

24 119
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ALTERACIONES CROMOSOMICAS PRODUCIDAS POR
ALGUNAS SALES DE CROMO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A
MA. ISABEL RENDON ORTIZ

MEXICO. D.F.

JULIO DE 1980.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

C O N T E N I D O

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	14
RESULTADOS	19
DISCUSION Y CONCLUSIONES	24
REFERENCIAS	31
TABLAS	40

•
•
•

RESUMEN

Al tratar los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba con dicromato de potasio y con el cromato de calcio, se encontró que ambas sustancias inducen alteraciones cromosómicas que fueron observadas en células en anafase como fragmentos sencillos y dobles, puentes sub-cromatídicos, cromatídicos y cromosómicos y cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) y en células en interfase como micronúcleos.

Se observó que los dos compuestos de cromo tienen un efecto no retardado en la aparición de las aberraciones y también producen un alargamiento en la duración del ciclo celular.

Las aberraciones inducidas por los compuestos de cromo en esta investigación, posiblemente se deben al efecto de ciertas enzimas sobre los ácidos nucleicos liberadas de los lisosomas por la acción del cromo; o por el enlace directo del cromo en los ácidos nucleicos y las nucleoproteínas alterando sus propiedades físico-químicas.

Sobre bases moleculares el dicromato de potasio fue más efectivo inductor de alteraciones que el cromato de calcio.

INTRODUCCION

El cromo es un metal que se encuentra en la naturaleza solamente en estado combinado y no como elemento. Algunos suelos y rocas contienen pequeñas cantidades de cromo principalmente como óxido crómico (Cr_2O_3). La industria del cromo utiliza fundamentalmente la cromita (FeOCr_2O_3) para la elaboración de mezclas, compuestos y aleaciones de cromo. La cromita es extraída por operaciones subterráneas (Fig 1).

La cromita varía en composición y existe basicamente como óxidos de cromo en asociación con óxidos de magnesio y aluminio y algunas veces con fierro (Tabla 1). Aproximadamente el 57% de la cromita es utilizada en la industria metalúrgica, el 30% en materiales refractarios y el 13 % en la industria química. La cromita es inerte, insoluble en agua y ácidos y resiste varias reacciones químicas (Sullivan, 1969). La cromita se encuentra en grandes cantidades en Nueva Caledonia, Filipinas, Rodesia, Sudáfrica y Rusia. En la industria metalúrgica, la cromita es utilizada como metal ferrocrómico al mezclarse con elementos tales como fierro, níquel y cobalto produce aleaciones que son utilizadas para la fabricación de gran cantidad de utensillos acerosos (Sullivan, 1969).

Los cromatos son utilizados en la oxidación de materiales orgánicos, en la elaboración de tintes sintéticos, de sacarina, de ácido benzoico, de antraquinona, de alcanfor, y de fibras sintéticas. Debido también a sus propiedades oxidantes los cromatos son utilizados como agentes limpiadores y en la oxidación inorganica (Sullivan, 1969).

Los dicromatos tienen aplicación en litografía, pinturas textiles, fotografía y en la elaboración de pigmentos, empapelado, celdas eléctricas, explosivos, cerillos y artículos de plástico (Stokinger, 1963; Sullivan, 1969).

El cromo funciona con valencias positivas de 2, 3 y 6; es un metal blanquiazul, duro, que no se oxida con el aire y al calentarse se oxida poco. Al ser expuesto a una atmósfera de carbono se oxida formándose el ácido crómico y con ácido clorhídrico se produce cloruro crómico (Figueras, 1961).

El cromo se combina principalmente con carbono, nitrógeno y boro. Los compuestos de cromo bivalentes son básicos y fácilmente oxidables; los trivalentes son anfotéricos, insolubles en agua y solubles en ácidos; la forma hexavalente es ácida. El ión cromato en soluciones ácidas se comporta como un eficaz agente oxidante (Stokinger, 1963).

El cromo pertenece al cuarto grupo de la tabla periódica de los elementos; su peso atómico es de 52.01 y su número atómico de 24. Los potenciales de oxidación del cromo indican que el trivalente es más estable (Figueroa, 1961; Sullivan, 1969). La forma hexavalente del cromo es el estado más tóxico y el más ampliamente utilizado en la industria como ácido crómico, cromatos, dicromatos y alumbre de cromo. Los cromatos y dicromatos se utilizan principalmente para impedir la corrosión (Stokinger, 1963).

Se ha estimado el efecto del cromo en humanos, plantas animales y materiales y su acción depende de su estado químico (Sullivan, 1969). El nivel de tolerancia recomendado por la Asociación de Higiene Industrial Americana es de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ durante ocho horas de exposición por día para el ácido crómico y los cromatos (U.S. Public Health Service, 1953).

El cromo hexavalente es más tóxico para el hombre que el cromo trivalente. La presencia del cromo en el agua es debida a la industria del metal cuando es utilizado como limpiador químico de electrotipos y anodizantes. Aunque el cromo es un agente reductor, es muy común encontrarlo en los desagües (Anonimo, 1952). Las fuentes más importantes de contaminación con cromo son la industria metalúrgica, la industria

productores de cromatos, el procedimiento conocido como cromado, la quema de carbón y el uso de sustancias con cromo, en los aditivos de gasolina, en los inhibidores de la corrosión, en los pigmentos, en los agentes curtidores, etc. (Sullivan, 1969).

Sluis-Cremer y Du Toit (1968) han descrito *pneumoconiosis benigna* en los mineros que extraen la cromita, sin formación de fibrosis. En los trabajadores expuestos al cromo se ha notado un incremento del 29% en la incidencia de carcinoma broncogénico (Sullivan, 1969). La inhalación del óxido crómico, produce la perforación del tabique nasal. Los cementos que contienen ácido crómico y cromatos producen dermatitis. También se han descrito casos de dermatitis en las fundiciones de magnesio donde los moldes son tratados con soluciones de ácido crómico para dar resistencia a las temperaturas altas (Stokinger, 1963).

En estudios realizados por Cooperman (1963), exponiendo a 250 hombres a diversos aerosoles de cromo a concentraciones de 10^3 a 24 ugr/m^3 , en lapsos cortos observó que los provoca irritación aguda del tracto respiratorio superior; también encontró que la concentración de 2.5 ugr/m^3 de cromo representa el umbral de percepción, siendo notable la

sensibilidad de los ojos a la luz y la inhibición de la adaptación a la oscuridad; en ratas obtuvo respuestas similares.

Se ha establecido a 0.05 ppm de cromo como límite de seguridad en los suministros de agua potable, ya que a partir de 0.10 ppm es fisiológicamente dañina (Anónimo, 1952; National Academy of Sciences, 1972). Esta determinación la han hecho instituciones como, la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1963), el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de América (Holden, 1970) y se encuentra en las Normas de Calidad de Aguas de la República Mexicana.

Las observaciones experimentales llevadas a cabo por Hueper y Payne (1962) con compuestos trivalentes y hexavalentes indican que su potenciabilidad carcinogénica sobre ratas y ratones está determinada por su relativa disponibilidad biológica relacionado con su solubilidad en los fluidos biológicos y el tiempo de aplicación. Debido a que los compuestos hexavalentes son altamente solubles pueden penetrar en algunos tejidos más fácilmente que los compuestos trivalentes.

