

iler.
1 Ej°
43

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

INDUCCION DE MUTACIONES SOMATICAS EN
TRADESCANTIA CON DIFERENTES SOLVENTES

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL TITULO DE

BIOLOGO

PRESENTA

MA. DE LOS ANGELES GUADARRAMA OLIVERA

MEXICO, D.F., AGOSTO DE 1979

6376

43p.

60



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

CONTENIDO

| | PAG |
|---------------------------------------------|--------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCION | 2- 9 |
| MATERIAL Y METODO(Tablas) | 10- 15 |
| RESULTADOS(Tablas y Fig) | 16- 25 |
| DISCUSION Y CONCLUSIONES (Tablas y Fig.) | 25- 34 |
| REFERENCIAS | 35- 43 |

RESUMEN

Con el objeto de comparar el efecto mutagénico de vapores de algunos solventes como etanol, cloroformo y tñner con el obtenido previamente con metanol, se utilizó el clone 02 de Tradescantia como sistema biológico de prueba.

Por ello se comparan las frecuencias de mutaciones para el evento rosa de los días de valores máximos, o sea del 7° al 16° día después del tratamiento.

El análisis de los resultados indica que el material mencionado es sensible a los vapores de metanol y etanol en cuanto a su capacidad mutagénica. Como los vapores de cloroformo y tñner fueron altamente tóxicos solo permitieron el estudio dentro de una gama reducida de concentraciones. Se encontró que la frecuencia de mutación observada está dentro de los límites de mutación espontánea.

Es posible considerar que el etanol pertenece al grupo de los mutágenos débiles, entre los cuales se encuentra también el metanol, el SO_2 , el NO_2 y el cloruro de vinilo, comparado con el grupo de mutágenos potentes como son el etilmetano sulfonato(EMS), el dibromoetano (DBE) y las radiaciones ionizantes.

INTRODUCCION

El número de sustancias químicas tóxicas a los que el hombre está expuesto es muy grande, y a medida que el avance tecnológico se ha ido desarrollando, esta cantidad ha aumentado significativamente, contribuyendo aún mas a la contaminación.

En este amplio espectro de sustancias químicas se incluyen las que entran al ambiente de fuentes naturales, además de las producidas por el hombre, siendo esta última la aportación más significativa.

Tanto los desechos radiactivos, producto de la utilización cada vez mayor de la energía atómica, así como las sustancias químicas lanzadas al ambiente, representan un riesgo para la vida normal de los organismos y por ello para el hombre. Estos efectos requieren ser estudiados para proteger la constitución genética de generaciones futuras determinando el potencial mutagénico que dichos contaminantes puedan tener (Fishbein, 1976a, b; Sobels, 1976; Ichikawa, 1977).

Consideraciones como las anteriores han conducido a recurrir a sistemas biológicos de prueba capaces de detectar mutágenos ambientales y poder determinar la manera de limitar o evitar la exposición del hombre a los componentes químicos mutagénicamente activos. Es muy posible que actualmente muchas mutaciones deletéreas estén ya presentes en el "pool" genético humano, de ahí que sea importante identificar mutágenos potenciales antes de que puedan inducir daño genético en el hombre.

Se ha observado que muchas sustancias químicas mutagénicas - son, además, carcinogénicas y también producen efectos tóxicos a nivel fisiológico (Lower et al., 1978).

A PARTIR
DE ESTA
PAGINA
FALTA DE ORIGEN

SERVICIOS DE
MICROFILMA-
CIÓN.

En la actualidad se han desarrollado y perfeccionado algunos sistemas biológicos de prueba que sirvan para detectar con mayor eficiencia a los mutágenos químicos (Environmental Mutagen Society, 1975). Hasta ahora ninguno de los sistemas de prueba tiene todos los requerimientos de un sistema ideal, pero en conjunto han proporcionado información importante acerca del potencial mutagénico de los agentes químicos y físicos.

Un sistema de prueba debe ser altamente sensible para detectar con facilidad cualquier efecto mutagénico en relación con la frecuencia de mutación espontánea; esto representa un interés en la mutagénesis ambiental porque dichos efectos generalmente son acumulativos y se expresan después de varias generaciones (Environmental Mutagen Society, 1975).

Debido a que en general, el material genético tiene características similares en todos los organismos, la mutagenicidad, en principio, puede registrarse en cualquier organismo; pero la respuesta mutacional es mejor interpretada en aquellos cuya genética se conoce mejor.

Aunque el espectro de acción de las sustancias químicas difiere entre vegetales y animales en el modo de asimilación, en los sistemas de transporte y en el metabolismo, los datos obtenidos en los sistemas vegetales resultan útiles (Ehrenberg, 1971). Las plantas superiores son organismos eucarióticos por lo que sus cromosomas pueden ser similares en estructura y bioquímica a los cromosomas de los animales y probablemente los mecanismos que inducen las mutaciones o las aberraciones cromosómicas en ambos casos sean

también semejantes. Otra ventaja que ofrecen los sistemas vegetales para los estudios de mutagénesis es la facilidad de analizar grandes poblaciones. Esto mismo en otros organismos superiores resulta más difícil (Sparrow et al., 1972; Marx, 1975).

Para alcanzar conclusiones sobre los efectos mutagénicos y carcinogénicos de las sustancias químicas, es de utilidad la comparación cuidadosa con los resultados que se han obtenido de las investigaciones en las que se emplean diferentes clases de radiación ionizante (Ehrenberg y Gustafson, 1970).

Para evaluar la actividad mutagénica es muy importante determinar las curvas de dosis respuesta. Al elaborar dichos esquemas las diversas concentraciones de sustancias aplicadas para obtener la mutagénesis química es influida por factores como la capacidad de penetración, de difusión, de degradación o de combinación con el DNA y con otros constituyentes celulares (Sobels, 1973).

La especificidad de la respuesta es otro factor que resulta difícil de explicar. Las radiaciones en todos los organismos inducen mutaciones y aberraciones cromosómicas en toda clase de células. Las sustancias químicas pueden actuar como mutágenos poderosos en una clase de organismos o tipo celular y permanecer sin efecto en otros porque se encuentra involucrado el daño fisiológico. Cuando la tasa de mutación inducida por las sustancias químicas es el doble de la tasa de mutación espontánea, se acepta que hubo daño genético (Environmental Mutagen Society, 1975).

El clone 02 de Tradescantia ha sido uno de los sistemas de prueba más utilizados en Radiobiología y actualmente en la mutagénesis ambien-

tal. Una de las ventajas importantes del sistema es el uso de la expresión fenotípica del color de las porciones florales como criterio de mutación. En el caso del clone mencionado la expresión azul dominante y rosa recesivo, o sea la condición heterocigótica es marcador genético apropiado para el estudio de mutaciones inducidas (Sparrow et al., 1974c). Otra característica favorable es la alta sensibilidad de Tradescantia a las radiaciones y a las sustancias químicas, sobre todo en forma gaseosa, de manera que se han probado oxidantes atmosféricos, pesticidas y otras sustancias químicas de tipo comercial (Sparrow, 1974; Sparrow et al., 1973, 1974a; Underbrink, 1973).

Su alta sensibilidad ha sido comprobada en muchas ocasiones siendo un ejemplo típico la exposición accidental a un mutágeno desconocido ocurrido en el Laboratorio Nacional de Brookhaven en Nueva York, EUA, en donde se observó un incremento de la frecuencia de mutación somática (Sparrow y Schairer, 1971).

Otra ventaja que ofrece esta planta es que las inflorescencias contienen yemas florales muy compactas, lo cual permite una exposición uniforme al mutágeno; que el periodo experimental que se requiere es relativamente corto, y por otro lado, que la variabilidad genética es mínima ya que Tradescantia se propaga en forma asexual, por clonación, de manera que sus características se pueden mantener de generación en generación.

Lower et al (1978) consideran que las pruebas mutagénicas in situ tienen muchas ventajas ya que los datos obtenidos son más válidos y reales que aquellos extrapolados del trabajo en el laboratorio. In

situ se puede determinar la mutagénesis de diversas mezclas de contaminantes industriales o naturales.

