplemento 1), 1-4.

Grant W. F., Zinoveva-Stahevich A. E. y Zurakad 1981a. Plant test systems for the detection of chemical mutagens. En: Short-Term testfor chemical carcinogenesis. Stich H. F. y San R. H. Ed. Springer-Verlay, Berlin, pp.200-216.

Grant W. F., Zinoveva-Stahevich A. E. y Zurkad 1981b. Plant genetic system detection of chemical mutagens, Chemical sustances tested in mammalian cell cultures. Mutat. Res. 195, 151-213.

Grimmer G. 1983. Chemestry. En: Enviromental Carcinogens. (G. Grimmer, Ed.). Boca Ratón, Florida, pp.200-216.

Heflich H. R. 1991. Chemical mutagens. En: Genetic toxicology. (Li P. A., Heflich R. H. Ed.). CRC Press, New Jersey, Pp. 143-202.

Higginson J. 1975. Cancer etiology and prevention. En: Persons at high risk of cancer. (J. F. Fraumeni Ed.). Academic Press, New York, pp. 385-396.

IARC. 1987. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Monographs, volumes 1to42, Supplements 7, WOH, France.

Lí A. P. y Loretz L. J. 1991. Assay genetic. En: Genetic toxicology. (P. A. Lí, R. H. Heflich, Ed.). CRC. Press, New Jersey, pp. 119-142.

Lindsley D. L. y Grell E. H. 1968. Genetic variation of the Drosophila melanogaster. Carnegi Instit. Public. 627, 1-62 p.

Mc Nulty P. J., Sparrow A.H., H. Scheemmer S. S. Y Sharler L. A. 1974. Influence of X-ray dose fractionation on the frequency somatic mutations induced in Tradescantia stamen hairs. Mutat. Res. 44, 235-246.

Mericle M. W. y Mericle R. P. 1967. Genetic nature of somatic mutation of flower color in Tradescantia clon 02. Rad. Bot. J., 449-464.

Michaelson, S. M. 1982. Microwave and radiofrequency radiation. En: M. J. Suess ed.), European Series N° 10. Nonionizing Radiation Protection. World Health Organization Copenhagen: pp, 97-174.

Molina A. M. 1990. Contaminantes atmosféricos primarios. En: Toxicología ambiental. Vol. 2, (A. L. Albert, Ed.). Editorial Limusa, México, pp. 43-53.

OMS 1990. Documentos oficiales, N° 190, apendice 14, pp.3-29.

Perera, F. y Weinstein, I. B. 1982. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection. New approaches to studies of human cancer causation. J Chronic Dis 35, 581-600, 1982.

Programa Regional de Seguridad de Sustancias Químicas. 1987. Serie N°7. Washington D.C.

Preston R. J., Bender M. A. Brewé J. G., Carrano A. V., Hedle J. A., McFee A. F. y Wolff S. 1981. Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assay (a report of the U. S. EPE, Gene-tox Program). Mutat. Res. 87, 143-188.

Rusell L. R., Shelby P. B., Sheridan W. y Valcovic L. 1981. Use de mouse spot test in chemical mutagenesis; Interpretation of past date and recomendations future works. Mutat. Res. 86, 355-379.

Salamanca F. 1990. Citogenética humana 1ª edición. Ed. Médica panamericana, México D. F., pp.219-234.

Shelby, M. D. 1988. The genetic toxicity of human carcinogens and its implications (MTR 01275). Mutatio Res. 204, 3-5, 1988.

Sparrow A. H. Ross H. H. 1973. Mutation induced in Tradescantia by small doses of X-ray and neutrons: anlysis of doses-response curve. Science. 176, 916-918.

Sparrow A. H., Schairer L. A., y Villalobos-Pietrini P. 1974. Comparison of somatic mutation rates induced in Tradescantia by chemical and phisical mutagens. Mutat. Res. 26, 265-276.

Tomatits L. 1978. "Evaluation of the carcinogenicity of chemicals; A Review of the IARC Monogreph Programe (1971-1977)", Cancer Research.

Villalobos P. R., Hernández R. Guadarrama M. A. y Arroyo G. S. 1990a. Cytological detection induced in Tradescantia by arsenic. Rev. Int. Contam. Ambient. 6, 75-78.

Villalobos-Pietrini R. 1986. Cytological detection somatic mutation in Tradescantia induced by ethanol. Cytologic. 51, 211-218.

Villalobos-Pietrini R., Flores-Marquez A. R., Sánchez M. y Gómez-Arroyo S. 1990b. Micronuclei induced in Tradescantia by arsenic. Rev. Int. Contam. Ambient. 6, 75-78.

Williams, G. M. 1981. Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures, Cancer Res. 37, 1845-1851.

Winegar, R. A. and Preston, R. J. 1988. The induction of chromosomal aberrations by restriction endonucleases that produce blunt-ended or cohesive-ended double-strand breaks. Mutat. Res. 197, 141-149.