Oroggan y Oppenheimer (1955), notaron que al pH fisiológico (4-8) el cromo hexavalente es notablemente difusible mientras que el trivalente sufre cambios y es insoluble al

pH de la sangre (7.35).

Los estudios de la interacción de los cromatos con la piel indican que son reducidos a cromo trivalente antes de unirse con esta (Samitz et al., 1967). Por otra parte, los estudios realizados por Mancuso y Hueper (1951) sugieren que los compuestos de cromo insoluble (tales como el cromo trivalente) pueden producir cáncer de pulmón debido a su insolubilidad, ya que el polvo de cromo permanece durante largo tiempo en este órgano.

Cuando las concentraciones de cromo en la atmósfera exceden del máximo permisible (100 ugr/m^3), la exposición prolongada a concentraciones críticas produce perforaciones en el tabique nasal, ulceraciones, congestiones y rinitis hipertrófica (Suzuki et al., 1959), así como el catarro crónico, pólipos en el tracto respiratorio, hiperemia, bronquitis y faringitis crónica (Maetjer, 1956).

Existen suficientes evidencias para considerar al cromo como un micronutriente esencial para la dieta de las ratas, lo cual sugiere que también puede serlo para el hombre (Mertz, 1967; Schroeder, et al., 1968). Se ha encontrado cromo en animales silvestres, en especial en ratas, detectándose

pequeñas cantidades de cromo (0.05-0.65 $\mu\text{g}/\text{gr}$) principalmente en el bazo que son similares a las concentraciones que presentan las ratas de laboratorio (Schroeder *et al.*, 1965). Mertz y Schwarz (1955) encontraron que los niveles bajos de cromo en las ratas están asociados con diferencias en la tolerancia a la glucosa; produciéndose un síndrome semejante a la diabetes mellitus, cuando hay deficiencia de cromo.

El cromo es considerado como elemento esencial (oligoelemento) para el funcionamiento normal del metabolismo de la glucosa (Mertz, 1967). Schroeder *et al.* (1968) sugirieron que el cromo puede jugar un papel importante en la síntesis de lípidos. Además el cromo trivalente ha sido identificado como un cofactor de la insulina interactuando a nivel de la membrana celular y grupos sulfidrícos y disulfidrilos de la insulina. El ión cromato hexavalente después de haber penetrado a la membrana celular puede reducirse a trivalente formando complejos quelatados (Mertz, 1967).

Schroeder *et al.* (1962) demostraron que el cromo se encuentra en todos los tejidos humanos desde las etapas fetales y que la forma absorbida en los alimentos por el intestino es la hexavalente. Mikosha (1959) y Prihoda (1963) determinaron la mayor concentración de cromo en el hombre durante

su desarrollo fetal de los dos meses y medio hasta los siete. Después de esa edad, la concentración de cromo disminuyó hasta su nacimiento, lo que sugiere que existe una transferencia de la madre al feto (Pribluda, 1963). Mertz et al. (1965) observando mamíferos bajo condiciones experimentales encontraron que el cromo fluye através de la placenta y los valores de la sangre están entre 0.05 y 0.16 ppm y en la orina los valores de 3.5 ugr/ml. Pribluda (1963) observó que en mujeres multiparas la concentración de cromo es más alta que en mujeres nulíparas. Lo que apoya los resultados obtenidos por Mertz et al. (1965).

Se han estudiado los efectos tóxicos de diversas dosis de cromatos y de trióxido de cromo, en ratones, ratas y cobayos, conejos y perros en los que se ha visto que son afectados el funcionamiento y la morfología de tejidos y órganos, produciendo la muerte de estos animales al sobrepasar ciertas concentraciones. Al aplicar dicromato de potasio por vía subcutánea después de algunos días se produjo la muerte de los cobayos por metahemoglobinemia (Raben y Anton'ev, 1966). Una inyección intramuscular de dicromato de sodio en ratas no produjo tumefacciones (Hupor y Payne, 1962), sin embargo al aplicar cromato de calcio a 24 animales, en 18 se produjeron tumefacciones, lo que indica que es un potente carcinógeno (Roe y Carter, 1969).

Se ha observado que el cromo estimula el crecimiento de las plantas pero que también es tóxico. El efecto depende en su mayor parte del tipo de planta y de la concentración de cromo en el suelo. En suelos con pH menor que 4, una pequeña cantidad de cromo es suficiente para estimular el crecimiento de las plantas por ejemplo; pequeñas cantidades (0.01%) son suficientes para estimular el crecimiento en avena y cebada, aunque las concentraciones de cromo encontradas en tejidos vegetales oscilan entre 0.01 y 1.00 ppm y los alimentos de origen vegetal están entre 0.10 y 0.05 ppm (Saint-Rat, 1948), concentraciones de 0.005% son tóxicas para el trigo (Udy, 1956).

Cuando se aplicó cromo en el suelo en soluciones nutritivas en sembradíos de mostaza, frijol, arroz, col y cebada, se observó que el metal es absorbido por la raíz en donde este se almacena y solo pequeñas cantidades llegan a las hojas, por consiguiente los efectos tóxicos se centran principalmente en la raíz (Wallace et al., 1976). En general los efectos tóxicos pueden ser esperados cuando los niveles de cromo en el suelo exceden de 10^{-7} ugr/gr de suelo (Sullivan, 1969). Se ha utilizado también el cromo en mezclas preservadoras de madera por su acción fungitóxica (Chou et al., 1974).

Al realizar pruebas con diferentes sales de cromo hexavalente (sodio, potasio y calcio) en Escherichia coli, se ha observado que producen efectos mutágenicos (Venitt y Levy, 1974; Green y Muriel, 1976; Green et al., 1976), y aparentemente el mecanismo de mutación, se realiza por sustitución de bases de ADN (Levy, 1975). Petrilli y De Flora (1978) trabajando en Salmonella typhimurium encontraron que la forma hexavalente del cromo es tóxica o mutagénica dependiendo de la concentración utilizada, en general los datos sugieren que los iones de cromo hexavalente interactúan con el ADN de Salmonella induciendo en dosis subletales corrimiento en el mensaje y errores en la sustitución de bases.

Levan (1945) observó que algunas sales metálicas entre ellas el cromo, inducen alteraciones parecidas a las que induce la colohicina, sobre el huso mitótico de las células del meristemo de la cebolla (Allium cepa). También se describen alteraciones cromosómicas en las células de la raíz de chícharo Pisum sativum (Von Rosen, 1954).

Nakamuro et al. (1973), observaron que el cromo hexavalente produce malapareamientos de los cromosomas en los leucocitos humanos que la forma trivalente, los tipos de daños registrados para estos estudios fueron; aberraciones

oromósomícas, huecos, rompimientos e intercambios isocromosómí-
dicos.

Tsuda y Kato (1977) al tratar células embrionarias de hamster con dicromato de potasio observaron aberraciones cromosómicas y además notaron una transformación morfológica después de 8 a 10 días de tratamiento.

Los compuestos de cromo son capaces de interactuar con los ácidos nucleicos modificando sus propiedades físico-químicas, estos efectos han sido atribuidos tentativamente a los estados de oxidación del cromo trivalente y hexavalente (Herrman y Speck, 1954; Nishioka, 1975). También se han descrito alteraciones en el ciclo mitótico y aberraciones cromosómicas en cultivo de células de mamíferos (Majone, 1977).

La acción citogénética del cromo podría situarse en la formación de agentes mutagénicos vía la oxidación de metabolitos celulares, los cuales solamente lo realizan compuestos de cromo hexavalente (Schoental, 1975).