El trabajo de Tradescantia ha sido muy extenso, actualmente se han empezado a realizar pruebas con unidades móviles, con las que se ha comprobado que es un buen sensor de campo en lo que se refiere a la detección de mutágenos atmosféricos (Schairer et al., 1978).

La acción mutagénica de los agentes químicos y físicos ha sido determinada no solo en el clone 02 de Tradescantia sino también con varias especies y clones pertenecientes al mismo género. Ichikawa y Sparrow (1967) utilizaron rayos X y radiación gamma en diversas especies de Tradescantia y observaron que la radiosensibilidad era en todas ellas. Estos mismos autores analizaron los efectos de la radiación gamma en el clone 02 manifestados por la pérdida de la integridad reproductora en los pelos estaminales, el alargamiento del ciclo celular y el daño mitótico.

Se encontró una relación aproximadamente lineal entre el tiempo de exposición a la radiación y la frecuencia de diversos tipos de mutación y la pérdida de la integridad reproductora (Davies, 1963; Nayar y Sparrow, 1966, 1967; Nayar, 1970; Sparrow e Ichikawa, 1967a, b; Ichikawa et al., 1969; Ichikawa y Thompson, 1969; Ichikawa y Sparrow, 1968; Ichikawa, 1978b; Underbrink et al., 1970). Se puede comprobar que los datos radiobiológicos obtenidos con los pelos estaminales de Tradescantia son comparables con los datos obtenidos en otros siste-

mas de prueba (Ichikawa y Thompson, 1969).

Mc Nulty et al (1974) utilizan Tradescantia para estudiar la efectividad biológica relativa de los muones de alta energía. Posteriormente el mismo autor observó que las frecuencias de mutaciones rosa inducidas con exposiciones fraccionadas de rayos X fueron menores que las inducidas con exposiciones únicas, proponiendo la presencia de procesos de reparación (McNulty et al., 1977).

Debido a que las radiaciones ultravioleta aumentan como resultado de la disminución del ozono atmosférico, Chang y Campbell (1976) realizaron experimentos con los clones 02 y 4430 de Tradescantia usando este tipo de radiación y concluyeron que los cambios de color en los pelos estaminales, así como la viabilidad del polen son criterios útiles para detectar los efectos genéticos.

Al aplicar la radiación gamma a Tradescantia se ha notado que las anomalías inducidas son altamente dependientes del estado de desarrollo del pelo estaminal en el momento de la exposición, encontrándose además un sorprendente paralelismo entre la cinética de la inducción de aberraciones y la inducción de mutaciones (Nayar y Sparro, 1967; Nauman et al., 1975a).

Ichikawa (1971, 1972) ha reafirmado la eficiencia de Tradescantia en lo que se refiere a su sensibilidad para detectar efectos genéticos a niveles bajos de radiación gamma.

Las fluctuaciones de temperatura alargan el periodo de desarrollo del pelo estaminal para la producción de mutaciones efectivas (Mericle y Mericle, 1971a, b; Mericle et al., 1975; Nauman et al., 1975b). Esto influye en la frecuencia de mutación del evento rosa (Nauman et al.,

1978).

Las ventajas que tiene Tradescantia en este tipo de investigaciones, hicieron posible su uso en experimentos espaciales, para analizar la interacción entre la radiación gamma y diversos factores involucrados en los vuelos espaciales como son la vibración, la ingravidez y la aceleración. De estos factores parece que la ingravidez es el más importante en cuanto al daño genético asociado a las radiaciones, mientras que con los otros factores no se presentaron diferencias significativas con relación a los testigos (Sparrow et al., 1968a, b; Marimuthu et al., 1970, 1972).

Las curvas de dosis respuesta obtenidas con las radiaciones se usan actualmente para comparar la efectividad relativa de diferentes mutágenos químicos, y entre estos el etilmetano sulfonato (EMS), poderoso agente alquilante que se usó inicialmente como un estándar de referencia (Ichikawa, 1978a; Sparrow et al., 1973). Actualmente se ha dejado de usar como tal por su tendencia a condensarse en las paredes de las cámaras de exposición y en el follaje de Tradescantia. Por este motivo el EMS fué sustituido por el 1, 2 dibromoetano (DBE) como un estándar de referencia debido a su mejor manejo y a su comportamiento mutagénico similar al del EMS (Nauman et al., 1976).

Al comparar la respuesta de los clones 02 y 4430 de Tradescantia, usando el EMS, el DBE y rayos X se notó que fue muy similar en el caso de las radiaciones, pero con las sustancias es más variada y no tan clara (Nauman et al., 1974a, 1976; Sparrow et al., 1974a, b). La respuesta que tienen las sustancias químicas sigue un patrón ligeramente similar al de las radiaciones, aunque los picos de las frecuencias de mutación se

presentan un poco antes de lo observado con las radiaciones (Villalobos-Pietrini et al., 1974; Sparrow y Schairer, 1975).

Se han comparado también los efectos citológicos que inducen diversos pesticidas, fungicidas y herbicidas; el "Phosdrin" y el "Bladex" produjeron efectos semejantes al EMS y el "Panogen 15" tuvo efectos parecidos a la colchicina (Ahmed y Grant, 1972); el "Me-nazon", "metrobromuron" y "tetrachloroisophthalonitrile" presentaron efectos biológicos comparables a los agentes alquilantes (Tomkins y Grant, 1972).

Con estos estudios realizados utilizando Tradescantia como sistema de prueba, se pueden conocer no solo los efectos biológicos de muchos contaminantes ambientales sino también confirmar su toxicidad y sus posibles alcances genéticos (Nauman et al., 1975b).

El objeto de esta tesis es determinar si los solventes etanol, cloroforno y tñer producen mutaciones somáticas en el sistema de pelos estaminales de Tradescantia.

MATERIAL Y METODO

1. Características del material biológico

El clone 02 de Tradescantia fué descubierto por el Dr. Arnold Sparrow en la Universidad de Austin, Texas, en 1958, y se le ha descrito como resultado de la hibridación entre Tradescantia occidentalis y T. ohiensis (Mericle y Mericle, 1967; Underbrink et al., 1973; Sparrow y Sparrow, 1976) o también de T. occidentalis y T. canniculata (Sparrow et al., 1961).

El clone 02 de Tradescantia es diploide ($2n=12$) y según Mericle y Mericle (1969) es heterocigótico (o posiblemente hemicingótico) para el color rojo de la flor cuya descripción coincide al color rosa descrito por Emmerling-Thompson (1979). Mericle y Mericle (1967, 1969) describen la segregación para esta característica como típicamente mendeliana pues no difiere significativamente de la proporción 3 azul:1 roja.

El clone 02 de Tradescantia lo constituyen plantas perennes, herbáceas, de hojas delgadas y largas que llegan a alcanzar una altura de 60 cm cuando crecen en macetas.

Las inflorescencias se localizan en la parte distal y axial de las ramas y contienen yemas florales en varios estados de desarrollo. Una flor abre cada día en una inflorescencia y en total ésta produce por lo menos 50 flores en condiciones normales.

Las flores tienen 3 sépalos y 3 pétalos alternos entre sí, y un pistilo. Hay 6 estambres : 3 antipétalos y 3 antisépalos. Cada estambre se origina en la porción basal y contiene cerca de 50 pelos.

Los pelos estaminales se caracterizan por ser una serie sucesiva

de células, producto de la división repetida de las células meristemáticas terminales o subterminales aunque, algunas veces, las células intersticiales también se dividen (Villalobos-Pietrini, comunicación personal).

Las plantas se mantuvieron en el invernadero del Jardín Botánico de la UNAM, en macetas de plástico con tierra de hoja y arena limosa (en proporción 2:1). Se regaron dos veces por semana manteniendo la humedad relativa aproximadamente al 60 % y la temperatura media anual entre los 20° y los 30°C. El ataque de plagas se evitó aplicando "Folimat" al 0.05% y "Malathion" al 0.2% por aspersión y "Folimat" al 0.1% por riego a intervalos de una o dos semanas.

