

35
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA



EFFECTO DEL ACETATO DE ETILO SOBRE LOS
CROMOSOMAS DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS
DE LA RAIZ DE Vicia faba

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

PRISCILA CASTILLO RUIZ

MEXICO, D. F.

1981



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.

C O N T E N I D O

	Pag.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	11
RESULTADOS	15
DISCUSION Y CONCLUSIONES	18
REFERENCIAS	31
TABLAS Y FIGURAS	41

RESUMEN

Los meristemas apicales de la raíz de Vicia faba fueron tratados con diferentes concentraciones de acetato de etilo con el objeto de conocer su comportamiento a nivel genético. Los resultados obtenidos, al analizar células en anafase, demostraron que este solvente produce alteraciones cromosómicas como aberraciones morfológicas (fragmentos sencillos y dobles, puentes subcromatídicos y puentes sencillos y dobles), cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) y anormalidades en el huso mitótico (anafases multipolares). También se registró la frecuencia de micronúcleos en células en interfase.

El acetato de etilo tuvo un efecto c-mitótico dependiente de la concentración y la evaluación del índice mitótico mostró que la concentración más baja (0.50%) fue estimulante, mientras que la mayor (2.50%) tuvo un efecto inhibitorio.

INTRODUCCION

En las últimas décadas se ha dado gran importancia a los problemas de higiene ocupacional que afectan a los trabajadores de la industria, debido a lo cual se han formulado una serie de leyes que regulan la concentración de los solventes industriales y otros contaminantes ambientales en diversas partes del mundo (Moreton y Falla, 1980).

Los solventes industriales se utilizan profusamente en las industrias de adhesivos, pinturas, lacas, barnices y tintas (CEMEF, 1976); sin embargo, no sólo son importantes por su amplio uso en la elaboración de numerosos productos, sino también por el abuso que de ellos se hace como inhalantes, lo cual representa uno de los problemas más críticos de farmacodependencia en nuestro país.

En un grado mayor o menor, todos los solventes son tóxicos y las personas que los inhalan, involuntaria o voluntariamente, son dañados en su salud (Gutiérrez-Flores, 1975), ocasionando, además, alteraciones en su comportamiento las cuales tienen repercusiones sociales complejas.

Entre los productos inhalables utilizados con mayor frecuencia se encuentran los distintos tipos de cemento (to-

lueno, acetona, etc.) y solventes comerciales como tetracloruro de carbono y acetatos alifáticos (Torres-Ruiz, 1975). Así mismo se ha dado a conocer la existencia de un gran número de abusadores del tñner, el cual se conoce como una mezcla balanceada de solventes activos, latentes y diluyentes (Gutiérrez-Flores, 1975) que incluyen: tolueno, n-hexano, etanol, acetato de etilo, isopropanol, benceno y n-heptano (CEMEF, 1976).

En estudios de intoxicaciones críticas con benceno (CEMEF, 1976) se ha descrito a este inhalante como productor de hemopatías y múltiples alteraciones fisiológicas, histológicas y morfológicas en el organismo, siendo la mujer más susceptible a este tipo de intoxicaciones ya que le provocan cuadros muy serios de anemia.

Respecto a inhalaciones crónicas de tolueno, se ha demostrado fatiga y dificultad para la coordinación muscular, nerviosismo, insomnio (Von Oettingen et al., 1942), así como adelgazamiento de la vaina de mielina con acumulación de filamentos y pérdida de axones (Korobkin et al., 1975; Cianchetti et al., 1976). Al quedar en contacto con la piel o las membranas mucosas, el tolueno puede provocar dermatitis, neumonía y hemorragia pulmonar (Zeman y Klatil, 1959).

También se ha reportado daño a nivel genético ocasionado por algunas de estas sustancias; Rieger y Michaelis (1970) y Rosas (1980), en estudios realizados en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba demostraron que el alcohol etílico es un inductor de daño cromosómico.

Gómez-Arroyo (1980) encontró que el tñer y algunos de sus principales componentes como tolueno, benceno y n-hexa no producen alteraciones en los cromosomas de los meristemas de la raíz de Vicia faba.

Otro constituyente importante del tñer es el acetato de etilo que forma parte de los ésteres alifáticos, de amplia utilidad en la industria como solvente de lacas, barnices, nitrocelulosa y acetato de celulosa. También se emplea en la fabricación de la piel artificial, películas fotográficas y plásticos. Así como en la manufactura de pinturas, fármacos sintéticos y en la preparación de esencias frutales artificiales (Fassett, 1963), constituyendo una fuente de intoxicación involuntaria para aquellas personas que por razones ocupacionales han sido sujetas a una exposición continua. De ahí que uno de los problemas más importantes en la higiene industrial sea el control del grado de exposición de las personas que trabajan en presencia de los vapores de solventes (Fernández y Droz, 1974).

Se ha observado que los vapores de acetato de etilo en concentraciones de 200 ppm producen la pérdida del olfato hacia determinados aromas, ya que a esta concentración emite un fuerte olor (Barrios y Devoto, 1931). Por otra parte, se ha descrito que las concentraciones de 400 ppm causan irritación severa de las membranas mucosas y dermatitis (Nelson et al., Marsden y Seymour, 1963; Fernández y Droz, 1974), mientras que concentraciones más elevadas tienen un efecto narcótico (Marsden y Seymour, 1943).

El acetato de etilo también se encuentra como constituyente de materiales de construcción de polímeros y refrigerantes en la industria aeronáutica y espacial, lo cual representa una fuente de contaminación en los compartimientos herméticamente cerrados (Tikhonova et al., 1979). Althoff (1931), reportó la muerte de un trabajador en el interior de un tanque donde se utilizaba pintura que contenía 80% de acetato de etilo. La autopsia demostró que todos los órganos y tejidos oían fuertemente a dicho solvente.

Se considera que una intoxicación aguda por acetato de etilo disminuye la presión sistémica y la presión arterial pulmonar (Nakano y Kessinger, 1971). También ejerce una acción depresiva sobre la contractilidad del miocardio, originando el colapso cardiovascular y subsecuentemente la muerte (Nakano

et al., 1973).

Debido a su solubilidad en el plasma, los vapores inhalados de este solvente pasan a través de los alveolos pulmonares, hidrolizándose rápidamente en etanol y ácido acético a nivel vascular (Fassett, 1963; Gallaher y Loomis, 1975). Esta reacción es catalizada por esterases no específicas dentro de la sangre y de ciertos órganos (hígado, páncreas y corazón). Estos dos productos de la hidrólisis se transforman principalmente en acetil-coenzima A que es oxidada durante el ciclo tricarboxílico o de Krebs y además es degradada vía cetogénesis que conduce a la formación de ácido acetilacético, ácido β -hidroxibutírico y acetona (Fernández y Droz, 1974; Kojima et al., 1979). Por lo que la exposición industrial al acetato de etilo provoca un aumento de la concentración de éster, etanol y eventualmente acetona en la sangre.

En estudios realizados en ratas se ha observado que la acumulación de alcohol etílico (Gallaher y Loomis, 1975) y ácido acético, debido a una excesiva inhalación de acetato de etilo, altera el metabolismo del piruvato ya que causa un incremento significativo en los niveles de ácido pirúvico contenidos en la sangre y en el hígado. Así mismo se incrementa el ácido láctico y decrece el glicógeno, siendo estas alteraciones bioquímicas responsables de sus efectos tóxicos

(Seth y Srivastava, 1974).