Umeda y Nishimura (1979) encontraron que la aplicación de compuestos de cromo hexavalente inducen altos niveles de aberraciones cromosómicas en células de mamíferos en cultivo.

En las investigaciones de citogenética, se seleccionan sistemas sencillos para evaluar el efecto de los diversos agentes, el haba (Vicia faba) es un material que reúne las características necesarias debido a los pocos cromosomas que posee ($2n=12$), los cuales son muy grandes y por lo tanto fácilmente observables al microscopio. Su cariotipo está formado por un par de grandes cromosomas submetacéntricos, los cuales presentan un brazo largo y otro corto con una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y cinco pares de cromosomas subacrocentricos, los cuales muestran muy pocas diferencias entre ellos.

El promedio de duración del ciclo celular en la raíz principal de Vicia faba es de 19.3 horas a 19°C (Evans y Scott, 1964): el período presintético (G_1) es de 4.9 horas, el período sintético (S) es de 7.5 horas, el período postsintético (G_2) es de 4.9 horas y mitosis (M) es de 2 horas (Fig 2).

Utilizando los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba se pretende determinar si las sales de cromo hexavalente como dicromato de potasio y el cromato de calcio producen alteraciones.

MATERIAL Y METODO

Las semillas de Vicia faba (var. mayor) utilizadas, fueron proporcionadas por el Centro de Investigaciones y Desarrollo del Estado de México, cosechas 1977-1978 y 1978-1979 (serie C-69-12).

Las habas que se pusieron a germinar entre dos capas de algodón humedecido a temperatura de 21°C y en la oscuridad fueron, previamente lavadas con agua corriente durante un lapso de dos horas y remojadas por 24 horas, con el fin de acelerar la germinación.

Cuando apareció la radícula (entre el 4° y el 5° día) se les quitó la testa, para evitar la infección por hongos. Se hicieron lotes de 10 a 15 plántulas cuyas raíces medían 4 cm de largo y cada lote fue sometido a diferentes tratamientos, los cuales se realizaron colocando las soluciones de cromo en un cristallizador tapado con papel aluminio, que tenía perforaciones, las plántulas fueron colocadas de tal manera que solo las raíces estuvieran en contacto con las soluciones; dichos tratamientos se efectuaron en la oscuridad.

Para determinar las concentraciones adecuadas de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) (Baker), se realizó un experimento

to preliminar, aplicando 0.10, 0.50 y 1.00% durante 1, 2, 3 horas de tratamiento sin recuperación y 4 horas con 2, 18 y 44 horas de recuperación, en agua corriente, a temperatura de 19°C y aeración constante mediante un filtro de piso. En las raíces tratadas con 1.00% de dicromato de potasio, hubo muerte celular desde las primeras horas de tratamiento y para las concentraciones de 0.50% a partir de las 4 horas de tratamiento y 18 de recuperación, por consiguiente se decidió utilizar concentraciones más bajas para poder cuantificar el daño producido por esta sustancia.

De esta experiencia se seleccionaron concentraciones de 0.05, 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75% con tratamientos de 1, 2, 3 horas sin recuperación y de 4 horas con 2, 18 y 44 horas de recuperación, cada lote tuvo un testigo correspondiente.

Con el cromato de calcio (CaCrO_4) (K & K), se realizó un estudio preliminar basándose en las concentraciones para el dicromato de potasio, pero se notó que en este caso no se disolvía totalmente y al cabo de un tiempo se precipitaba; por lo cual se decidió agitar constantemente la solución durante el tratamiento, con un agitador magnético (Thermotape 1000), y las raíces del testigo se mantuvieron en las mismas condiciones pero sumergidas en agua destilada.

Para observar los cromosomas se utilizó la técnica de Villalobos-Pietrini (1965) con algunas modificaciones. Se limpió la raíz con la yema de los dedos y se cortaron 2 mm de la punta (zona meristemática), se colocó en un portaobjetos excavado y se hidrolizó en HCl 5N, a temperatura ambiente por 10 minutos, el HCl se eliminó con papel absorbente y se agregó una gota de aceto-orceína⁺ y se dejó 20 minutos.

A continuación se colocó en un portaobjetos limpio y se agregó una gota de ácido acético (Baker) al 45%. Inmediatamente después se colocó un cubreobjetos y se hizo presión con la goma de un lápiz ("squash") evitando que se quedaran burbujas de aire entre el cubreobjetos y el portaobjetos y se guardaron en el congelador.

Para hacer las preparaciones permanentes se siguió la técnica de Conger y Fairchild (1953), colocándolas sobre hielo seco durante algunos minutos y separando el cubreobjetos con un bisturí, luego se deshidrataron con dos cambios

* Para la elaboración del colorante se utilizaron 3 gr deorceína sintética (Sigma) y 100 ml de ácido acético (Merck) al 70%, se mezcló y se hirvió a reflujo durante 2 horas.

de butanol absoluto (Baker) y se montaron en bálsamo de Canadá (Merck).

Se analizaron todas las anafases de cada preparación con el fin de estimar las alteraciones cromosómicas producidas. Los micronúcleos se registraron en 2000 células en interfase para cada tratamiento.

Una vez realizados los tratamientos, las soluciones de cromo fueron reducidas por medio de vapores de SO_2 (Anonimo, 1952) utilizando metabisulfito de sodio (Baker) y ácido sulfúrico (Baker) al 50% antes de ser desechadas.

La tabla 2 muestra la concentración utilizada en ambos casos con su molaridad y sus ppm correspondientes.

Los datos obtenidos para el dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y el cromato de calcio (CaCrO_4) corresponden a un experimento y su repetición.

El registro de las alteraciones se realizó en células en anafase, considerando los fragmentos sencillos y dobles, los puentes subromatídicos, los puentes sencillos y dobles con y sin fragmentos y los cromosomas retardados (con el

centrómero inactivado e isocromosomas) y en interfase los
micronúcleos.

RESULTADOS

Con el dicromato de potasio las aberraciones subcromatídicas (puentes subcromatídicas) se observan en la primera y segunda horas de tratamiento en las concentraciones de 0.05% y 0.75% (tablas 3 y 7); en 0.10% en la primera hora (tabla 4); en 0.25% en las tres primeras horas (tabla 5) y no se observan en la concentración de 0.50% (tabla 6).

Las aberraciones cromatídicas en todas las concentraciones aparecen en la primera hora de tratamiento (tablas 3 a 7).

Las aberraciones cromosómicas se presentan con 4 horas de tratamiento y 18 de recuperación en 0.05 y 0.50% (tablas 3 y 6); en 0.10% a las 44 horas (tabla 4); en 0.25% a 18 y 44 horas (tabla 5) y en 0.75% no se observan (tabla 7).

Los cromosomas retardados se presentan a partir de las primeras horas de tratamiento a excepción de la concentración de 0.50% (tabla 6) en la cual solo se presentan en la primera hora de tratamiento y con 4 horas de tratamiento y 18 de recuperación.

Los micronúcleos aparecen en todos los casos desde la primera hora de tratamiento (tablas 3 a 7).

Debido a que con algunas concentraciones de dibromato de potasio solo se obtuvieron resultados en las dos primeras horas de tratamiento se realizó un promedio de las frecuencias de todas las concentraciones (tabla 8), notándose que el total de anafases anormales disminuye conforme aumenta la dosis. Las frecuencias máximas de anafases anormales, aberraciones y cromosomas retardados corresponden a 0.75% mientras que para micronúcleos es en 0.05%.