Las plantas que se trataron estuvieron en el laboratorio a temperatura (25° ± 1°C) y humedad relativa (60%) controlada.

Los cortes se colocaron en frascos con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950; Conger, 1964) (Tabla I) con aereación constante. Los frascos fueron forrados con papel aluminio para evitar la luz y con ello crecimiento de algas.

2. Dosimetría

Para realizar los estudios dosimétricos fue necesario conocer previamente la cinética de evaporación de la sustancia y determinar la cantidad máxima evaporada de cada sustancia en 6 hrs. Para ello se usaron cámaras de vidrio de 9.5 litros de capacidad dentro de las cuales se colocó una valva de caja de Petri, en la cual se pusieron 20 ml de la sustancia problema. Se sellaron las cámaras con grasa de silicón y se mantuvieron a temperatura constante de 25 °C en baño María. Se obtuvieron los volúmenes de evaporación en el lapso de 6 -

TABLA 1

Solución nutritiva de cultivo # 2 de Hoagland

| Sustancia* | Solución madre gramos/litro | Volumen de solución madre en ml/l de agua |
|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ | 115.1 | 1 |
| KNO_3 | 101.1 | 6 |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 164.1 | 4 |
| MgSO_4 | 120.4 | 2 |

*Se agregaron en el orden mencionado.

Solución de elementos menores que se añadieron a 1 cc/litro de la solución nutritiva final

| Sustancia | gramos/litro |
|---------------------------------------------------|--------------|
| H_3BO_3 | 2.86 |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 1.81 |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.22 |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.08 |
| $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0.02 |

Sales de fierro; 0.5% de tartrato de fierro se usaron 1 ml/litro, una o dos veces a la semana (=0.0087 ppm de Fe en la solución nutritiva). También pueden utilizarse los versenatos de fierro.

Se ajusta la solución nutritiva a un pH=6.

hrs. a intervalos definidos.

Las concentraciones de las sustancias que se aplicaron fueron elegidas en un límite comprendido entre cero y la máxima cantidad que se evaporó en 6 hrs., para cada sustancia. Los valores de la cantidad máxima evaporada en las cámaras en las cámaras aparecen en la Tabla II.

Para cada tratamiento las plantas se colocaron en vasos de precipitados de 500 ml con solución de Hoagland. En una cámara se puso el lote tratado con la dosis deseada y en la otra cámara el lote testigo con agua destilada en una cantidad equivalente. El sellado de las cámaras y las condiciones de temperatura se realizaron de manera similar al explicado para la cinética de evaporación de las sustancias.

Al finalizar los tratamientos los cortes se colocaron en vasos de precipitados de 500 ml, con solución nutritiva de Hoagland y se mantuvieron nuevamente en una cámara de crecimiento a $25^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ a 60% de humedad relativa y bajo aereación constante.

3. Observación de los pelos estaminales

Para la observación de los pelos estaminales, se cortaron las flores, se disectaron los 6 estambres con pinzas de punta fina y se colocaron en un portaobjetos sobre el cual previamente se había extendido una gota de aceite de parafina. Las preparaciones fueron observadas de inmediato, pues las células se colapsan en pocos minutos; sin embargo, se mantuvieron hasta una semana en buenas condiciones guardándolas en el congelador cuando era necesario.

El análisis de los pelos estaminales se hizo desde el día 7° hasta el día 16° después de cada tratamiento.

TABLA 11

CANTIDAD MAXIMA EVAPORADA DE METANOL, ETANOL, CLO-
 ROFORMO Y TINER A LAS 6 HRS., EN CAMARAS DE 9.5 LITROS
 A 25°C

| Sustancia | Volumen evaporado (ml) |
|------------|---------------------------|
| Cloroformo | 10.4 |
| Tiner | 3.6 |
| Metanol | 3.2* |
| Etanol | 2.0** |

*Hernández, 1977

**Balderas-Rodríguez, 1974

También se han descrito como mutaciones somáticas la aparición en los pelos estaminales de células incoloras, células enanas, células rosa, células lanza y células gigantes así como pelos chaparrros, pelos bifurcados y pelos curvados, pero en este trabajo solo se consideró el evento rosa.

Se considera un evento rosa cuando aparece una célula o conjunto de células entre células azules; en el caso de que aparezcan pelos completos de color rosa se consideran eventos independientes (Underbrink et al., 1973).

Para determinar la frecuencia de los eventos rosa, las preparaciones se observan bajo el microscopio de disección utilizando agujas de punta fina para separar y contar adecuadamente los pelos estaminales. En cada flor se contaron los pelos estaminales de un antisépalo y un antipétalo y se multiplicaron por tres para calcular el número promedio de pelos por flor. Sin embargo, se observan todos los estambres para determinar el total de eventos en cada flor.

La frecuencia de mutación de eventos rosa se obtiene de la aparición de este evento en relación con la cantidad de pelos estaminales analizados.

RESULTADOS

Los registros de los eventos rosa en los pelos estaminales se realizaron en los días 7° al 16° después del tratamiento. Este criterio se basa en experimentos realizados por Villalobos-Pietrini et al. (1974) donde se mencionan que las mutaciones inducidas con diferentes agentes químicos aparecen en las flores maduras dos o tres días antes de la aparición de las mutaciones inducidas con radiaciones. Los resultados se agrupan en las tablas 111, 1V, y V.

En estas tablas se expresa la concentración utilizada en fase líquida en ml y en fase gaseosa en mg/l de los solventes aplicados, con excepción del tñer en cuya tabla solo se indican los ml aplicados (Tabla VI), debido a que el tñer es una mezcla de diversos compuestos cuyas proporciones se indican en la tabla VI.

También se indican las medias de las frecuencias de mutación rosa con su correspondiente error estándar, a los cuales se les ha restado el valor de la frecuencia de mutación espontánea de su correspondiente lote testigo. Además se incluyen en estas tablas la cantidad de pelos estaminales analizados en los diez días de registro después del tratamiento.

En la tabla 111 aparecen los valores promedio de las frecuencias de mutación rosa, de un experimento y su repetición con vapores de etanol utilizando las concentraciones desde 0.25 a 2.0 ml.

La tabla 1V incluye las frecuencias de mutaciones rosa obtenidas al aplicar vapores de cloroformo desde 0.25 hasta 1.0 ml.

FRECUENCIAS DE MUTACIONES "ROSA" DE LOS PELOS ESTAMINALES DE TRADESCANTIA, CLONE 02, EN LOS DIAS 7 A 16 DESPUES DEL TRATAMIENTO, INDUCIDAS POR DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ETANOL, APLICADAS EN FORMA LIQUIDA, PERO CUYA EXPOSICION SE HIZO EN FASE GASEOSA (mg/l) EN CAMARAS DE TRATAMIENTO DE 9.5 LTS.

| Concentración líquido ml. | Concentración vapor mg/l | Eventos "rosa"/pelo (- Testigo) | | | C.antidad de pelos analizados |
|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------|----------|----------------------------------|
| | | \bar{X} | \pm | E. E. | |
| 0.25 | 20.79 | 0.000815 | | 0.000233 | 27 976 |
| 0.50 | 41.58 | 0.001338 | | 0.000347 | 64 243 |
| 0.75 | 62.37 | 0.004527 | | 0.001534 | 65 520 |
| 1.00 | 83.16 | 0.004735 | | 0.001753 | 38 936 |
| 1.50 | 124.74 | 0.007345 | | 0.002134 | 38 251 |
| 2.00 | 166.31 | 0.108460 | | 0.001807 | 25 734 |

TABLA IV

FRECUENCIAS DE MUTACIONES "ROSA" DE LOS PELOS ESTAMINALES DE TRAD. ESCANTIA, CLONE 02, EN LOS DIAS 7 A 16 DESPUES DEL TRATAMIENTO, INDUCIDAS POR DIVERSAS CONCENTRACIONES DE CLOROFORMO, APLICADAS EN FORMA LIQUIDA PERO CUYA EXPOSICION SE HIZO EN FASE GASEOSA (.mg/l) PARA LAS CAMARAS DE TRATAMIENTO DE 9.5 LTS.