Por otra parte, el acetato de etilo juega un papel importante como reactivo en los métodos cromatográficos utilizados para evaluar el contenido de ácidos hipúricos en la orina, siendo éstos metabolitos del tolueno, xileno y otros solventes industriales (Yoshida et al., 1978). Tanto el método por cromatografía de gases (Buchet y Lauwerys, 1973) como el de cromatografía líquida (Matsui et al., 1977) emplean el acetato de etilo para prevenir el bloqueo del empaquetamiento fino de la columna y protegerla. Un método más barato y preciso para determinar las concentraciones de los vapores de solventes en el aire consiste en la utilización de tubos indicadores de vidrio que contienen un adsorbente cubierto por un reactivo. El tubo indicador de Draeger emplea el acetato de etilo como constituyente de la capa indicadora, la cual cambia de color al reaccionar con los distintos vapores de solventes (Moreton y Falla, 1980).

Utilizando el método de cromatografía líquida y de gases, Murphee et al. (1967) y Nakano y Kessinger (1971) demostraron que algunas bebidas alcohólicas, como los brandis, contienen cantidades significativas de diversas sustancias tóxicas para los humanos entre las que se incluye el acetato de etilo.

Aún falta realizar estudios acerca de los efectos que produce el acetato de etilo en el hombre, entre ellos los ocasionados a nivel genético. Sin embargo, debido a que no es posible experimentar directamente en éste, se utilizan sistemas biológicos de prueba más sencillos como el haba (Vicia faba) ya que sus cromosomas son pocos ($2n=12$), grandes y fácilmente observables. Su cariotipo normal está constituido por 5 pares de cromosomas subacrocentricos y un par de cromosomas submetacéntricos, los cuales presentan en sus brazos cortos una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar (Fig. 1).

La duración del ciclo celular en la raíz principal de Vicia faba es de 19.3 horas (Evans y Scott, 1964) a 19°C, considerando los siguientes tiempos para cada periodo: pre-sintético (G_1) 4.9 horas, sintético (S) 7.5 horas, postsintético (G_2) 4.9 horas y mitosis (M) 2 horas (Fig. 2).

Es importante conocer el efecto que tienen las sustancias en el ciclo celular, al respecto Kihlman (1966) considera que son de efecto "no retardado" aquellas que inducen aberraciones en los cromosomas que aparecen por lo menos 3 horas de iniciado el tratamiento y su máxima frecuencia se evidencia entre las 4 y las 10 horas. Otras sustancias manifiestan su efecto hasta después de 8 horas de iniciado el tratamiento y su máxima frecuencia ocurre entre las 24 y las 48

horas, considerándolas de efecto "retardado".

La posibilidad de utilizar el lapso entre el comienzo del tratamiento y la aparición de aberraciones, ha sido puesto en duda ya que éste puede ser el resultado de un alargamiento de la duración del ciclo celular que es provocada por la mayoría de los agentes que producen rompimientos en los cromosomas (Evans, 1963 ; Wolff, 1963).

Kihlman et al. (1978) consideran posible reunir en dos grupos a los agentes químicos y físicos que producen aberraciones en los cromosomas. En el primero se incluyen aquellos agentes cuyos efectos requieren de la síntesis de ADN (S-dependientes) para que las aberraciones se manifiesten, las cuales son siempre de tipo cromatídico independientemente del estado del ciclo celular en el que actúen. Los agentes que provocan estos efectos son los agentes alquilantes y las radiaciones ultravioleta (Bender et al., 1973).

Dentro de un segundo grupo se encuentran los agentes cuyos efectos no requieren de la síntesis de ADN (S-independientes) para que las aberraciones que producen se manifiesten. Entre ellos se encuentran los rayos X y los antibióticos bleomicina, pleomicina y estreptonigrina, así como algunas oxipurinas metiladas (Kihlman, 1975), estos agentes inducen aberraciones subcromatídicas cuya unidad de ruptura es la

media cromátida y son originados en profase, aberraciones cromatídicas siendo la unidad de ruptura la cromátida y se originan en S y G₂ y aberraciones cromosómicas donde el cromosoma es la unidad de ruptura y se producen en G₁ (Kihlman, 1966).

Otro tipo de alteración que pueden provocar las sustancias es sobre la región centromérica dando origen a los cromosomas con el centrómero inactivado (Ramanna y Natarajan, 1966; Tomkins y Grant, 1972) y a los isocromosomas al producir la ruptura transversal del mismo (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976).

Los solventes también producen alteraciones en el huso acromático, ocasionando la producción de anafases multipolares y c-mitosis. De acuerdo con Levan (1938), la c-mitosis consiste en una inactivación del aparato mitótico aunado a un retardo en la división del centrómero. El primer agente conocido por su habilidad para inhibir la función del huso mitótico es la colchicina (Kihlman, 1966) la cual se extrae de una planta bulbosa Colchicum autumnale y es capaz de modificar el proceso normal de la mitosis produciendo los eventos denominados c-mitóticos. En contraste con las metafases normales, los movimientos cromosómicos durante las c-metáfases no resultan de una interacción entre el centrómero y el huso,

sino de una fuerte tendencia de los cromosomas a enderezarse, o de un acortamiento cromosómico y oscilaciones de los cromosomas, así como de un desenrollamiento de las cromátidas hijas (Molé-Bajer, 1958), resultando en la unión de las cromátidas hermanas de cada cromosoma en forma característica conocida como "pares-c" (Levan, 1938).

Dada la gran importancia que tiene el acetato de etilo por ser un constituyente del tñer, así como por su amplia distribución y toxicidad en los organismos, es necesario conocer su comportamiento a nivel genético por lo cual en este trabajo se investigó su efecto sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba.

MATERIAL Y METODO

Las semillas de Vicia faba * (variedad mayor, serie C-69-12) fueron lavadas en agua corriente durante dos horas. Al cabo de este tiempo, se mantuvieron 24 horas en remojo a temperatura constante (21°C) y en la obscuridad, con el obje

Las semillas fueron proporcionadas por CIDAGEM (Consejo para la Investigación y Desarrollo de la Agricultura y la Ganadería del Estado de México) Toluca, Edo. de México.

to de acelerar la germinación.

Antes de sembrar las semillas entre dos capas de algodón humedecido, se lavaron nuevamente durante 10 minutos en agua corriente, posteriormente se pusieron a germinar a temperatura constante y en la obscuridad.

Una vez que aparecieron las radículas, se les quitó la testa para evitar la contaminación por hongos. Cuando las raíces midieron 4 cm de longitud, se separaron en lotes de 5 y se sometieron a las siguientes concentraciones de acetato de etilo (Baker): 0.5, 1.0, 2.0 y 2.5% (establecidas en experiencias previas) con 1, 2 y 3 horas de tratamiento sin recuperación y 4 horas de tratamiento con 12, 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación.

Para efectuar los tratamientos se utilizaron cristalizadores cubiertos con papel aluminio perforado, por donde se introdujeron las raíces manteniendo agitación constante con el objeto de tener una mezcla homogénea.