La tabla 9 muestra los resultados de 1 a 3 horas de tratamiento sin recuperación y de 4 horas de tratamiento con 2,18 horas de recuperación en donde el total de anafases disminuye conforme aumenta la concentración, la frecuencia de anafases anormales presentan su valor máximo en 0.50% lo mismo ocurre con las aberraciones totales; los cromosomas retardados y los micronúcleos son más frecuentes en 0.05%.

En el caso del cromato de calcio se observa que en las concentraciones de 0.05% en la primera y tercera horas de tratamiento se presentan los puentes subcromatídicos (tabla 10); en 0.10% se notan en la segunda y tercera hora (tabla 11); en 0.25 y 0.50% se observan en las tres primeras horas de tratamiento (tablas 12 y 13); en 0.75% en la segunda (tabla 14) y en 1.00% en la primera (tabla 15).

Las aberraciones cromatídicas aparecen en todos los casos desde la primera hora de tratamiento (tablas 10 a 15).

Las aberraciones cromosómicas se presentan en 0.05 y 0.25% a partir de las 18 horas de recuperación (tablas 10 y 12), en 0.10, 0.50 y 0.75% a las 44 horas de recuperación (tabla 11) y 1.00% no fue posible su observación ya que se inhibieron las mitosis (tablas 13 a 15).

Los cromosomas retardados (cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas), se presentan a partir de las primeras horas de tratamiento a excepción de 0.10% (tabla 11) en la cual aparecen a partir de las 18 horas de recuperación.

Los micronúcleos se observan desde la primera hora de tratamiento en todas las concentraciones (tablas 10 a 15).

Con respecto al daño en la división celular, se observó que con el dicromato de potasio, se produjo inhibición de la división celular en 0.50% con 4 horas de tratamiento y 44 horas de recuperación (tabla 6); en 0.75% a partir de las 3 horas de tratamiento (tabla 7) y en 1.00% se produjo inhibición total. En el caso del cromato de calcio se obtuvo

inhibición en 0.25% en 4 horas de tratamiento y 44 de recuperación (tabla 12); 0.50% en 4 horas de tratamiento con 18 y 44 de recuperación (tabla 13); en 0.75 y 1.00% en 4 horas de tratamiento con 2, 18 y 44 de recuperación (tablas 14 y 15). Con los datos mostrados en las tablas 6-7 y 12 a 15 se demuestra que el dicromato de potasio tuvo un efecto más drástico sobre la división celular.

En la tabla 16 se muestra las frecuencias obtenidas en todas las concentraciones durante las tre primeras horas de tratamiento en donde la máxima frecuencia de anafases anormales y micronúcleos se localiza en la concentración de 0.75%; la máxima frecuencia de aberraciones la obtiene la concentración más pequeña (0.05%) y la frecuencia máxima de micronúcleos esta en 0.10%.

Con el objeto de comparar los resultados obtenidos con las diversas concentraciones de cromato de calcio en la tabla 17 se presentan los promedios de las frecuencias obtenidas de 1 a 3 horas de tratamiento sin recuperación y 4 horas de tratamiento con 2 y 18 horas de recuperación, en ella se nota que las mayores frecuencias de anafases anormales, aberraciones y cromosomas retardados corresponde a 0.25%, mientras que para micronúcleos es en la concentración de 0.10%.

Basándose en la molaridad en la tabla 2 se observa que en general las frecuencias más altas las presenta el dicromato de potasio.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Uno de los criterios de evaluación de la acción de mutágenos físicos y químicos en las plantas lo constituyen las aberraciones cromosómicas (Nilan, et al., 1963) que son comúnmente analizadas en los meristemos apicales de las raíces. Las alteraciones cromosómicas pueden registrarse en metafase (Kihlman, 1966) y en anafase (Tomkins y Grant, 1972).

En este trabajo se realizaron los estudios en anafase para detectar también el efecto a nivel centromérico que solo es posible analizar en este período.

Otro criterio para conocer los efectos genéticos es la frecuencia de aparición de los micronúcleos, los cuales se observan en interfase.

Se realizaron tratamientos de 1, 2 y 3 horas sin recuperación con el fin de determinar era el efecto del cromo sobre los cromosomas, y el hecho de que las aberraciones aparezcan desde la primera hora de tratamiento en ambas sustancias implica, que los períodos de profase y G_2 están siendo alterados. El hecho que las aberraciones de tipo subclonotípico surjan en las primeras horas de tratamiento

tanto con el dicromato de potasio (tablas 3 a 7) como con el cromato de calcio (tablas 10 a 15) sugiere que existe un intercambio de tipo subcromatídico que se produce generalmente en la profase de la mitosis (Brewen, 1964; Kihlman, 1966). Las aberraciones de tipo cromatídico que se presentan también desde las primeras horas (tablas 3 a 7 y 10 a 15) son producidas en profase, G_2 y síntesis y los de tipo cromosómico en G_1 (Kihlman, 1966).

El hecho de que las aberraciones cromatídicas aparezcan desde las primeras horas de tratamiento sugiere que el cromo hexavalente pertenece al grupo de agentes que según Kihlman (1966) no producen efectos retardados en cuanto a la aparición de las aberraciones. El criterio que Kihlman (1966) aplica a estos términos no está relacionado con el retardo en el ciclo celular, sino con la expresión en la sensibilidad de los diferentes estados de la interfase. En estos experimentos es posible considerar que está siendo alterada la duración del ciclo celular puesto que las aberraciones de tipo cromosómico se presentaron hasta las 48 horas de iniciado el tratamiento y lo deberían hacer desde las 22 horas. También Majone y Levin (1979) encontraron retardo en la mitosis al tratar células de hamster chino con dicromato de potasio y cromato de sodio.

Tanto el dicromato de potasio como el cromato de calcio tuvieron un efecto a nivel de centrómero, dando origen a los cromosomas retardados que pueden deberse a una inactivación del centrómero produciendo los cromosomas con el centrómero inactivado (Tomkins y Grant, 1972) o provocando la ruptura transversal del mismo, dando lugar a los isocromosomas. (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976). Estas alteraciones aparecieron desde las primeras horas de tratamiento (tablas 3 a 7 y 10 a 15), lo que implica que las sales de cromo probadas tuvieron un efecto directo e inmediato sobre el centrómero.

Los micronúcleos también aparecieron desde las primeras horas y son el producto de los fragmentos acéntricos que no son transportados a los polos en el momento de la anafase y al no incorporarse a los núcleos hijos, quedan como pequeños núcleos (Read, 1959) y de los cromosomas retardados (Schmid, 1973).

Al comparar los efectos producidos por el dicromato de potasio con 1 y 2 horas de tratamiento (tabla 8) y de una hora de tratamiento a 4 horas de tratamiento con 2 y 18 horas de recuperación (tabla 9), se observa que para el caso de alteraciones totales hay un incremento de las frecuencias

de acuerdo con la concentración, en el caso de las anafases anormales que están dadas por las aberraciones como por los cromosomas retardados, estos al ser menos frecuentes en 0.10% hace que el valor de las anafases anormales disminuya en este punto, pero con esta excepción se puede considerar que en general también se comporta de acuerdo con la concentración; para los cromosomas retardados y para los micronúcleos no se presenta este comportamiento ya que no hay un patrón definido, por tal razón su evaluación no permite tener una idea clara de dosis-efecto producida por esta sustancia, pero puede resultar un sistema útil y rápido para demostrar si el daño ha sido inducido.