| líquido ml | Concentración vapor mg/l | Eventos "rosa"/pelo (-Testigo) | | Cantidad de pelos analizados |
|---------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------|---------------------------------|
| | | X | + E. E. | |
| 0.25 | 39.0 | 0.000125 | 0.000075 | 18 671 |
| 0.50 | 78.0 | 0.000532 | 0.000339 | 25-143 |
| 0.75 | 117.0 | Inhibición parcial de la floración | | 1 892 |
| 1.00 | 156.0 | Inhibición parcial de la floración | | 778 |

TABLA V

FRECUENCIAS DE MUTACIONES "ROSA" EN LOS PELOS ESTAMINALES DEL CLONE 02 DE TRA-
DESCANTIA EN LOS DIAS 7 A 16 DESPUES DEL TRATAMIENTO, OBTENIDAS CON DIFEREN -
 TES CONCENTRACIONES DE TINER

| Concentración ml | -Eventos "rosa" /pelo (- Testigo) | | | -Cantidad de pelos analizados |
|---------------------|---------------------------------------|---|------------|----------------------------------|
| | \bar{X} | - | + E. E. | |
| 0.10 | 0 | - | 0 | 14 543 |
| 0.25 | 0 | | 0 | 11 891 |
| 0.50 | 0.001159 | | 0.000558 | 7 814 |
| 1.00 | Dosis letal | | | |
| 2.00 | Dosis letal | | | |

TABLA VI

COMPOSICION DEL TINER UTILIZADO EN LOS DIFERENTES
TRATAMIENTOS*

| Sustancia | Concentración(%) |
|------------------|------------------|
| Etanol | 12.65 |
| Isopropanol | 1.97 |
| Acetato de etilo | 5.92 |
| n-Hexano | 25.29 |
| Benceno | 1.18 |
| n-Heptano | 1.18 |
| Tolueno | 51.77 |
| <hr/> | <hr/> |
| Tiner | 99.96 |

*La determinación fue realizada por cromatografía de gases en el Centro Mexicano de Estudios en Salud Mental (CEMESAM)

La tabla V presenta los valores de las frecuencias de mutación rosa inducidas al aplicar dosis de 0.1 hasta 2.0 ml de tñer.

Los valores obtenidos con el etanol (Tabla 111) se rectificaron en sistemas normal-normal, log-normal y log-log, calculándose en cada caso el valor de la X^2 para determinar cual de los tres ajustes era el más apropiado (Tablas VI1, VI11, 1X). En todos los casos el valor de la X^2 no fue significativa, pero el menor valor obtenido fue en el sistema normal-normal, de manera que de los tres ajustes, éste es el que se considera como el ajuste que mejor describe al comportamiento de los datos.

El valor de la X^2 para el sistema normal-normal fue de 0.635778 con 5 grados de libertad, a una $P = 0.95$ y la ecuación calculada fue:

$$Y = -0.763039 + 0.0000685 (X)$$

En un sistema log-log (Fig. 1) se presentan los datos ajustados del etanol (Tabla 111) y los obtenidos con metanol por Hernández (1977) ya que con el cloroformo y el tñer no se obtuvieron respuestas significativamente diferentes al testigo. En esta gráfica se observa que a medida que aumentan las dosis se incrementa linealmente la respuesta.

TABLA V11

CALCULO DE LA X^2 EN UN SISTEMA NORMAL-NORMAL PARA LA FRECUENCIA DE EVENTOS "ROSA" POR PELO EN TRADESCANTIA, CLONE 02, OBTENIDAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ETANOL

| X(1000) | Y (1000) | Y EST | $\frac{(Y \text{ OBS} - Y \text{ EST})^2}{Y \text{ EST}}$ |
|---------|----------|--------|-----------------------------------------------------------|
| 20 790 | 0.815 | 0.661 | 0.35879 0 |
| 41 580 | 1.338 | 2.085 | 0.265879 |
| 62 370 | 4.527 | 3.509 | 0.295333 |
| 83 160 | 4.735 | 4.933 | 0.007947 |
| 124 740 | 7.345 | 7.782 | 0.024559 |
| 166 310 | 10.846 | 10.629 | <u>0.004430</u> |
| | | | 0.635778 |

X = Dosis de Etanol en mg/l

Y = Frecuencias de eventos "rosa" por pelo.

$$Y = a + b X$$

$$b = 0.0000685$$

$$a = -0.763039$$

$$r = +0.98$$

$$Y = -0.763039 + 0.0000685 (X)$$

$$X^2 = 0.635778$$

$$gl = 5$$

$$P > .95$$

CALCULO DE LA X^2 EN UN SISTEMA LOG-NORMAL, PARA LAS FRECUENCIAS DE EVENTOS "ROSA"
PELO EN TRADESCANTIA, CLONE 02, OBTENIDAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ETANOL.

| X | LOG Y OBS | LOG Y EST | ANTILOG Y OBS | ANTILOG Y EST | $\frac{(Y OBS - Y EST)^2}{Y EST}$ |
|---------|-----------|-----------|---------------|---------------------|-----------------------------------|
| 20 790 | -0.088842 | 0.08342 | 0.815000 | 1.211769 | 0.12914 |
| 41 580 | 0.126456 | 0.237268 | 1.337999 | 1.726903 | 0.087582 |
| 62 370 | 0.655810 | 0.391114 | 4.526995 | 2.461013 | 1.734359 |
| 83 160 | 0.675319 | 0.54496 | 4.734989 | 3.507196 | 0.429823 |
| 124 740 | 0.865991 | 0.852652 | 7.344986 | 7.122820 | 0.006929 |
| 166 310 | 1.035269 | 1.16027 | 10.845985 | 14.463387 | <u>0.904739</u> |
| | | | | | 3.293346 |

X = Dosis de Etanol en mg/l (1000)

Y = Frecuencia de eventos "rosa" por pelo (1000)

$$Y = a \cdot b^X$$

$$\log Y = \log a + X \log b$$

$$\log a = -0.070424$$

$$\log b = 0.0000074$$

$$r = +0.92.$$

$$\log Y = -0.070424 + (X) 0.0000074$$

$$X^2 = 3.163559$$

$$gl = 5$$

$$P > .95$$

TABLA 1X

CALCULO DE LA X^2 EN UN SISTEMA LOG-LOG PARA LAS FRECUENCIAS DE EVENTOS "ROSA" POR PELO EN TRADESCANTIA, CLONE 02, OBTENIDAS A DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ETANOL

| X | Y | LOG X | LOG Y | LOG Y EST | ANTILOG Y EST | $\frac{(Y \text{ OBS} - Y \text{ EST})^2}{Y \text{ EST}}$ |
|---------|--------|----------|----------|-----------|---------------|-----------------------------------------------------------|
| 20 790 | 0.815 | 4.317854 | -.088842 | -.114729 | 0.767840 | 0.0028965 |
| 41 580 | 1.338 | 4.618884 | 0.126456 | 0.274495 | 1.881460 | 0.0684743 |
| 62. 370 | 4,527 | 4.794975 | 0.655810 | 0.502177 | 3.178169 | 0.5724507 |
| 83 160 | 4.735 | 4.919914 | 0.675319 | 0.663720 | 4.610202 | 0.0033783 |
| 124 240 | 7.345 | 5.096005 | 0.865991 | 0.891402 | 7.787571 | 0.0251515 |
| 166 310 | 10.846 | 5.220918 | 1.035269 | 1.052912 | 11.295670 | <u>0.0179009</u> |
| | | | | | | 0.6902522 |

X = Concentración de Etanol en mg/l (1000)