Las condiciones experimentales de los lotes testigo fueron las mismas, excepto que las raíces fueron sumergidas en agua destilada. Al finalizar el tratamiento las plántulas que requirieron recuperación fueron colocadas en un baño con

agua corriente, aereación y temperatura constante (19°C) y permanecieron en la obscuridad para evitar el efecto del ritmo circadiano.

Las preparaciones se hicieron según la técnica modificada de Villalobos-Pietrini (1965), cortando 2 mm del extremo distal de las raíces principales y colocándolos en portaobjetos excavados conteniendo ácido clorhídrico (Sigma) 5 N para hidrolizarlos durante 10 minutos. Posteriormente se retiró el ácido y se agregaron unas gotas de acetorceína* por 20 min. En seguida los cortes se transfirieron a portaobjetos planos con una gota de ácido acético (Baker) al 45%, se colocó un cubreobjetos por encima del corte y se hizo presión con la goma de un lápiz ("squash").

Siguiendo la técnica de Conger y Fairchild (1953), las preparaciones se hicieron permanentes poniéndolas sobre hielo seco y separando el cubreobjetos con un bisturí. Posteriormente se deshidrataron con dos cambios rápidos de butanol absoluto (Merck) y finalmente se montaron en bálsamo de Canadá (Merck).

*Se preparó con 3 g de orceína sintética (Sigma) en 100 ml de ácido acético (Merck) al 70%; se calentó a ebullición y a reflujo durante 2 horas y se filtró cuando estuvo fría.

El análisis de las alteraciones en los cromosomas se llevó a cabo observando todas las anafases de cada preparación. También se registró la presencia de micronúcleos revisando al azar 1000 células en interfase. De igual forma se analizaron los testigos correspondientes a cada concentración y tiempo de recuperación.

El índice mitótico (I.M.) se evaluó sobre campos al azar en 1000 células, obteniéndolo de la siguiente manera:

$$\text{I.M.} = \frac{\text{Número de células en división}}{\text{Número total de células}}$$

Para comparar el índice mitótico de cada concentración con su testigo correspondiente se aplicó la prueba estadística de diferencia de proporciones (Spiegel, 1970) utilizando la siguiente fórmula:

$$p = \frac{N_1 P_1 + N_2 P_2}{N_1 + N_2}$$

$$q = 1 - p$$

$$\sigma_{P_1 - P_2} = \sqrt{pq \left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}$$

$$z = \frac{P_1 - P_2}{\sigma_{P_1 - P_2}}$$

donde:

- N_1 = Total de células analizadas en el testigo
 N_2 = Total de células analizadas en cada concentración
 P_1 = Índice mitótico del testigo (expresado en %)
 P_2 = Índice mitótico de cada concentración (expresado en %)
 $\sigma P_1 - P_2$ = Desviación estándar de los índices mitóticos
 z = Valor crítico
 p = Probabilidad de encontrar células en mitosis
 q = Probabilidad de encontrar células en interfase

Se realizó un experimento y su repetición de todas las concentraciones de acetato de etilo y el testigo.

RESULTADOS

La evaluación de los efectos producidos por el acetato de etilo en los cromosomas de Vicia faba fueron cuantificados en células en anafase, registrándose: fragmentos sencillos y dobles (Fig. 3 A, B), puentes subcromatídicos (Fig. 3 C), puentes sencillos y dobles (Fig. 3 D, E), cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) (Fig. 3 F, G), anafases multipolares (Fig. 3 H) y micronúcleos (Fig. 3 I). Generalmente se observó una alteración por anafase aunque en algunas ocasiones hubo más de una.

Las aberraciones subcromatídicas (puentes subcromatídicos) se manifestaron en 0.5 y 2.0% en la segunda hora de tratamiento (tablas 1 y 3).

Las aberraciones cromatídicas (fragmentos y puentes sencillos) se presentaron a partir de las primeras horas de tratamiento (tablas 1, 2, 3 y 4) y se observaron en casi todos los tiempos de tratamiento y recuperación, con algunas excepciones en 2.5%.

Las aberraciones cromosómicas (fragmentos y puentes dobles) aparecieron en los tratamientos de 4 horas con 42 y 44 horas de recuperación en 1.0 y 2.0% (tablas 2 y 3).

Los cromosomas con el centrómero inactivado se evidenciaron desde la primera hora de tratamiento en todos los casos (tablas 1, 2, 3 y 4), con una sola excepción (tabla 2); mientras que los isocromosomas no se encontraron en los tratamientos de 4 horas con 18 de recuperación en 1.0 y 2.5% (tablas 2 y 4), con 4 horas de tratamiento y 42 de recuperación en 1.0 y 2.0% (tablas 2 y 3) y en 2.5% en la tercera hora y con 4 horas de tratamiento y 2 de recuperación (tabla 4).

Las anafases multipolares en 0.5% (tabla 1) aparecieron a partir de la tercera hora de tratamiento y en las concentraciones mayores desde la primera hora (tablas 2 a 4).

Los micronúcleos estuvieron presentes en todos los tiempos de tratamiento y recuperación y en todas las concentraciones (tablas 1, 2, 3 y 4).

En la tabla 5 y figura 4 se resumen los valores promedio de los resultados obtenidos con las diversas concentraciones de acetato de etilo, notándose que a medida que aumentó la concentración, el total de anafases disminuyó, sin que se abata totalmente. Las frecuencias de anafases anormales, aberraciones totales y cromosomas retardados se incrementaron al aumentar la concentración hasta 2.0% y posteriormente disminuyeron, excepto la frecuencia de aberraciones totales, la cual se mantiene constante en las dos últimas concentraciones. Las anafases multipolares también incrementaron su frecuencia al elevarse la concentración hasta 1.0%, notándose después un decremento; mientras que los micronúcleos presentaron un comportamiento asintótico.

Así mismo se registró un efecto c-mitótico (Fig.1) apareciendo por primera vez en 0.5% a la tercera hora de tratamiento e incrementándose a medida que aumentaba la concentración.

En la tabla 6 y Fig. 5 se muestran los datos del índice mitótico (I.M.) de cada concentración, observándose un aumento en 0.5% y una evidente disminución a partir de

2.0% con respecto al testigo.

Mediante la aplicación de la prueba de diferencia de proporciones se encontró que el valor del índice mitótico respecto al testigo en 0.5% fue significativo lo que implicó un efecto inhibitor. Por lo que respecta a los valores correspondientes a 1.0 y 2.0%, no se encontraron diferencias significativas.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las evaluaciones de los efectos producidos por los agentes químicos y físicos a nivel cromosómico se pueden realizar cuando los cromosomas están en metafase y/o anafase ya que son los estados de la mitosis donde presentan mayor contracción (Kihlman, 1975; Savage, 1975). En este trabajo los registros se efectúan en células en anafase porque además de que en esta etapa la estimación del daño producido es rápida y simple, se pueden observar otros tipos de alteraciones como los cromosomas retardados y las anafases multipolares.

El empleo de diferentes tiempos de tratamiento y recuperación hace posible determinar el estado del ciclo celular en el cual actúa el acetato de etilo y las alteraciones

en la duración del mismo.