En el caso del cromato de calcio, al comparar los efectos con los tratamientos de 1 a 3 horas (tabla 16) no se encontró relación de las frecuencias de alteraciones con la concentración, notándose que la mayor frecuencia de anafases anormales, aberraciones totales y cromosomas retardados corresponde a 0.75% en tanto que los micronúcleos la presentan en 0.10%. En la tabla 17 se observa que solo para el caso de anafases anormales y cromosomas retardados se sigue un patrón conforme a la concentración.

De igual manera que para el dicromato de potasio, en este caso, los microrondelos se pueden considerar como un parámetro cualitativo más que cuantitativo ya que no hay una correspondencia de las frecuencias con las concentraciones.

Previamente se ha descrito (Majone, 1977) que el dicromato de potasio interfiere en los procesos mitóticos produciendo bloqueo de la mitosis y alteraciones nucleares. También ha sido mencionado que el dicromato de potasio es un fuerte agente citotóxico en cultivo de células de mamíferos, inhibiendo diferencialmente la síntesis de ácidos nucleicos, y de proteínas y afectando el paso de nucleósidos y aminoácidos a través de la membrana plasmática (Levis et al., 1978 a y b).

Schoental (1975) sugiere que la carcinogenesis del cromo puede ser atribuida a los derivados de epoxialdehídos de los etidos lípidicos hidrolizados por la liberación de lipasas cuando los lisosomas han sido dañados por cromo hexavalente, implicando que este mecanismo puede operar para el caso de agentes oxidantes.

Las aberraciones inducidas por los compuestos de cromo en esta investigación, posiblemente se deben al efecto de ciertas enzimas sobre los ácidos nucleicos liberadas de los lisosomas por la acción del cromo; o por el enlace directo del cromo en los ácidos nucleicos y las nucleoproteínas aletrando sus propiedades físico-químicas (Hermann y Speck, 1954; Fuwa et al., 1960; Mertz, 1969). Otros autores han obtenido aberraciones cromosómicas con diferentes sales de cromo (Majone, 1977; Tsuda y Kato, 1977; Majone y Lewis, 1979; Umeda y Nishimura, 1979), alcanzando altos niveles de aberraciones en células de mamífero en cultivo encontrando una relación con la dosis.

Pradkin et al., (1975) observaron que existen cambios morfológicos en células de linfocitos BHK21 debidas al cromato de calcio lo cual parece estar relacionado con la concentración de la sal.

Se ha descrito que el cromato de calcio es un compuesto que presenta una mayor actividad química que los dicromatos (Furtz, 1977). Por otro lado, se ha mostrado que el cromato de calcio tiene un mayor efecto carcinogénico que otros compuestos de cromo (Laskin et al., 1970; Kuschner y Laskin, 1971).

Gómez-Arroyo et al. (datos no publicados), han demostrado que el efecto del cromato de calcio fue mayor que el del dicromato de potasio y el óxido crómico en la inducción de intercambios de cromátidas. Mientras que en los resultados obtenidos en este trabajo se encontró que sobre bases moleculares, el dicromato de potasio, produjo un mayor efecto que el cromato de calcio sobre los cromosomas de Vicia faba.

Levan (1945) se ha descrito en células de cebolla (Allium cepa) un efecto de alteraciones en el huso acromático de algunos metales entre ellos el cromo, dicho efecto es semejante al producido por la colchicina (efecto C-mitótico). Sin embargo este efecto no fue observado en los tratamientos con las sales de cromo aplicadas a las células de haba.

REFERENCIAS

- Anonimo (1952). Toxic chromium wastes and their treatment by reduction. *Chlorination Topics* 5, 2-3.
- Baetjer, A.M. (1956). Relations of chromium to health. *Arch. Ind. Health* 20, 136-164.
- Brewer, J.G. (1964). Studies on the frequencies of chromatid aberrations induced by X-rays at different times of the cell cycle of Vicia faba. *Genetics* 50, 101-107.
- Chou, C.K., Preston, R.D. y Levi, M.P. (1974). Fungitoxic actions of copper chromium-arsenate wood preservative. *Phytopathology* 64, 335-341.
- Conger, A.D. y Fairchild, L.M. (1953). A quick freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technol.* 29, 281-283.
- Cooperman, E.F. (1963). Maximal permissible concentration of hexavalent chromium in atmospheric air. Higiene i Sanit 28, 9. Translated by B.S. Levine U.S.S.R. Literature on Air Pollution and Related Occupational Diseases 12, 249
- Evans, H.J. y Scott, D. (1974). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hydrazide in Vicia faba. *Genetics* 49, 17-38.

- Figueróa, M.D. (1961). Química General Elemental. Porrúa, México pp. 262-263.
- Fradking, A., Janoff, A., Laner, B.P. y Kuschner, M. (1975). In vitro transformation of BHK21 cells grown in the presence of calcium chromate. *Cancer Res.* 35, 1058-1063.
- Furst, A. (1977). Inorganic agents as carcinogens. *Adv. Mod. Toxic. Vol. 3 Environ. Cancer. K. and M., Eds.* Halsted Press, Washington D.C.
- Fuwa, K., Wacker, W.E.C., Druyon, R., Bartholomay, A.F. y Vales, B.L. (1960). Nucleic acids and metals. II: Transition metals as determinants of the conformation of ribonucleic acids. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 46, 1298-1307.
- Green, M.H.L. y Muriel, W.J. (1976). Mutagen testing using TRP reversion in *E. coli*. *Mutat. Res.* 38, 3-32.
- Green, M.H.L., Muriel, W.J. y Bridges, B.A. (1976). A simplified fluctuation test for the detection of low levels of mutagens. *Mutat. Res.* 38, 130-131.
- Grogan, C.H. y Oppenheimer, H. (1955). Experimental studies in metal cancerogenesis. III Behavior of chromium compounds in the physiological pH range. *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 152-154.

- Hermann, H. y Speck, L.B. (1954). Interaction of chromate with nucleic acids in tissues. *Science* 119, 221-223.
- Holden, W.S. (1970). Water treatment and examination. J. and A. Churchill, Londres.
- Hueper, W.C. y Payne, W.W. (1962). Experimental studies in metal carcinogenesis: chromium, niquel, iron, arsenic. *Arch. Environ. Health* 5, 445-462.
- Kihlamm, B.-A. (1966). Actions of chemicals on dividing cells: Prentice-Hall, Nueva Jersey.
- Kuschner, M. y Laskin, S. (1971). Experimental models in environmental carcinogenesis. *Amer. J. Path.* 64, 183-191.
- Laskin, S., Kuschner, M. y Dew, R.T. (1970). Studies in pulmonary carcinogenesis In: M.G. Hanna jr, P. Nettesheim and J.R. Gilbert (eds), Inhalation carcinogenesis. U.S. Atomic Energy Commission Symposium series Na 18, 321-350.
- Levan, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. *Nature* 156, 751-752.
- Levis, A.G., Buttignol, M. y Vettorato, L. (1977). Inhibition of DNA synthesis in *3T3* fibroblast treated in vitro with potassium dichromate. *Experientia* 33, 82-84.

Levis, A.G., Bianchi, V., Tamino, G. y Pegoro, B. (1978 a).