Y = Frecuencia de eventos "rosa" por pelo (1000)

$$Y = a \cdot X^b$$

$$\log Y = \log a + b \log X$$

$$b = 1.292978$$

$$\log a = -5.697620$$

$$r = +0.97$$

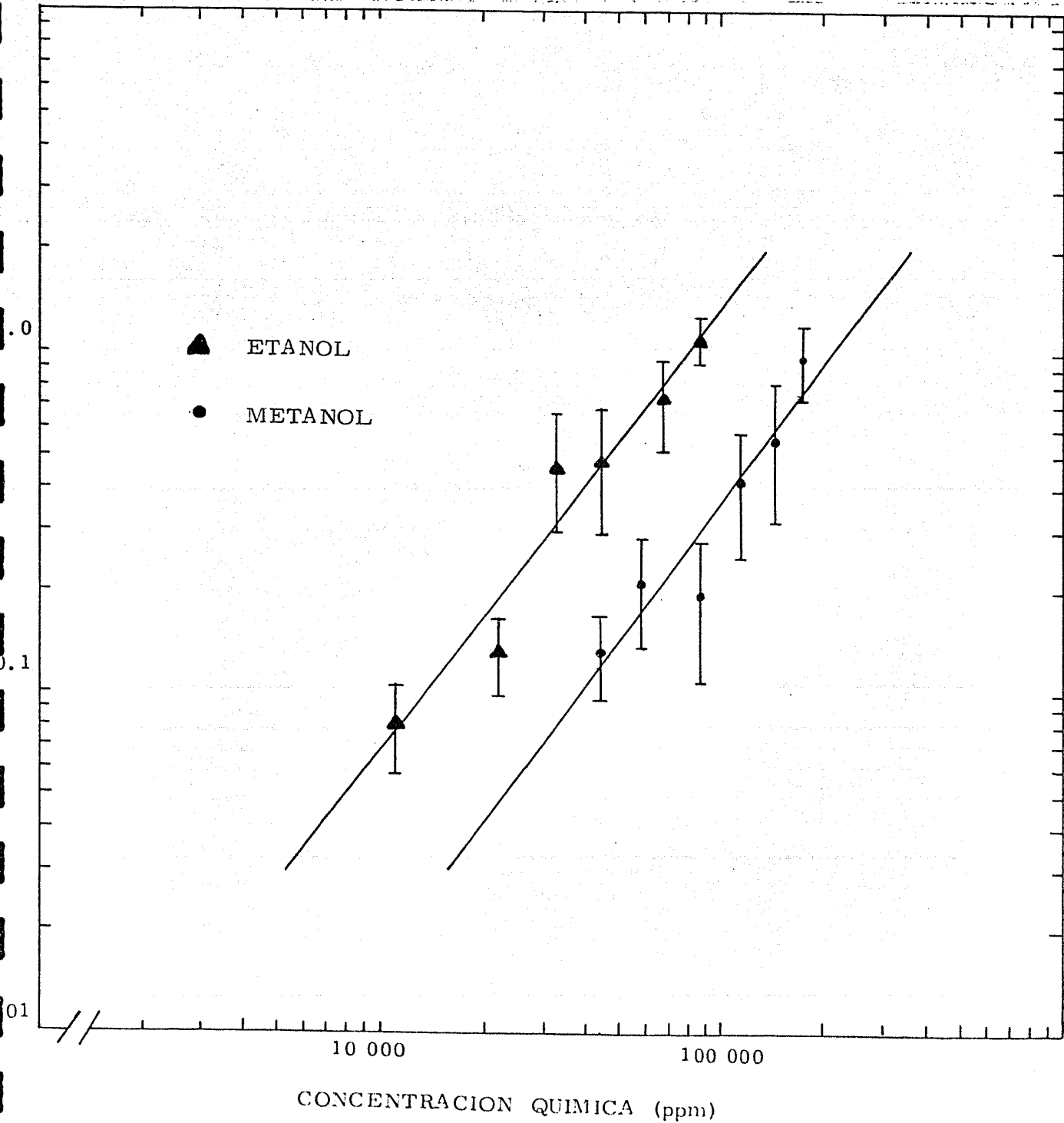
$$\log Y = -5.697620 + 1.292978 (X)$$

$$X^2 = 0.6902522$$

$$gl = 5$$

$$P > 0.95$$

Fig. 1. Gráfica de la relación de dosis-respuesta en un sistema log-log, obtenida con las diferentes dosis de vapores de metanol (Hernández, 1977) y de etanol.



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Al haberse demostrado previamente la alta sensibilidad del clone 02 de Tradescantia, con diversos agentes mutagénicos físicos y químicos, se consideró que es un material biológico para comparar la respuesta de esta planta a diversos solventes como metanol, etanol, cloroformo y tñer.

En general los solventes orgánicos comerciales y aereosoles contenidos en envases rociadores se relacionan químicamente con el alcohol, el éter y el cloroformo (Cohen, 1976). El cloroformo (Fishbein, 1976b) pertenece al grupo de los hidrocarburos clorinados alifáticos muy utilizados como solventes en la industria química. Fishbein (1976b) describe al cloroformo como un agente carcinogénico en ratas y ratones y por sus características tóxicas y de alta volatilidad lo considera de elevado impacto ambiental y de riesgo potencial.

El tñer es uno de los solventes orgánicos comerciales más comunmente empleados como droga de abuso que en México ocupa uno de los primeros lugares como problema de farmacodependencia; experimentos realizados con gatos revelan que el tñer produce efectos severos en el sistema nervioso central (Guzmán-Flores et al., 1973, 1974).

En diversos trabajos se menciona que los alcoholes son posibles inductores de aberraciones cromosómicas (Michaelis et al., 1959, 1962; Michaelis y Rieger, 1968; Gómez-Arroyo, 1974; Badr y Badr, 1975). Jones (1973) presenta el caso de 8 niños de 3 diferentes grupos étnicos, nacidos de madres alcohólicas

con un patrón similar de defectos morfogénéticos. Bregman (1971) encuentra gran número de rompimientos simples producidos por etanol en cromosomas de linfocitos in vitro. También se han descrito efectos mutagénicos en Tradescantia (Hernández, 1977) y del etanol en Aspergillus nidulans (Harsanyi et al., 1977).

En los experimentos realizados en este trabajo con etanol, cloroformo y tñer, únicamente el primero dió respuesta positiva.

En general las plantas de Tradescantia se ven afectadas en su fisiología al ser tratadas con las dosis altas de las sustancias empleadas, ya que producen inhibición floral, marchitamiento e incluso pueden ocasionar la muerte; por esta razón cuando se aplicaron dosis altas el número de plantas utilizadas fue mayor para asegurar una frecuencia de floración suficiente para los análisis estadísticos.

Al aplicar dosis altas de cloroformo (0.75 y 1.0 ml) se produjo inhibición parcial de la floración (Tabla 1V) y las dosis altas de tñer (1.0 y 2.0 ml) fueron letales para el material biológico (Tabla V), de tal manera que la elevada toxicidad de los vapores de cloroformo y tñer solo permitieron el estudio dentro de una gama reducida de concentraciones y la frecuencia de mutaciones observadas en esos límites están dentro de la frecuencia de mutación espontánea, por lo cual no se consideran sustancias inductoras de mutaciones somáticas en Tradescantia.

De las dosis de etanol aplicadas, la concentración de 0.25

ml no induce mutaciones somáticas. Esta consideración se hizo estableciendo que un agente produce daño genético significativo si la frecuencia de mutación obtenida es al menos el doble de la frecuencia de mutación del testigo (Environmental Mutagen Society, 1975). La frecuencia promedio de mutación espontánea en el caso del etanol fue de 0.000594 eventos rosa por pelo, valor que está dentro los rangos de 0.00048 ± 0.00015 y 0.00521 ± 0.00020 descritos por Sparrow et al.(1972) y Sparrow (1976).

No se realizó el análisis de dosis mayores a 2.0 ml con el etanol porque en las condiciones experimentales ésta fue la máxima cantidad evaporada en las cámaras de tratamiento y por otra parte con esta dosis el daño fisiológico se observa manifestado por marchitamiento.