Las aberraciones subcromatídicas se presentan en las concentraciones de 0.5 y 2.0% de acetato de etilo (tablas 1 y 3) en la segunda hora de tratamiento. Lo cual coincide con Kihlman (1963), quien propone que este tipo de daño se observa en metafase o anafase en las dos primeras horas después de aplicarse el tratamiento. Debido a que este tipo de aberración se encuentra en pocos casos y en frecuencia baja se puede considerar que, probablemente, son espontáneas.

Según el criterio de Kihlman (1963, 1966), el hecho de que las aberraciones cromatídicas surjan a partir de la primera hora de tratamiento indica que el acetato de etilo se comporta como una sustancia de efecto "no retardado". Sin embargo para este tipo de sustancias las aberraciones de tipo cromosómico deben presentarse a las 14 horas de recuperación y con el acetato de etilo dichas aberraciones se presentaron a las 42 y 44 horas de recuperación lo que implica un retardo en la duración del ciclo celular de acuerdo con lo propuesto por Evans (1963) y Wolff (1963). Este mismo efecto es reportado por Gómez-Arroyo (1980) al utilizar tñer y algunos de sus principales componentes en los meristemas de la raíz de Vicia faba.

La presencia tanto de aberraciones cromosómicas co-

mo cromatídicas puede deberse a un efecto producido en la parte final de G_1 y en el inicio de la síntesis lo que aunado al retardo del ciclo celular hace que ambos tipos de aberraciones se presenten después de las 18 horas (Gómez-Arroyo, 1980).

Se ha reportado que la acción de los agentes sobre el ciclo celular puede alterar la duración del mismo. Al respecto, Evans et al. (1959) afirman que el retardo mitótico provocado por las radiaciones gamma es mayor cuando las células se encuentran en las porciones temprana y media (G_1 y S) de la interfase, que al ser irradiadas durante la interfase tardía (G_2).

Así mismo se ha observado que algunos compuestos, como el 2,4,5 ácido triclorofenoxiacético y el dietil sulfato, producen alargamiento en la duración del período S (MacLerod, (1969; Heiner, 1971) ocasionando un retardo mitótico ya que inhiben la síntesis de proteínas (Evans et al., 1959; Van't Hof y Kivacx, 1970; Kovacs y Van't Hof, 1971) necesarias para que la replicación del ADN se realice (Van't Hof, 1963; Baserga, 1968; Mueller, 1969). La duración de la profase también puede ser afectada. Evans y Scott (1964) afirman que dicha fase de la mitosis se efectúa en una hora aproximadamente, sin embargo se ha descrito un alargamiento en su du

ración debido a la acción de diversas sustancias entre las que se encuentran el tiner, benceno y n-hexano (Gómez-Arroyo, 1980), así como el trióxido de cromo (Villagómez, 1981). En el caso del acetato de etilo, el retardo probablemente se efectúa en todos los estados del ciclo celular.

El hecho de que el acetato de etilo no provoque retardo en la aparición de las aberraciones y éstas se manifiesten de acuerdo al estado del ciclo que fue afectado (sub cromatídicas, cromatídicas y cromosómicas) implica que este solvente de acuerdo a lo establecido por Kihlman (1975), tiene un comportamiento S-independiente. Estos agentes generalmente provocan daños en las bases y rompimientos de banda sencilla y doble en el ADN.

El acetato de etilo se ha considerado como un excelente solvente liposoluble, lo que le permite penetrar fácilmente a través de la capa lipídica de la membrana celular (Nalano et al., 1973). En concentraciones superiores a 2000 ppm (0.2%) se ha determinado que, en células de rata, este solvente tiene una vida media entre 5 y 10 minutos (Gallaher y Loomis, 1975) registrándose posteriormente un aumento en la concentración de etanol en la sangre como resultado de la hidrólisis del acetato de etilo mediante la acción de esterasas no específicas (Fassett, 1963; Browning, 1965) como las colinesterasas y las pseudocolinesterasas. En el haba es pro

bable que el acetato de etilo actúe como tal ya que se desconoce la existencia de enzimas que puedan efectuar su hidrólisis.

Lo anteriormente expuesto se apoya en los estudios realizados con alcohol etílico sobre los cromosomas de este mismo sistema vegetal, donde se observa que el etanol se comporta como un agente de efecto retardado (Michaelis et al. 1959; Rieger y Michaelis, 1964, 1972; Michaelis y Rieger, 1968; Rieger et al., 1973; Rosas, 1980) y de expresión S-dependiente (Rosas, 1980), mostrando un comportamiento diferente al obtenido con el acetato de etilo.

El acetato de etilo también produce alteraciones en la región centromérica ya que en todas las concentraciones probadas se observan cromosomas retardados que pueden ser provocados por la inactivación del centrómero (Natarajan y Upadhy, 1964; Ramanna y Natarajan, 1966; Tomkins y Grant, 1972) o por la ruptura transversal del mismo originando los isocromosomas (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976).

Tomkins y Grant (1972) han sugerido que la presencia de cromosomas retardados es el resultado de la interferencia que provoca el agente en la unión normal del cromosoma con el huso mitótico; mientras que Schmid (1973, 1975)

los atribuye a disturbios ocasionados únicamente en el huso. En cualquiera de los casos, los cromosomas afectados quedan fuera de la cinética normal de la anafase, ya que no se integran a los núcleos hijos y pueden dar como resultado micronúcleos y aneuploidías en la siguiente generación celular.

La frecuencia de cromosomas retardados obtenida con las concentraciones más bajas de acetato de etilo es mayor que la de aberraciones, lo que implica que el centrómero resulta ser más susceptible a este solvente que el resto del cromosoma. En este trabajo los cromosomas retardados presentan una respuesta de acuerdo a la concentración, excepto en 2.5%.

La presencia de c-mitosis y anafases multipolares son una evidencia de las alteraciones provocadas por el acetato de etilo sobre el huso mitótico, el cual es una estructura celular formada por fibras largas y delgadas denominadas microtúbulos, a los que se asocian los centrómeros de los cromosomas y son responsables del movimiento de éstos durante la anafase (Watson, 1978). Según Mazia (1961) el huso se forma por la polimerización de macromoléculas de proteínas unidas por enlaces S-S. Estas proteínas, aunque son pocas, constituyen una porción considerable del total de proteínas de las células. Otros constituyentes del huso son los polisacáridos, los lípidos y el ARN.

Se ha reportado la existencia de diversos agentes con la capacidad de inducir un efecto c-mitótico, donde el huso queda desorganizado y los cromosomas no forman una placa metafásica normal, sino que permanecen dispersos en el citoplasma (Östergren, 1951). Entre estos agentes se encuentran algunas sustancias de efecto narcótico como el éter (Politzer, 1931; Rosenfeld, 1932), el benceno (Henderson, 1930) y el fenil uretano (Léfebvre, 1939).

Con base en lo anterior, Östergren (1951) propone que el mecanismo de acción que tienen estas sustancias para provocar c-mitosis, se fundamenta exclusivamente en sus propiedades físicas, lo cual es apoyado por Shamuck y Gusseva (1939), quienes afirman que la mayoría de las sustancias con efecto c-mitótico se caracterizan por tener baja solubilidad en agua.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el acetato de etilo es un potente inductor de c-mitosis y como tiene una baja solubilidad en agua, 1 en 10 a 25°C (Elkins, 1959), esto concuerda con lo señalado anteriormente, además de que también tiene efectos narcóticos (Browning, 1965).