Cytotoxic effects of hexavalent and trivalent chromium on mammalian cells in vitro. Br. J. Cancer 37, 386-396.

Levis, A.G., Buttignol, M., Bianchi, V. y Spenza, G. (1978 b).

Effects of potassium dichromate on nucleic acid and protein synthesis and on precursor uptake in BHK fibroblast. Cancer Res. 38, 110-116.

Levy, L.S. (1975). Carcinogenic and mutagenic activity of chromium containing materials. Brit. J. Cancer 32, 254-255.

Majone, F. (1977). Effects of potassium dichromate on mitosis of cultured mammalian cells. Caryologia 30, 469-481.

Mancuso, T.F. y Huper, W.C. (1951). Occupational cancer and other health hazards in a chromate plant; a medical appraisal. I. Lung cancer in chromate workers. II. Clinical and toxicology aspects. Ind. Med. Surg. 20, 359-363.

Mertz, W. (1967). Biological role of chromium. Federation Proc. 26, 186-191.

Mertz, W. (1969). Chromium occurrence and function in biological systems. Physiol. Rev. 49, 163-239.

- Mertz, W. y Schwarz, R. (1955). Impaired intravenous glucose tolerance as an early sign of dietary neurotic liver degeneration. Arch. Biochem. Biophys. 58, 504-506.
- Mertz, W., Reginski, E.E. y Reba, R.C. (1965). Biological activity and fate of trace quantities of intravenous chromium (III) in the rat. AM. J. Physiol. 209, 489-494.
- Mikosha, A. (1959). Trace elements in human embryos. Nauk. Zap. Satnilans'k Med. Inst. 3, 85-89.
- Nakamuro, K., Yoshikawa, K., Suyato, Y. y Kurata, H. (1978). Comparative studies of chromosomal aberration and mutagenicity of trivalent and hexavalent chromium. Mutat. Res. 58, 175-181.
- National Academy of Sciences (1972). Water quality criteria. Washington D.C.
- Nicoloff, H. y Gecheff, K. (1976). Method of scoring induced chromosome structural changes in barley. Mutat. Res. 34, 233-244.
- Nilan, R.A., Konzak, C.F., Weiner, R.E. y Froeze-Uertzen, E.E. (1963). Chemical mutagenesis in barley. Proceedings of the first international barley genetics symposium. Wageningen

Nishioka, M. (1975). Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. *Mutat. Res.* 31, 185-189.

Petrilli, F.L. y De Flora, S. (1978). Metabolic deactivation of hexavalent chromium mutagenicity. *Mutat. Res.* 54, 139-147.

Pribluda, L.A. (1963). The chromium of hollow of the human fetus. *Dokl. Akad. Nauk. Belovussk SSR.* 7, 135-136.

Raben, A.S. y Anton'ev, A.A. (1966). Mechanism of skin-sensitizing effect of chromium and nickel compounds. *Vestn. Dermatol. Venerol.* 40, 19-23.

Ramanna, M.S. y Natarajan, A.T. (1966). Chromosome breaking induced by alkyl-alkanesulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosome* 18, 44-59.

Read, J. (1959). Mitosis, and the inhibition of mitosis by radiations. En: Radition biology of *Vicia faba* in relation to the general problem. Blackwell Scient. Pub. Oxford, p. 48-69.

Roe, F.J.C. y Carter, R.L. (1969). Chromium carcinogenesis: Calcium chromate as a potent carcinogen for the subcutaneous tissues of the rat. *Brit. J. Cancer*, 23, 172-176.

Samitz, M.H., Katz, S. y Schrager, D. (1967). Studies of the diffusion of chromium compounds through skin. *J. Invest. Dermatol.* 48, 514

- Sanit-Rat, L.D. (1948). The presence of chromium in vegetables
Compt. Rend. Acad. Sci., Paris 277, 150-152.
- Schmid, W. (1973). Chemical mutagen testing on in vivo somatic
mammalian cells. Agents and Actions 2, 77-85.
- Schoental, R. (1975). Chromium carcinogenesis, formation of
epoxy-aldehydes and tanning. Br. J. Cancer 403-
404.
- Schroeder, H.A., Balassa, J.J. y Tripton, I.H. (1962). Abnormal
trace metals in man: Chromium. J. Chron. Dis.
15, 941-964.
- Schroeder, H.A., Balassa, J.J. y Vinton, W.H. (1965). Chromium,
cadmium and lead in rat: effects on life span
tumors and tissue levels. J. Nutr. 86, 51-66.
- Schroeder, H.A., Vinton, W.H. y Balassa, J.J. (1968). The role
of chromium in mammalian nutrition. Amer. J.
Clin. Nutr. 21, 230-244.
- Sluis-Cremer, G.K. y Du Toit, R.S.J. (1968). Pneumoconiosis
in chromite miners in South Africa. Brit. J.
Med. 25, 63
- Stokinger, H.E. (1963). Chromium. En: Industrial hygiene and
toxicology. Vol. I. Interscience Publisher".
Nueva York.

- Sullivan, R.J. (1969). Preliminary air pollution survey of chromium and its compounds. A literature Review U.S. Dept of Health Education and Welfare.
- Susuki, T., Ichikawa, K. e Hirokawa, T. (1959). A hygienic survey of a chrymate producing plant. Bull. Inst. Public. Health 8, 39-50. Chem Abstr. 54, 21544
- Tomkins, D.J. y Grant, W.F. (1972). Comparative citological effects of the pesticides menazon, metrobomuron and tretachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia; Can. J. Genet. Cytol. 14, 245-256.
- Tsuda, H. y Kato, K. (1977). Chromosomal aberrations and morphological transformation in hamster embryonic cells treated with potassium dichromate in vitro. Mutat. Res. 46, 87-94.
- Udy, M.J. (1956). Chromium: chemistry of chromium and its compounds. Amer. Chem. Soc. Vol I Monograf 132, Reinhold, Nueva York.
- Umeda, M. y Nishimura, M. (1979). Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. Mutat. Res. 67, 221-229.
- U.S. Public Health Service (1953). Health of workers in chromate producing industry. Publications # 192, Washington, U.S.

- Venitt, S. y Levy, L.S. (1974). Mutagenicity of chromate in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis. *Nature* 250, 493-495.
- Villalobos-Pietrini, R. (1965). Alteraciones inducidas por los rayos X en los cromosomas de la raíz de Vicia faba. I. Aspectos Técnicos. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 29, 178-183.
- Von Rosen, G. (1954). Breaking of chromosome by the action of elements of the periodical systems and by some other principles. *Hereditas* 40, 258-263.
- Wallace, A., Soufi, S.M., Cha, J.M. y Romney, E.M. (1976). Some effects of chromium toxicity on bush bean plant grown in soil. *Plant and Soil* 44, 471-473.
- WHO (World Health Organization) (1963). International standards for drinking water. 2n. ed. Geneva.