Con el fin de comparar gráficamente los resultados obtenidos con el etilmetano sulfonato (EMS), el dibromoetano (DBE) y los rayos X por Sparrow et al.(1974a, c), con los vapores de metanol y etanol se presenta una gráfica en el sistema log-log (Fig. 2). En ella se hacen coincidir arbitrariamente un rad con diez partes por millón (ppm) del mutágeno químico para comparar las pendientes de las líneas de regresión, la magnitud de la respuesta y su nivel de saturación. En esta gráfica se incluyen los datos obtenidos con el metanol(Hernández, 1977) y con el etanol (Tabla X), transformados a ppm.

Las pendientes de las líneas de regresión obtenidas en un

Fig. 2. Gráfica de las frecuencias de mutación obtenidas en *Tradescantia*, clone 02 con EMS, DBE y rayos X (Sparrow et al., 1974 a), metanol (Hernández, 1977) y etanol.

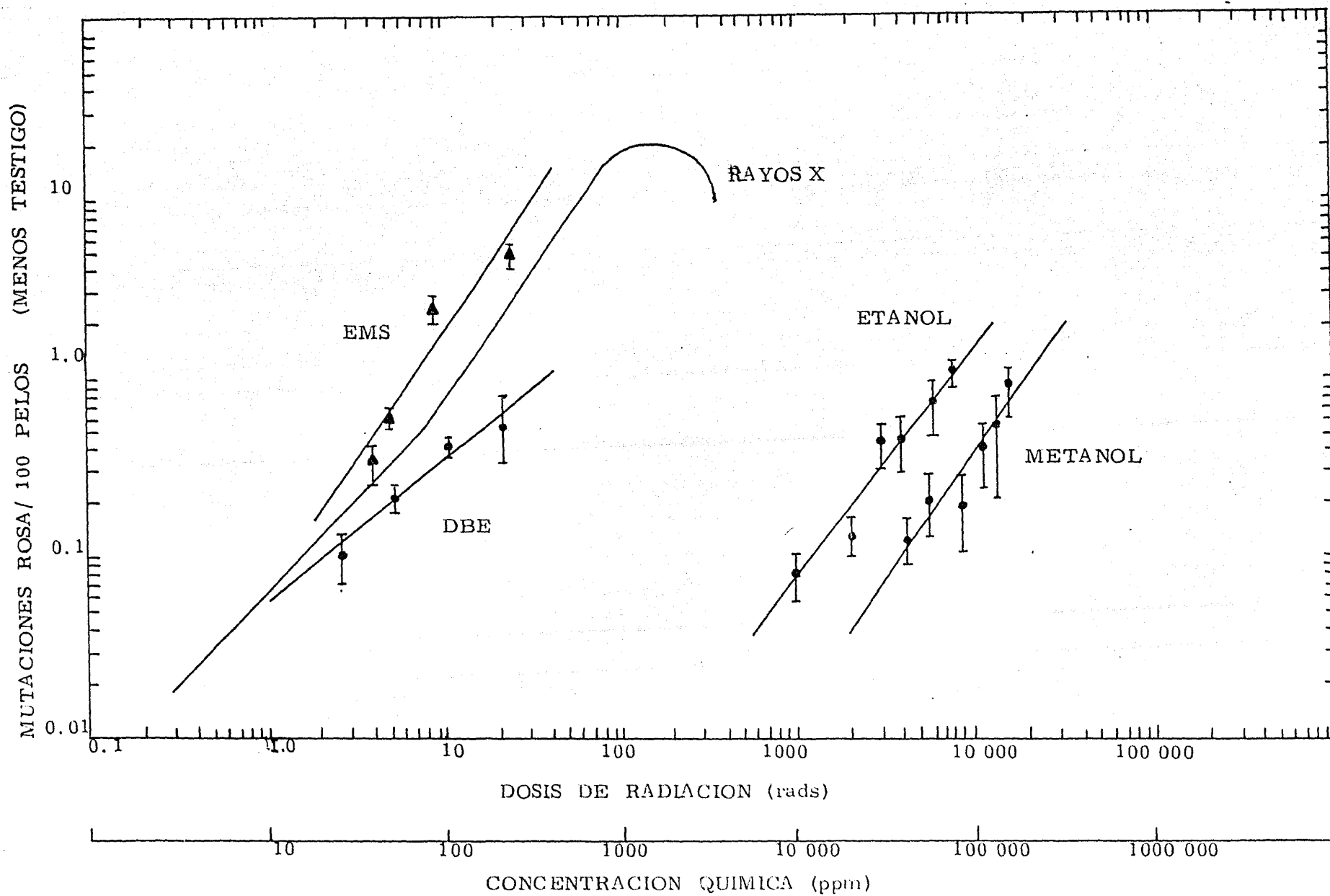


TABLA X

VOLUMENES DE ETANOL UTILIZADOS PARA LOS DIFERENTES
TRATAMIENTOS, EXPRESADAS EN ml Y SUS CORRESPONDIENTES EN FASE DE VAPOR

| ml | mg/litro | ppm |
|------|----------|--------|
| 0.25 | 20.79 | 10,123 |
| 0.50 | 41.58 | 20,247 |
| 0.75 | 62.37 | 30,370 |
| 1.00 | 83.16 | 40,494 |
| 1.50 | 124.74 | 60,741 |
| 2.00 | 166.31 | 80,988 |

sistema log-log en el análisis de Sparrow et al. (1974a) se presentan en la tabla X1 donde se incluyen las pendientes obtenidas con los valores del metanol (Hernández, 1977) y del etanol que son comparables con estos resultados.

El cuarto punto de la recta del EMS de la fig. 2 se consideró en el trabajo original de Sparrow, como el nivel de saturación y no se incluyó en los cálculos de la pendiente de +2.41 que resultó difícil de explicar, de tal manera que Hernández (1977) en su análisis comparativo de estos resultados con el metanol incluye este cuarto punto en el cálculo de la recta de regresión y obtiene una pendiente modificada de +1.43 (Tabla X1), siendo esta la recta presentada en la gráfica.

La curva de los rayos X tiene tres fases ; la primera es hasta los 6 rads con una pendiente de +1, la segunda es otra recta hasta los 100 rads cuya pendiente es de +1.41 y la última, a dosis más altas se curva y satura (Sparrow et al., 1974a) quizás debido a la muerte celular y a la saturación de los loci involucrados.

En la Fig. 2 es posible comparar la acción de los diversos agentes. Por ejemplo para producir 0.5 mutaciones somáticas en 100 pelos se requieren aproximadamente 42 ppm de EMS, 160 ppm de DBE, 145,000 ppm de metanol y 60,000 ppm de etanol. El metanol y el etanol coinciden con el comportamiento de la respuesta ya conocida del EMS, mutágeno altamente poderoso, pero evidentemente que la efectividad del

TABLA X 1

PENDIENTES DE LAS LINEAS DE REGRESION OBTENIDAS EN UN SISTEMA LOG-LOG CON DIFERENTES MUTAGENOS EN TRADESCANTIA CLONE 02

| MUTAGENO | PENDIENTE |
|------------|----------------|
| EMS* | +1.43** |
| DBE | +0.76** |
| RAYOS X* | +1.0 y 1.41 |
| METANOL*** | +1.32 |
| ETANOL | +1.29 |

*Sparrow et al., 1974a.

**Estos valores son una modificación en el cálculo de los presentados de los presentados por Sparrow et al., 1974a.

***Hernández, 1977.

etanol y del metanol es mucho menor. Al analizar las pendientes de las rectas de regresión para metanol y etanol se puede notar - que son muy parecidas (Tabla X1) por lo cual se deduce que el - comportamiento de estos dos solventes es similar, aunque es más efectivo el etanol que el metanol para inducir mutaciones somáticas en Tradescantia.