Levan y Östergren (1943) también consideran que existe una relación entre la solubilidad de los compuestos

en lípidos y la actividad c-mitótica. Al respecto, es posible que la capacidad que tiene el acetato de etilo para producir c-mitosis se deba a que es un excelente solvente liposoluble, lo que le permite asociarse a las cadenas lipofílicas laterales de las proteínas del huso e inducir el plegamiento de las cadenas polipeptídicas provocando que las proteínas fibrilares cambien a formas globulares las cuales imposibilitan su función.

Las diferentes concentraciones probadas de acetato de etilo muestran alteraciones en el huso de diversa magnitud, resultando en una distribución anormal de los cromosomas. En la concentración más baja hay una inactivación parcial del aparato mitótico lo que da lugar a la formación de anafases multipolares rodeadas de un gran número de anafases y metafases normales; mientras que en concentraciones mayores disminuye la cantidad de anafases multipolares y aumenta el número de c-metafases. La concentración más elevada se caracteriza por la presencia única de c-mitosis lo que indica que el efecto c-mitótico provocado por el acetato de etilo está en relación directa con la concentración. Un efecto similar ha sido reportado por Östergren (1951) con diversos compuestos orgánicos como naftaleno y benceno.

También se encuentran diferencias en el ordenamiento de los cromosomas de las c-mitosis como es el caso de las "me

tafases estrella" (Baber y Calla, 1943; Peters, 1946) (Fig. 1A) donde probablemente existe un único polo del huso en el centro de la célula, el cual mantiene sus fibras estructurales arregladas a manera de los radios de una esfera. Los cinetocoros de todos los cromosomas se ordenan siguiendo la forma de los rayos de una estrella. Este tipo de metafases también se han observado en la cebolla tratada con sales inorgánicas (Levan, 1945) y con acenaftano (Östergren, 1951).

Por lo que respecta a las anafases multipolares, Giménez-Martín y López-Sáez (1960, 1961) y Giménez-Martín et al. (1964, 1966), señalan la existencia de un centro de atracción en las células vegetales semejante a los centriolos de las células animales. Estos autores proponen que algunas sustancias actúan sobre el centro de atracción provocando su división en más de dos centros hijos, cada uno de éstos se divide nuevamente hasta resultar en la formación de varios husos con un número diferente de cromosomas en cada polo. Además consideran que al formarse las anafases multipolares no se daña el huso sino únicamente al centro de atracción ya que los polos de estas células corresponden cada uno a un centro distinto.

Las anafases multipolares inducidas por el acetato de etilo muestran generalmente una distribución tripolar de los cromosomas, aunque en ocasiones se presenta mayor número

de polos. En ambos casos, estos núcleos se separan por paredes celulares dando origen a células con números menores de $2n$ (Gómez-Arroyo, 1980) cuya supervivencia va a depender del grado de aneuploidía que presenten (Giménez-Martín y López-Sáez, 1960).

En este trabajo se observa que la producción de anafases multipolares es dependiente de la concentración hasta 1.0% donde empieza a decrecer su número y se incrementan las c-mitosis.

Otro criterio que se considera para evaluar el daño causado por el acetato de etilo es la presencia de micronúcleos en interfase. Este es un método adecuado, sencillo y eficiente para estimar el daño genético inducido por agentes físicos y químicos (Evans et al., 1959; Heddle, 1973; Von Ledebur y Schmid, 1973; Matter y Grauweler, 1974; Schmid, 1976; Ma, 1979).

Los micronúcleos son la expresión en interfase tanto de los fragmentos acéntricos (Read, 1959; Heddle, 1973) como de los cromosomas retardados (Schmid, 1973, 1975, 1976) que quedan fuera de la cinética normal de la anafase.

En el caso del acetato de etilo, se presenta la misma frecuencia de micronúcleos independientemente de la

concentración aplicada, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Gómez-Arroyo (1980), López (1980), Baiza (1980) y Villagómez (1981) al emplear diferentes compuestos en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba, lo que indica que al menos en este sistema vegetal, la prueba de micronúcleos sólo puede usarse como criterio rápido para determinar si una sustancia produce daño cromosómico.

El índice mitótico (I.M) es otro indicador del daño causado por agentes. Se ha demostrado que tanto los agentes físicos como químicos inhiben la división celular (Davidson, 1959, 1960; Evans et al., 1959; Kihlman, 1966; Kovacs y Van't Hof, 1971).

Kihlman (1966) señala que algunos agentes químicos influyen notablemente sobre ciertas fases de la división celular evitando así la entrada de las células en división, la formación de huso funcional o la citocinesis. Sin embargo, estos agentes no necesariamente inhiben la división cromosómica.

Existen otros agentes que inhiben la división celular al afectar los diversos estados de la interfase. Aquellos que actúan sobre G_1 o S pueden impedir la replicación cromosómica y la división de los cromosomas, mientras que los que

actúan principalmente en G_2 , afectan la separación de las cromátidas (Kihlman, 1966).

La síntesis de ADN es un requerimiento importante en la división celular (Edmunds, 1964), así como la síntesis de proteínas para permitir el paso de las células G_2 a mitosis (Webster y Van't hof, 1970).

Otro factor involucrado en la disminución de divisiones celulares es la presencia de aberraciones cromosómicas debido a que algunas provocan la muerte de las células (Davidson, 1959, 1960).

En cuanto al efecto del acetato de etilo sobre la división celular, se observa que de todas las concentraciones aplicadas, sólo 0.5 y 2.5% muestran una marcada diferencia con respecto al testigo. Al aplicar la prueba de diferencia de proporciones, se considera que la concentración de 0.5% estimula la división celular y la concentración de 2.5% provoca la inhibición de la misma.

Es probable que la disminución de la frecuencia de la división celular se deba al gran número de alteraciones cromosómicas inducidas, además de un efecto sobre la formación del huso.

Por otra parte, Gómez-Arroyo (1980) le atribuye a alguno de los componentes del tñner el estímulo que una de las concentraciones (0.03%) tiene sobre la división celular del haba, en este caso el acetato de etilo podría estar contribuyendo a dicho efecto ya que es un constituyente del tñner y tiene un efecto estimulante en su concentración más baja.

Por lo tanto, el acetato de etilo se puede incluir en el grupo de solventes al que pertenecen los alcoholes etílico, butílico y amílico, y que Morre et al. (1965) han reportado como estimulantes del crecimiento de las plantas en bajas concentraciones e inhibidores en concentraciones mayores.