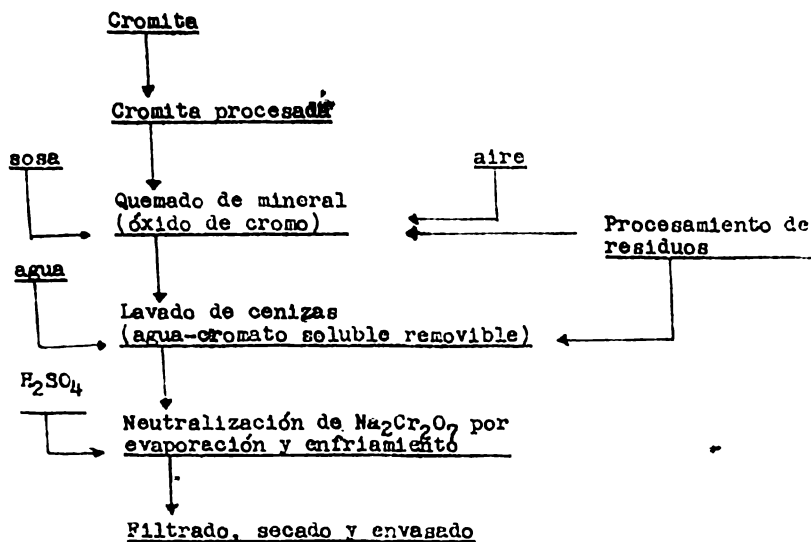


Figura 1

DIAGRAMA DEL FLUJO TIPICO DE UNA PLANTA PRODUCTORA
DE CROMATOS (según Sullivan, 1969)

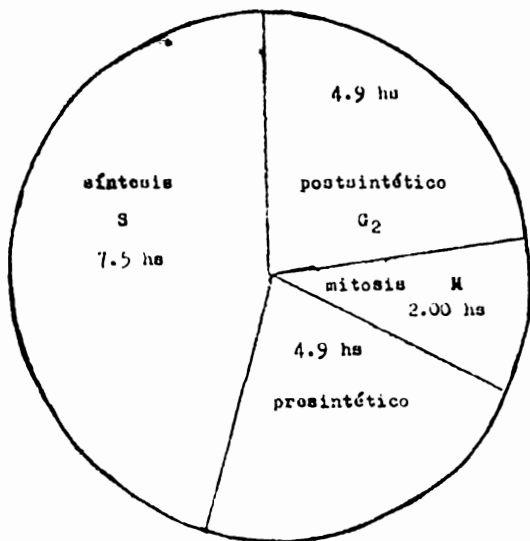


Figura 2
DURACION DEL CICLO CELULAR A 19°C
(según Evans y Scott, 1964).

Compuesto	Porcentaje
Cr_2O_3	14.20
Fe_2O_3	51.10
Al_2O_3	9.20
SiO_2	6.80
MgO	11.30
CaO	3.00
Pérdida por ignición	4.00

Tabla 1. Composición Química del Mineral Cromita
(según Sullivan, 1969).

DICROMATO DE POTASIO

Concentración (%)	ppm	Molaridad
0.05	500.	0.0017
0.10	1000	0.0034
0.25	2500	0.0085
0.50	5000	0.0170
0.75	7500	0.0255

CROMATO DE CALCIO

Concentración (%)	ppm	Molaridad
0.05	500	0.0032
0.10	1000	0.0064
0.25	2500	0.0160
0.50	5000	0.0320
0.75	7500	0.0480
1.00	10000	0.0641

Tabla 2. Equivalentes en ppm y molaridades de las concentraciones utilizadas

EFECTOS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.05% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION.

Data Caso (horas)	Tiempo de recu- peracion (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos sen- dobles cillos	% Puentes subcrom- atidicos		% Cromosomas retardados centro- mero inac- tivado		% Micronu- cleos isocro- mosomas		
1	0	1575	3.70	2.90	1.05	0	0.29	1.56	0	1.00	0.29	1.65
	0	1372	5.28	4.47	2.34	0	0.49	1.64	0	1.85	0.38	1.05
3	0	1142	4.24	5.85	0.58	0	0.0	5.27	0	0.23	0	1.10
4	2	611	6.61	4.57	0.88	0	0	3.69	0	0.33	0	0.75
	18	234	5.51	2.14	0.43	0.43	0	1.28	0	2.14	0	0.80
7	44	220	4.54	4.54	3.18	0	0	1.36	0	0.45	0	0.80

con y sin fragmentos

se analizaron 2.000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.05% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION.

Fecha (días)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	%	%	%	%		%	%	%		
			Anafases anormales	Aberraciones totales	Fragmentos sen-dobles cilios	Puentes subcromatídicos	sen dobles cilios	Cromosomas retardados centro mero inac- tivado	Micronúcleos isocromosomas			
1	0	1575	3.70	2.90	1.05	0	0.29	1.56	0	1.00	0.29	1.65
	0	1372	5.26	4.47	2.34	0	0.49	1.64	0	1.85	0.38	1.05
	0	1142	4.24	5.85	0.58	0	0	5.27	0	0.23	0	1.10
		611	6.61	4.57	0.88	0	0	3.69	0	0.33	0	0.75
	10	234		2.14	0.43	0.43	0	1.20		2.14		0.00
	44	220	4.54	4.54	3.18	0	0	1.36	0	0.45	0	0.80

con y sin fragmentos

se analizaron 2.000 células en interfase para cada caso

TABLA 4

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.10% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	%	%	%		%		%	%		
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos sen-dobles cillos	Puentes suboro matid ₁ cos	sen-dobles cillos	Cromosomas retardados centro mero isocro- mosomas inac- tivado	Micronú- cleos			
1	0	1039	3.65	4.21	1.54	0	0.20	2.47	0	0.60	0.60	0.20
	0	361	4.34	4.34	1.91	0	0	2.43	0	0	0	0.10
	0	404	6.20	6.18	1.96	0	0	4.22	0	1.35	0	1.10
4	2	666	6.66	10.36	3.66	0	0	6.70	0	0.80	0	0.45
4	16	100	2.00	2.00	1.00	0	0	1.00	0	0	0	0
4	44	781	5.30	4.93	2.91	0	0	1.35	0.67	0.50	0.35	0.35

, con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.25% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	%	%	%		%			%	%	
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos sen- dobles cillos	Puentes subcro- matídi- cos	sen-dobles cillos	Cromosomas retardados centro mero inac- tivado	isocro- mosomas	Microní- cloos		
1	0	1160	2.15	1.78	1.12	0	0.16	0.50	0	0.88	0.18	0.55
		418	9.20	10.16	3.13		1.89	5.16	0	0.63	2.00	0.50
3	0	664	6.45	10.24	0.75	0	0.90	6.94	0	0.30	0	0.20
4		329	5.49	12.22	1.44	0	0	10.78	0	0	0	0.60
4	18	80	6.25	7.50	0	0	0	5.00	2.50	0	0	0
4	44	100	38.00	63.00	0	7.00	0	27.00	29.00	1.00	0	0.40

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.50% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	Fragmentos sen-dobles cilios	subor- matidi- cos	Puentes sen-dobles cilios	Cromosomas retardados centra- mero isocra- mosomas inac- tivado	Micromi- cleos			
1	0	447	3.22	3.84	1.16	0	0	2.68	0	0	3.48	1.00
		134	9.04	10.34	5.49	0	0	1.85	0	0	0	0.40
3	0	374	16.27	17.28	3.88	0	0	13.40	0	0	0	0.40
4	2	130	3.09	3.69	0	0	0	3.09	0	0	0	0.55
4	18	200	12.00	20.50	0	0	0	14.00	6.50	0.50	0	0
4	44	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 7