Finalmente se puede concluir que los vapores de metanol y etanol pueden inducir mutaciones somáticas en los pelos estaminales de Tradescantia y en su comparación con la respuesta del EMS, del DBE o de los rayos X, se les considera mutágenos débiles como al SO_2 , NO_2 , cloruro de vinilo, etc. Igualmente se concluye que como Tradescantia es un sistema de prueba eficiente para detectar el efecto mutagénico de diversas sustancias químicas que - en forma gaseosa son lanzadas al ambiente, los cuales representan un peligro potencial para los seres vivos, es posible utilizar a esta planta como sensor de los efectos genéticos producidos - por contaminantes ambientales.

REFERENCIAS

- AHMED, M. y Grant, W. F. (1972a). Cytological effects of the pesticides phosdrin and bladex on Tradescantia and Vicia faba. Can. J. Genet. Cytol. 14:157-165.
- AHMED, M. y Grant, W. F. (1972b). Cytological effects of the mercurial fungicide panogen 15 on Tradescantia and Vicia faba roots tips. Mutat. Res. 14:391-396.
- BADR, F. M. y Badr, R. S. (1975). Induction of dominant lethal mutation in a males mice by ethil alcohol. Nature (London) 253 : 134-136.
- BALDERAS-Rodríguez, M. Z. (1974). Aborción de polen inducida por rayos gamma y etanol en Anailema pulchella. Tesis, UNAM. Fac. de Ciencias. México.
- BREGMAN, A. A. (1971). Cytogenetic effects of ethanol in human leukocyte cultures. Newsletter 4 :35-36.
- CONGER, D. A. (1964). A simple liquid culture method of growing plants. Proc. Florida State Horticultural Soc. 77 : 1.
- CHANG, D. C. N. y Campbell, W. F. (1976). Responses of Tradescantia stamen hairs and pollen to UV-B irradiation. Environ. Experimen. Bot. 16 : 195-199.
- COHEN, S. (1976) Los disolventes volátiles. CEMEF. Vol. 1V(6): 1-37. Junio 15, México.
- DAVIES, D. R. (1963). Radiation-induced chromosomes aberrations and loss reproductive integrity in Tradescantia. Radiat. Res. 20: 726-740
- EHLING, U. H. (1974). Dose response relationships of specific mutations in mice. Arch. Toxicol. 32 : 19-25.

EHRENBERG, L. (1971). Higuer Plants. In: Chemical mutagens. Principles and methods for their detection. Ed. A. Hollander, Vol. 2, pp. 365-386, Plenum Press, Nueva York.

EHRENBERG, L. y Gustafson, A. (1970). Chemical mutagens : their uses and hazards in medicine and technology. (A report of february - 1959 to the National Board of Health). Carl Bloms Boktryckeri. A. -B. LUND.

Environmental Mutagen Society (1975). Environmental mutagenic hazards. Science. 187 : 503-514.

FISHBEIN, L. (1976a). Industrial and potential mutagens. I. Halogenated aliphatic derivatives. Mutat. Res. 32 : 267-308.

FISHBEIN, L. (1976b). Atmospheric mutagens. I. Sulfur oxides and nitrogens oxides. Mutat. Res. 32:309-330.

GOMEZ-Arroyo, S. (1974). Efectos producidos por varios alcoholes sobre los cromosomas de la raiz de Vicia faba. Tesis, UNAM. Fac. de Ciencias. México.

GUZMAN-Flores, C., García-Castellis, E. y Alcaraz, M. (1973). Neurobiología del tñer. (Alteraciones conductuales producidas a largo plazo). Trabajo presentado en la Reunión de la Asociación Mexicana de Farmacodependencia, Abril, México.

GUZMAN-Flores, C., Guzmán-López, C. y Alcaraz, M. (1974). Efectos agudos del tñer sobre la conducta y la actividad eléctrica cerebral. Estudio experimental en el gato. Bot. Estud. Med. Biol. Mex. 28:157-165.

HARSANYI, Z., Grant, I.A. y Mackenzie, D.W.R. (1977). Genetic damage induced by ethil alcohol in Aspergillus nidulans. Mutat. Res. 48 : 51-74.

- HERNANDEZ, R. (1977). Inducción de mutaciones somáticas en pelos estaminales de Tradescantia por vapores de metanol. Tesis, UNAM. Fac. de Ciencias. México.
- HCAGLAND, D.R. y Arnon, D.I. (1950). The water culture method for growing plants without soil. College of Agriculture, Univ. of California, Beckely, Cal. Circular # 347.
- ICHIKAWA, S. (1977). Somatic mutations frequency in the stamen hairs of stable and mutable clones of Tradescantia after acute gamma-rays treatments with small doses. *Mutat. Res.* 45: 195-204.
- ICHIKAWA, S. (1978a). Somatic mutations in Tradescantia stamen hairs-exposed to EMS. *Environ. Exper. Bot.* 18: 19-25.
- ICHIKAWA, S. (1978b). Influence of radiation exposure rate on somatic-mutation frequency and L.R.I. in Tradescantia stamen hairs. *Mutat. Res.* 52: 171-180.
- ICHIKAWA, S. (1971). Somatic mutation rate at low levels of chronic gamma-ray exposure in Tradescantia stamen hairs. *Japan. J. Genet.* 46: 371-381.
- ICHIKAWA, S. (1972). Somatic mutation rate in Tradescantia stamen hairs at low radiation levels: finding of low doubling doses of mutations. *Japan. J. Genet.* 47: 411-421.
- ICHIKAWA, S. y Sparrow, A.H. (1967a). Radiation-induced L.R.I. in the stamen hairs of polyploid series of Tradescantia species. *Radiat. Bot.* 7: 429-441.
- ICHIKAWA, S. y Sparrow, A.H. (1967b). Radiation-induced L.R.I. in the stamen hairs of Tradescantia blossfeldiana. *Mildbr.*, a twelve

- ploid sp. *Radiat. Bot.* 7 : 333-345.
- ICHIKAWA, S. y Sparrow, A. H. (1968). The use of induced somatic mutations to study cell division rates in irradiated stamen hairs of *Tradescantia virginiana* L. *Jap. J. Genet.* 43: 53-63.
- ICHIKAWA, S. y Sparrow, A. H. (1969). Analysis of radiation induced L. R. I. in *Tradescantia* stamen hairs an essentially single meristematic cell system. *Jp. J. Genet.* 44: 23-24.
- ICHIKAWA, S. y Thompson, K. M. (1969). Morphologically abnormal cells, somatic mutations and L. R. I. in irradiated stamen hairs. *Radiat. Bot.* 9 : 195-211.
- JONES, K. L., Smith, D. W. y Uilleland, C. N. (1973). Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1 :1267
1271.
- LOWER, W. R., Rose, P. S. y Dribney, V. K. (1978). In situ mutagenic and other effects asociated with lead smelting. *Mutat. Res.* 54 :83-93.
- MARIMUTHU, K. M., Sparrow, A. H. y Schairer, L. A. (1970). The cytological effects of space flight factors, vibration, clinostat and radiation in root tip cells of *Tradescantia* . *Radiat. Res.* 42: 105-119.
- MARIMUTHU, K. M., Schairer, L. A. y Sparrow, A. H. (1972). Effects of space flight (Biosatellite 11) and radiation on female gametophyte development in *Tradescantia*. *Amer. Bot.* 59: 359-366.
- MARX, J. L. (1975). Air pollution: effects on plants. *Science* 187 : 731-733.
- McNULTY, P. J., Sparrow, A. H. y Schairer, L. A. (1974). Somatic mutations induced in stamen hairs of *Tradescantia* clone 02 by relativistic muons. *Int. J. Radiat. Biol.* 25: 315-320.
- McNULTY, P. J., Nauman, C. H., Sparrow, A. H., Schwemmer, S. S. y Schai-