REFERENCIAS

- ALTHOFF, E. (1931). Tod durch Einatmung von Essigäther, Z. Med. Beamte. 15, 420.
- BAIZA, A.M. (1980). Efectos producidos por el malati6n en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- BARBER, H.N. y Callan, H.G. (1943). The effects of cold and colchicine on mitosis in the root. Proc. Roy. Soc. B. 131, 258 - 271.
- BARRIOS, D.L. y Devoto, J.S. (1931). Comentarios sobre l'Accion Toxica del 'Barniz', 'Tini' y 'Pomadá'. Sem. Med. B. Aires, 1, 252.
- BASERGA, R. (1968). Biochemistry of the cell cycle; a review. Cell Tissue Kinet. 1, 167 - 191.
- BENDER, M.A., Griggs, H.G. y Walker, P. L. (1973). Mechanisms of chromosomal aberration production. I. Aberration induction by ultraviolet light. Mutat. Res. 20, 387-402.
- BROWNING, E. (1965). Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents. Elsevier Publishing Company, Nueva York. 591 - 593 .
- BUCHET, I.P. y Lauwerys, R.R. (1973). Measurement of urinary hippuric and m-methyl-hipposie acids by gas chromatography. Brit. J. Industr. Med. 30, 125 - 128.
- CEMEF, (1976). Fármacos de abuso. México, pp. 21, 42-45.
- CIANCHETTI, C. Abbritti, G., Perticoni, G., Siracusa, A. y Cu_rradi, F. (1976). Toxic polyneuropathy of choe industry workers. A study of 122 cases. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 39, 1151 - 1161.

- CONGER, A.D. y Fairchild, L.M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanents. Stain Technol. 28, 281 - 283.
- DAVIDSON, D. (1959). A method for estimating mitotic rates in Vicia faba roots after X irradiation. Brit. J. Radiol. 32, 612 - 614.
- DAVIDSON, D. (1960). Meristem initial cells irradiated roots of Vicia faba. Ann. Bot. 24, 287 - 295.
- EDMUNDS, L. N. (1964). Replication of DNA and cell division in synchronous by dividing cultures of Euglena gracilis. Science 145, 266 - 268.
- ELKINS, H.B. (1959). The chemistry of industrial toxicology. 2nd. edition. Wiley & Sons. Inc. Nueva York.
- EVANS, H.J. , Neary, G.J. y Williamson, F.S. (1959). The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on Vicia faba roots and the effects of oxygen. Part. II. Chromosome damage: The production of micronuclei. J. Radiat. Biol. 1, 216 - 229.
- EVANS, H.J. (1963). Chromosome aberration and target theory. En: Radiation induced chromosome aberrations. S. Wolff, Ed., Columbia University Press, Nueva York, pp8 - 40.
- EVANS, H.J. y Scott, D. (1964). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hydrazide in Vicia faba. Genetics 49, 17 - 38.
- FASSETT, D.W. (1963). Esters. En: Industrial Hygiene and Toxicology. D.W. Fassett y D.D. Irish, Eds. Vol 2, Interscience Publishers, Nueva York. pp 1847.
- FERNANDEZ, J. y Droz, P. (1974). Pulmonary absorption and elimination of ethyl acetate. Experimental study on humans. Arch. Mal. Prof. 35, 953 - 961.

- GALLAHER, E.J. y Loomis, I.A. (1975). Metabolism of ethylacetate in the rat: hydrolysis to ethyl alcohol in vitro and in vivo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 34, 309-313.
- GIMENEZ-MARTIN, G. y López-Sáez, J.F. (1960). Acción del α -hexaclorociclohexano sobre la división celular. *Phyton* 14, 61-78.
- GIMENEZ-MARTIN, G. Y López-Sáez, J.F. (1961). Mutagénesis por acción del α -hexaclorociclohexano. *Phyton* 16, 45-55.
- GIMENEZ-MARTIN, G., González-Fernández, A. y López-Sáez, J.F. (1964). Bimiosis. *Phyton* 21, 77-84.
- GIMENEZ-MARTIN, G., González-Fernández, A., López-Sáez, J.F. y Fernández-Gómez, E. (1966). Polymiosis with unbalanced nuclei. *Phyton* 23, 11-14.
- GOMEZ-ARROYO, S. (1980). Efectos cromosómicos del tiner y algunos de sus principales componentes en Vicia faba. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- GUTIERREZ-FLORES, R.R. (1975). Solventes industriales. *Cuadernos Científicos CEMEF* 2, 35-48.
- HEDDLE, J.A. (1973). A rapid in vivo test for chromosome damage. *Mutat. Res.* 18, 187-190.
- HEINER, R.E. (1971). Alterations in the nuclear cycle, mitotic index and chromosomes of Vicia as affected by diethyl sulfate. *Mutat. Res.* 12, 249-254.
- HENDERSON, V.E. (1930). The present status of the theories of narcosis. *Physiol. Rev.* 10, 171-220.
- Kihlman, B.A. (1975). Root tips of Vicia faba for the induction of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 31, 401-412.

- KIHLMAN, B.A. (1966). Actions of chemicals on dividing cells.
Prentice Hall, Nueva Jersey.
- KIHLMAN, B.A. , Natarajan, A.T. y Anderson, H.C. (1978). Use
of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for
exploring mechanisms involved in the formation of
chromosomal aberrations. Mutat. Res. 52, 181 - 198.
- KOJIMA, T., Yashiki, M. y Une, I. (1979). Descomposition of
ethyl acetate and relationship of ethanol levels with
pH values of blood in rats exposed to ethyl acetate
vapor. J.P.N. J. Leq. Med. 33, 704 - 713.
- KOROBKIN, R. , Asbury, A.K., Summer, N. y Melsen, S.L. (1975).
Glue sniffing neuropathy. Arch. Neurol. 32, 158 - 162.
- KOVACS, C.J. y Van't Hof, J. (1971). Mitotic delay and the
regulating events of plant cell proliferation; DNA
replication by a G₁/S population. Radiat. Res. 48,
95 - 106.
- LEFEVRE, J. (1939). Similitude des actions cytologiques exercees
par le phenylurethane et la colchicine sur les plantules
vegetales. C.R. Acad. Sc. 208, 301 - 304.
- LEVAN, A. (1938). The effect of acenaphtene and colchicine on
mitosis of Allium and Colchicum. Hereditas 26, 262 -
276.
- LEVAN, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic
salt solutions. Nature 156, 751 - 752.