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) 0.75% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Fracc- Tiempo niento de recu (horas) peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio nes totales	% Fragmentos sen- dobles cilios	% Puentes subcra sen-dobles matid ₁ cilios cos	% Cromosomas retardados centro isocro mero mosomas inac- tivado	% Micronú- cleos
1	0	281	11.43	18.39	1.49 0	2.47 15.17 0	0.46 0 0.70
	0	29	45.85	47.84	7.69 0	7.69 40.14 0	6.25 15.38 0.40
3	0	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS					
4	2	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS					
4	18	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS					
4	44	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS					

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIA (-TESTIGO) DE ALTERACIONES INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) EN LOS
CROMOSOMAS DE Vicia faba OBTENIDAS DEL PROMEDIO DE 1 a 2 HORAS DE TRATAMIENTO

Concentración $K_2Cr_2O_7$ (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Micronúcleos
0.05	2947	4.49	3.69	1.76	1.55
0.10	1400	3.99	4.27	0.60	
0.25	1578	5.68	5.97	1.85	0.50
0.50	581	6.13	7.09	1.74	0.70
0.75	310	27.66	33.12	11.05	0.55

TABLA 9

FRECUENCIA (-TESTIGO) DE ALTERACIONES INDUCIDAS POR DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) EN LOS CROMOSOMAS DE Viola faba OBTENIDAS DEL PROMEDIO DE 1 a 3 HORAS DE TRATAMIENTO Y 2 Y 4 HORAS DE TRATAMIENTO Y 18 DE RECUPERACION

Concentración $K_2Cr_2O_7$ (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Micronúcleos
	4934	5.07	3.99	1.24	1.07
0.10	2570	4.57	5.42	0.67	0.37
0.25	2651	5.91	8.38	0.80	0.37
0.50	1285	8.72	11.01	0.80	0.47

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR CROMATO
 DE CALCIO (CaCrO_4) 0.05% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos sen- dobles cillos		% Puentes subcro sen- dobles matídil cillos cos			% Cromosomas retardados centro isocro- mero monomas inac- tivado		% Microfó- leas
	0	677	1.61	1.61	0	0	0.80	0.81	0	0	0	0.65
2	0	511	1.91	9.01	0	0	0	9.01	0	0.24	0.24	0.10
3	0	274	9.33	9.33	1.99	0	0.49	6.85	0	0	0	1.10
4		236	2.01	2.97	0.62	0	0	2.35	0	0.07	0	0.35
	1º	262	2.32	4.43	1.83	0	0	1.30	1.30	0.54	0	0.30
4	4.	944	4.56	3.72	1.26	1.07	0	1.18	0.21	1.10	0.32	1.20

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) 0.10% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sencillos		% Puentes subcentromericales		% Cromosomas retardados isocromosomas		% Micronúcleos	
1	0	502	1.32	1.32	1.00	0	0	0.32	0	0	0	1.10
2	0	470	2.69	2.69	0.56	0	1.15	0.98	0	0	0	1.10
	0	263	7.93	7.93	0	0	1.76	6.17	0	0	0	1.40
4	2	181	6.10	6.10	1.10	0	0	5.00	0	0	0	0.40
4	18	56	2.90	1.79	0	0	0	1.79	0	1.79	0	1.30
4	44	853	1.56	1.43	0.27	0.58	0	0.58	0	0.58	0.58	0.80

con y sin fragmentos

se analizaron 2,00 células en interfase para cada caso

■ TABLA 12 ■

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) 0.25% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos sem- dobles cillos		% Puentes subcro- matídi- cillos		% Cromosomas retardados centro mero inac- tivado		% Micronú- cleos	
1	0	1623	2.01	2.01	0.94	0	0.42	0.65	0	0.24	0	0.50
	0	838	4.21	5.71	0.60	0	1.95	3.16	0	0.57	0.28	1.20
3	0	1432	7.15	7.15	1.10	0	0.62	5.43	0	0.09	0	0.60
4		114	9.87	7.00	1.50	0	0	5.55	0	0	3.57	0.80
4	18	61	7.96	9.53	3.50	2.53	0	3.50	0	3.19	0	0.40
44			NO HUBO FIGURAS MITOTICAS									

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 13

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) 0.50% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	$\%$ Anafases anormales	$\%$ Aberracio- nes totales	$\%$ Fragmentos sen-dobles cillos	$\%$ subcoro matidi cillos	$\%$ Puentes sen-dobles cillos	$\%$ Cromosomas retardados centro isocro- mero inac- tivado	$\%$ Micronú- cleos			
1	0	484	1.80	2.53	0.62	0	0.62	1.29	0	0	0.62	0.10
2	0	1135	2.95	3.90	0.38	0	1.54	1.98	0	0.32	0.11	0.90
3	0	438	4.44	4.44	0.02	0	0.86	3.56	0	0	0	0.60
4	2	141	9.46	9.46	0	0	0	9.46	0	0	0	1.
4	18		NO	HUBO	FIGURAS		MITOTICAS					
4	44		NO	HUBO	FIGURAS		MITOTICAS					

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 14

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) 0.75% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	Aberracio- nes totales	% Fragmentos sen-dobles cilios	Puentes subcro- matídicos	% sen-dobles cilios	% Cromosomas retardados centro- mero inac- tivado	% isocro- mosomas	Micronú- cleos		
1	0	963	0.52	0.82	1.02	0	0	0.62	0	0.37	0	0.
2	0	644	2.42	2.28	0.28	0	0.40	1.94	0	0.20	0.20	1.00
3	0	53	13.32	12.31	0	0	0	12.31	0	2.70	0	0.60
4	2	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										
4	18	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										
4	44	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

TABLA 15

8.

FRECUENCIAS DE ALIENACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR -CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) 1.00% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION.

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Fragmentos sen- dobles cillos		% Puentes suber- matidi- cos sen- dobles cillos			% Cromosomas retardados centro mero inac- tivado	% Micro- núcleos	
1	0	239	2.05	2.05	1.38	0	0.67	0	0	0	0	0.80
2	0	553	3.41	3.41	0.25	0	0	3.29	0	0	0	0.60
3	0	349	1.62	2.60	1.26	0	0	1.55	0	0.15	0.15	0
4	2	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										
4	18	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										
4	44	NO HUBO FIGURAS MITOTICAS										

con y sin fragmentos

se analizaron 2,000 células en interfase para cada caso

FRECUENCIAS (-TESTIGO) DE ALTERACIONES INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) EN LOS CROMOSOMAS DE Viola sp OBTENIDAS DEL PROMEDIO DE 1 A 3 HORAS DE TRATAMIENTO

Concentración CaCrO_4 (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Micromúcleos
0.05	1462	4.28	6.65	0.16	0.62
0.10	1235	3.68	3.98	0	1.20
0.25	3893	4.46	4.46	0.39	0.77
0.50	2057	3.06	1.48	0.35	0.53
0.75	1660	5.42	5.14	1.16	0.78
1.00	1141 ¹	2.36	2.69	0.10	0.70

TABLA 17

FRECUENCIAS (-TESTIGO) DE ALTERACIONES INDUCIDAS POR CROMATO DE CALCIO (CaCrO_4) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba OBTENIDAS DEL PROMEDIO DE 1 A 3 HORAS DE TRATAMIENTO Y 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON 18 DE RECUPERACION

Concentración CaCrO_4 (%)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	% Cromosomas retardados	% Micronúcleos
0.05	1960	3.44	5.47	0.22	0.50
0.10	1472	4.12	3.97	0.36	1.06
0.25	4068	6.24	6.28	1.52	0.70