- rer, L.A. (1977). Influence of X-ray dose fractionation on the frequency of somatic mutations induced in Tradescantia stamens hairs. Mutat. Res. 44 : 235-246.
- MERICLE, L.W. y Mericle, R. P. (1967). Genetic nature of somatic mutations for flower color in Tradescantia, clone 02. Radiat. Bot. 7 : 449-464.
- MERICLE, L.W. y Mericle, R. P. (1969). Induced somatic mutations for interpreting floral development and inflorescence aging. In: Induced mutations in plant. International Energy Agency. Vienna. pp. 591-601.
- MERICLE, L.W. y Mericle, R. P. (1971a). Somatic mutation in clone 02 Tradescantia, a search for genetic identity. J. Heredity 62; 323-328.
- MERICLE, L.W. y Mericle, R. P. (1971b). Diurnal temperature difference as modifier of mutagenesis. Newsletter 5 : 28-29.
- MERICLE, R. P., Mericle, L. W. y Nunez, B. (1975). Environmental modulation of somatic mutations. In: International Symposium on Biological effects of low levels radiation pertinent to protection of man and his environment. International Atomic Energy Agency.
- MICHAELIS, A. y Rieger, R. (1968). On the distribution between chromosomes of chemically induced chromatid aberrations: studies with a new karyotype of Vicia faba. Mutat. Res. 6 : 81-92.
- MICHAELIS, A., Ramshorn, K. y Rieger, R. (1959). Athylalkol radiomimetiches agents bei Vicia faba. Naturwis 46:381-382.
- MICHAELIS, A., Nicoloff, H. y Rieger, R. (1962). Influence of the EDTA on the inductions of chromatid aberrations by triethylenmelanine and ethyl-alcohol. Biochem. Biophys. Res. Commun. 9 : 280-284.

NAUMAN, C. H. (1976). Low-dose mutation response relationships in Tradescantia, principles and comparison to mutagenesis - following low-dose gaseous chemical mutagen exposure. In: Seminars on Radiation Biology and Protection. Orsay (France) 24-26 May.

NAUMAN, C. H., Villalobos-Pietrini, R. y Sautkulis, R. C. (1974a). Response of a mutable clone of Tradescantia to gaseous chemical mutagens and to ionizing radiation. Mutat. Res. 26:444.

NAUMAN, C. H., Underbrink, A. G. y Sparrow, A. H. (1975a). Influence of radiation dose rate on somatic mutation induction in Tradescantia stamen hairs. Rad. Res. 62 : 79-96.

NAUMAN, C. H., Sparrow, A. H. y Schairer, L. A. (1976). Comparative effects of ionizing radiation and two gaseous chemical mutagens on somatic mutation induction in one mutable and two non-mutable clones of Tradescantia. Mutat. Res. 38 : 53-70.

NAUMAN, C. H., Schairer, L. A. y Sparrow, A. H. (1978). Influence of temperature on spontaneous and radiation-induced somatic mutations in Tradescantia stamen hairs. Mutat. Res. 50:207-218.

NAUMAN, C. H., Sparrow, C. H., Schairer, L. A. y Klug, E. E. (1974b). Comparative effects of ionizing radiation and gaseous chemical mutagens on mutation induction in a mutable clone of Tradescantia. Radiat. Res. 59: 153-154.

NAUMAN, C. H., Sparrow, A. H., Schairer, L. A. y Sautkulis, R. C. (1975b). Influence of temperature, ionizing radiation and chemical mutagens on somatic mutation rate in Tradescantia. Mutat. Res. 31: 318-319.

NAYAR, G. G. (1970). On the biological effects of high background radioactivity; studies on Tradescantia grown in radioactive monazite sand. *Radiat. Bot.* 10: 287-292.

NAYAR, G. G. y Sparrow, A. H. (1966). Induced mutations and the L. R. I. in Tradescantia stamen hairs. *Radiat.* 27: 494.

NAYAR, G. G. y Sparrow, A. H. (1967). Radiation-induced somatic mutations and the L. R. I. in Tradescantia stamen hairs. *Radiat. Bot.* 7: 257-267.

SCHAIRER, L. A., Van'Hof, J., Hayes, C. G., Burton, R. M. y DeSerres, F. G. (1978). Exploratory monitoring of air pollutants for mutagenicity activity with the Tradescantia stamen hairs system. *Environ. Health Perspec.* 27: 51-60.

SOBELS, F. H. (1973). Some aspects of chemical mutagenesis. *Agent and actions* 3: 68-72.

SOBELS, F. H. (1976). Some thoughts on the evaluation of environmental mutagenesis. *Mutat. Res.* 38: 361-366.

SPARROW, A. H. (1974). The effects of chemical mutagens (EMS, DBE) and specific air pollutants (O_3 , SO_2 , NO_2) on somatic mutation rates in Tradescantia. In: Symposium on the potential genetic effects of Environmental Pollutants on man, Moscow, URSS, Feb. 18-21.

SPARROW, A. H. (1974c). Chemical and environmental mutagen studies utilizing the Tradescantia test system. Report to the Atomic Energy Commission and the National Institute of Environmental Health Sciences by the Biology Department, Brookhaven National Laboratory, Upton, Nueva York.

SPARROW, A. H. e Ichikawa, S. (1967). Comparison of radiation-induced

L. R. I. in the stamen hairs of a poliploid series in Tradescantia.
Radiat. Res. 31: 636.

SPARROW, A. H. y Schairer, L. A. (1971). Mutational response in Tradescantia after accidental exposure to a chemical mutagen. Environ. Newsletter 5: 16-19.

SPARROW, A. H. y Schairer, L. A. (1974b). Mutagenic response of Tradescantia to treatment with X-rays, EMS, DBE, Ozone, SO₂, NO₂ and several insecticides. Mutat. Res. 26: 445.

SPARROW, A. H. y Schairer, L. A. (1975). Interaction of exposure time and gaseous mutagen concentration on somatic mutation frequency in Tradescantia. Mutat. Res. 31: 318.

SPARROW, A. H. y Sparrow, R. C. (1976). Spontaneous somatic mutation frequency for flower color in several Tradescantia sp. and hybrids. Environ. Exp. Bot. 16: 23-43.

SPARROW, A. H., Schairer, L. A. y Marimuthu, K. M. (1968a). Genetic and cytological studies of Tradescantia irradiated during orbital flight. Bioscience 18: 582-590.

SPARROW, A. H., Schairer, L. A. y Marimuthu, K. M. (1968b). Radiobiological studies of Tradescantia plants orbited in Biosatellite 11. Radiat. Res. 35: 502.

SPARROW, A. H., Underbrink, A. G. y Rossi, H. H. (1972). Mutational-induced in Tradescantia by small doses of X-rays and neutron: analysis of dose-response curves. Science 176: 916-918.

SPARROW, A. H., Schairer, L. A. y Villalobos Pietrini, R. (1973). Comparison of somatic mutations rates induced in Tradescantia by chemical and physical mutagens. Mutat. Res. 21: 238-239.

SPARROW, a. h., Schairer, L. A. y Villalobos-Pietrini, R. (1974a). Comparison of somatic mutation rates induced in Tradescantia by - chemical and physical mutagens. Mutat. Res. 26: 265-276.

SPARROW, A. H., Cuany, R. L., Miksche, J. P. y Schairer, L. A. (1961). Some factors affecting the response of plants to acute and chronic radiation exposures. In: Effects of ionizing radiation on seeds. International Atomic Energy Agency Vienna, pp. 289-320.

TOMKINS, D. J. y Grant, W. F. (1972). Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metabromuron and tetrachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Can. J. Genet. 14: 245-256.

UNDERBRINK, A. G., Schairer, L. A. y Sparrow, A. H. (1973). Tradescantia stamen hairs : a radiobiological test system applicable to chemical mutagenesis. In: Chemical Mutagens. Vol. 3 (Hollander A. Ed.) Plenum. Press, Nueva York. 171-207.

UNDERBRINK, A. G., Sparrow, A. H., Sparrow, A. C. y Rossi, H. H. (1970) Relative biological effectiveness of X-rays and 0.43-MeV monoenergetic neutrons on somatic mutations and L. R. I. in Tradescantia stamen hairs. Radiat. Res. 44 : 187-203.

VILLALOBOS-Pietrini, R., Sparrow, A. H., Schairer, L. A. y Sparrow, R. C. (1974). Variation in somatic mutation rates induced by X-rays, DBE and EMS in several Tradescantia species and hybrids. Radiat. Res. 59: 153.