- LEVAN, A. y Östergren, G. (1943). The mechanism of C-mitotic action. Observations on the naphtalene series. Hereditas 29, 381-443.
- LOPEZ, R.G. (1980). Efectos producidos por el alcohol metilico en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- MA, T. S. (1969). Micronuclei Induced by X-rays and chemical mutagen in meiotic pollen mother cell of Tradescantia. Mutat. Res. 64, 307-313.
- MACLEOD, R.D. (1969). Some effects of 2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid on the mitotic cycle of lateral root apical meristems of Vicia faba. Chromosoma 27, 327- 337.
- MARSDEN, C.B. y Seymour, M. (1963). Solvents Guide. Cleaver Hume Press LTD. Londres.
- MATSUI, H., Kasao, M. e Imamura, S. (1977). Quantitative determination of hippuric and m-methylhippuric acid in urine by high-speed liquid chromatography. Brit. J. Industr. Med. 34, 310-313.
- MATTER, B.E. y Grauwiler, J. (1974). Micronuclei in mouse bone-marrow cells. A simple in vivo model for the evaluation of drug-induced chromosomal aberrations. Mutat. Res. 23, 239-249.
- MAZIA, D. (1961). Mitosis and the physiology cell division. En: The cell. J. Brachety A.E. Mirsky, Eds., Vol. 3 Academic Press, Nueva York, pp. 77-412.
- 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). Athylalkohol-radiomimetisches Agens bei Vicia faba L. Naturwissenschaften 46, 381-382.
- MOLE-BAJER, J. (1953). Cine-micrographic analysis of C-mitosis in endosperm. Chromosoma 9, 332-358.
- MORETON, J. y Falla, N.A.R. (1980). Analysis of Airborne Pollutants in Working Atmospheres: The welding and surface coatings industries. The Chemical Society. Londres, pp. 184.
- MORRE, D.J., Rogers, B.J. y Gamble, R. (1965). Promotion of plant growth by long chain alcohols and organic solvents. Pyton 22, 7-12.
- MUELLER, G.C. (1969). Biochemical events in the animal cell cycle. Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. 28, 1780-1789.
- MURPHEE, H.B. (1967). Neuropharmacological effects of substances other than ethanol in alcoholic beverages. Federat. Proc. 20, 1468.
- NAKANO, J. y Kessinger, J.M. (1971). Cardio vascular effects of ethanol, its congeners and synthetic bourbon in dogs. Eur. J. Pharmacol. 17, 195-201.
- NAKANO, J., Moore, S.E. y Kessinger, C.L. (1973). Myocardial depressant action of ethyl acetate. J. Pharm. Pharmacol. 25, 1018-1020.
- NATARAJAN, A.T. y Upadhya, M.D. (1964). Localized chromosome breakage induced by ethyl methane sulfonate and hydroxylamine in Vicia faba. Chromosoma 15, 156-169.

- NELSON, K.W., Ege, J.F., Ross, M., Woodman, L.E. y Silverman, L. (1943). Sensory response to certain industrial solvent vapours. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 25, 282.
- NICOLOFF, H. y Gecheff, K. (1976). Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* 34, 233-244.
- ÖSTERGREN, G. (1944). Colchicine, mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. *Hereditas* 30, 429-467.
- ÖSTERGREN, G. (1951). Mécanisme de la narcose. En: *Coloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique*. Vol. XXVI Estocolmo, pp. 77-88.
- PETERS, J.J. (1946). A cytological study of mitosis in the cornea of Triturus virideacens during recovery after colchicine treatment. *Jour. Exp. Zool.* 103, 33-60.
- POLITZER, G. (1931). Die Zellteilung während und nach der Narkose. Ein Beitrag zur Kenntnis der Störungen des Kernteilungsrhythmus. *Zeitschr. f. Zellforsch.* 13, 334-363.
- RAMANNA, M.S. y Natarajan, A.T. (1966). Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosoma* 18, 44-59.
- READ, J. (1959). The production of chromosome aberrations by radiations. A quantitative description. En: Radiation biology of Vicia faba in relation to the general problem. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 65-82.
- RIEGER, R. y Michaelis, A. (1964). On the distribution amongst cell of chemically induced chromatid aberrations in root tip meristems of Vicia faba. *Mutat. Res.* 1, 109-112.

- RIEGER, R. y Michaelis, A. (1970). Intrachromosomal clustering of chromatid aberrations induced by maleic hydrazide and ethyl alcohol: studies with a new karyotype of Vicia faba. Mutat. Res. 10, 162 - 164.
- RIEGER, R. y Michaelis, A. (1972). Effects of chromosome repatterning in Vicia faba L. I. Aberration distribution aberration spectrum, and karyotype sensitivity after treatment with ethanol of differently reconstructed chromosome complements. Biol. Zbl. 91, 151 - 169.
- RIEGER, R., Michaelis, A., Schubert I. y Meister, A. (1973). Somatic interphase pairing of Vicia chromosomes as interferred from the hom /het ratio of induced chromatid interchanges. Mutat. Res. 20, 295 - 298.
- ROSAS, P. (1980). Inducción de alteraciones cromosómicas por el alcohol etílico en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM, México.
- ROSENFELD, M. (1932). The action of ether on cells in mitosis. Arch. exp. Zellforsch. 12, 570 - 586.
- SAVAGE, J.R.K. (1975). Radiation induced chromosomal aberrations in the plant Tradescantia: dose-response curves. I. Preliminary considerations. Radiat. Bot. 15, 87 - 140.
- SCHMID, W. (1973). Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammalian cells. Agents and Actions 3, 77 - 85.
- SCHMID, W. (1975). The micronucleus test. Mutat. Res. 31, 9-15.
- SETH, P.K. y Srivastava, S.P. (1974). Biochemical changes induced by ethyl acetate in blood and liver of the rat. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12, 612- 616.
- SHMUCK, A. y Gusseva, A. (1939). Chemical structure of substances inducing polyploidy in plants. C.R. Acad.Sci. U.R.S.S. 24, 441 - 446.

- SPIEGEL, M.R. (1970). Estadística, Serie de Compendios Schaum, McGraw-Hill. México, pp. 168 - 171.
- TIKHONOVA, G.P., Solomin, G.I., Bisin, Y.P. y Pilibyuk, Z.I. (1979). Effect of hypokinesia on the resistance of animals exposed to chemical agents. Kosm. Biol. Aviakosm. Med. 13, 46 - 50.
- TOMKINS, D.J. y Grant, W.F. (1972). Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metrobromuron and tetrachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Can. J. Genet. Cytol. 14, 254 - 256.
- TORRES-RUIZ, A. (1975). Manifestaciones clínicas en los usuarios y/o abusadores de volátiles inhalables. Cuadernos Científicos CEMEF 2, 73 - 84.
- VAN'T HOF, J. (1963). DNA, RNA and protein synthesis in the mitotic cycle of pea root meristem cells. Cytologia 28, 30 - 35.
- VAN'T HOF, J. y Kovacs, C.J. (1970). Mitotic delay in two biochemically different O₂ cell populations in cultured roots of pea (Pisum sativum). Radiat. Res. 44, 700-712.
- VILLAGOMEZ-Manriquez, M. L. (1981). Efectos producidos por el trióxido de cromo sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- VILLALOBOS-PIETRINI, R. (1965). Alteraciones inducidas por los rayos-X en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba, I. Aspectos técnicos. Bol. Soc. Bot. Mex. 29, 178 - 180.
- VON LEDEBUR, M. y Schmid, W. (1973). The micronucleus test. Methodological aspects. Mutat. Res. 19, 109 - 117.

- VON OETTINGER, W.F., Neal, P.A. y Donahue, D.D. (1942). The toxicity and potential dangers of toluene. J. Am. Med. Assoc. 118, 579.
- WATSON, J.D. (1978). Biología Molecular del Gen. Fondo Educativo Interamericano, Madrid, pp. 230-231, 477-478.
- WOLFF, S. (1963). En: Radiation Induced Chromosome Aberrations. S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp. 111-112.
- YOSHIDA, Y., Harada, A., Kono, K., Toyota, S., Watanabe, M. y Shibuya, Y. (1978). Gas and liquid chromatographic determination of urinary hippuric acid as an index of toluene exposure. Bull. Osaka Med. Sch. 24, 68-78.
- ZEMAN, M. y Klatil, M. (1949). Studies on possibility of skin lesions in workers exposed to toluene vapours. Práct. Lékar. 112-315.

TABLA 1

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR
 ACETATO DE ETILO 0.50% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	Fragmentos senci- llos	% dobles	sub croma- tídicos	Puentes * senci- llos	% dobles	Cromosomas retardados centro- mero- inacti- vado	% isocro- moso- mas	% Anafa- ses- multi- polares	% Micro- nú- cleos**
1	0	710	2.91	3.78	2.98	0	0	0.80	0	0.90	0.04	0	0.60
2	0	621	5.30	4.70	3.50	0	0.12	1.10	0	1.25	0.30	0	0.15
3	0	468	11.40	4.20	3.80	0	0	0.40	0	9.00	0.40	1.80	1.40
4	2	276	19.50	5.70	5.60	0	0	0.10	0	10.12	1.30	7.30	0
4	14	643	27.70	10.30	7.60	0	0	2.70	0	27.90	4.60	6.10	1.10
4	18	2023	3.60	3.10	2.80	0	0	0.30	0	1.10	0.30	0.50	0.50
4	42	1805	2.18	0.69	0.39	0	0	0.30	0	0.70	0.80	0	0.50
4	44	1897	5.80	2.70	2.00	0	0	0.70	0	2.40	0.40	0.70	0.30

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2 000 células en interfase para cada caso

TABLA 2

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR ACETATO DE ETILO 1.00% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberraciones totales	Fragmentos sencillos	% Fragmentos dobles	Puentes * cromosómicos	% Puentes sencillos dobles	Cromosomas retardados	% Anafases multipolares	% Microcleos**		
1	0	584	10.90	7.60	4.80	0	0	2.80	0	2.80	0.40	0.60	0.30
2	0	323	17.40	8.30	8.10	0	0	0.20	0	11.00	1.90	2.70	0.30
3	0	237	26.00	12.50	11.00	0	0	1.50	0	18.30	0.10	7.80	1.00
4	2	201	32.90	10.39	10.30	0	0	9.10	0	21.10	0.50	11.00	0.10
4	14	N O H U B O A N A F A S E S											
4	18	537	19.00	11.90	11.90	0	0	0.70	0	17.10	0	8.00	1.80
4	42	614	6.50	1.15	0.15	0.60	0	0.20	0.2	0.40	0	5.20	0.40
4	44	538	21.10	5.60	3.90	0	0	1.50	0.2	6.40	0.80	12.20	0.60

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2 000 células en interfase para cada caso

TABLA 3

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR ACETATO DE ETILO 2.00% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración (horas)	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	Fragmentos senci- llos	% dobles	Puentes * sub croma- tídicos	% senci- dobles	Cromosomas retardados centro- mero inacti- vado	% isocro- moso- mas	% Anafa- ses multi- polares	% Micro- nú- cleos**	
1	0	150	14.80	8.40	3.90	0	0	4.50	0	10.00	0.70	0.70	0.60
2	0	57	32.90	19.70	9.90	0	1.80	8.00	0	14.70	7.40	1.60	1.90
3	0	50	25.20	17.00	6.70	0	0	10.30	0	5.90	0.60	4.90	0
4	2	72	33.20	22.00	5.40	0	0	16.60	0	11.10	0.80	11.10	0.10
4	14	57	26.00	21.10	6.70	0	0	14.40	0	13.40	1.20	0	0.90
4	18	74	46.6	19.30	9.50	1.20	0	8.60	0	35.80	1.03	14.70	0.80
4	42	176	20.50	12.80	8.30	0	0	4.50	0	5.40	0	6.00	0.70
4	44	309	33.50	30.40	22.70	0.07	0	7.70	0	13.90	0.50	5.00	0.90

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2 000 células en interfase para cada caso

TABLA 4

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR ACETATO DE ETILO 2.50% A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación (horas)	Total de anafases	% anormales	Aberrraciones totales	Fragmentos sencillos	% dobles	Puentes * cromatídicos	% sencillos	% dobles	Cromosomas retardados centro inactivo	isocromosomas	% Anafases multipolares	% Micronúcleos**
1	0	153	23.90	16.90	12.00	0	0	4.90	0	8.20	0.40	1.80	0.90
2	0	25	17.70	14.00	14.00	0	0	0	0	7.60	2.00	0	0.50
3	0	N O		H U B O	A N A F A S E S								
4	2	N O		H U B O	A N A F A S E S								
4	14	33	21.50	14.10	6.20	0	0	1.70	0	5.70	2.00	0	0.60
4	18	37	36.80	29.80	24.50	0	0	5.30	0	15.10	0	0	1.90
4	42	231	21.70	23.30	19.80	0	0	3.50	0	4.80	3.20	0.40	0.90
4	44	145	17.50	12.80	9.10	0	0	3.70	0	12.70	0.30	2.60	0.10

* con y sin fragmentos

** se analizaron 2 000 células en interfase para cada caso

TABLA 5

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (- TESTIGO) INDUCIDAS POR ACETATO DE ETILO EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba

Concentra- ción (%)	Total de anafases	Anafases anormales	Aberraciones totales	Cromosomas retardados	'Anafases multipolares	'Micronúcleos'
0.5	8843	9.70	4.30	7.60	2.05	0.73
1.0	2854	19.10	8.20	10.10	6.70	0.72
2.0	945	29.00	18.80	15.30	5.50	0.73
2.5	624	23.10	18.40	10.30	0.80	0.70

TABLA 6

INDICES MITOTICOS (I.M.) OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE ACETATO DE ETILO
 EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

Concentración	I.M.
0	6.8 *
0.5	13.7
1.0	6.8
2.0	6.5
2.5	3.4 **

$z (0.05) = \pm 1.645$

* Efecto estimulante

**Efecto inhibidor



Fig. 1 Metafase normal de Vicia faba detenida con colchicina.



Fig. 1 A Metafase estrella de Vicia faba inducida con acetato de etilo.

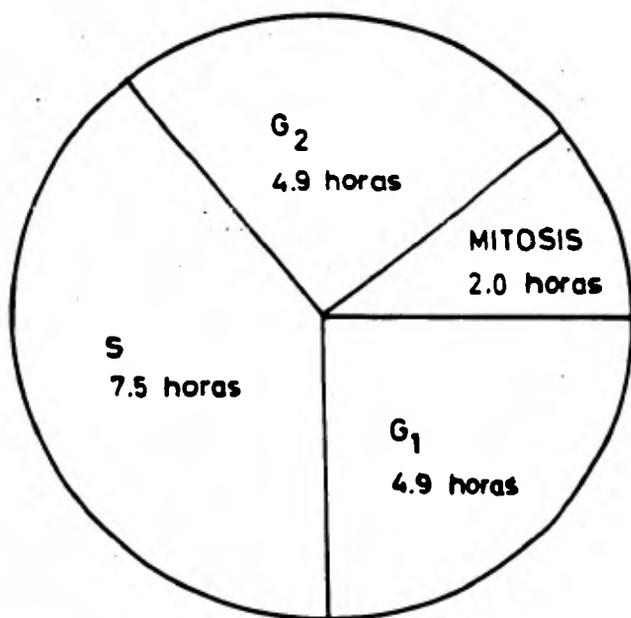


Fig. 2 Tiempo de generación celular en células meristemáticas de la raíz principal de Vicia faba a 19 °C (Evans y Scott, 1964).

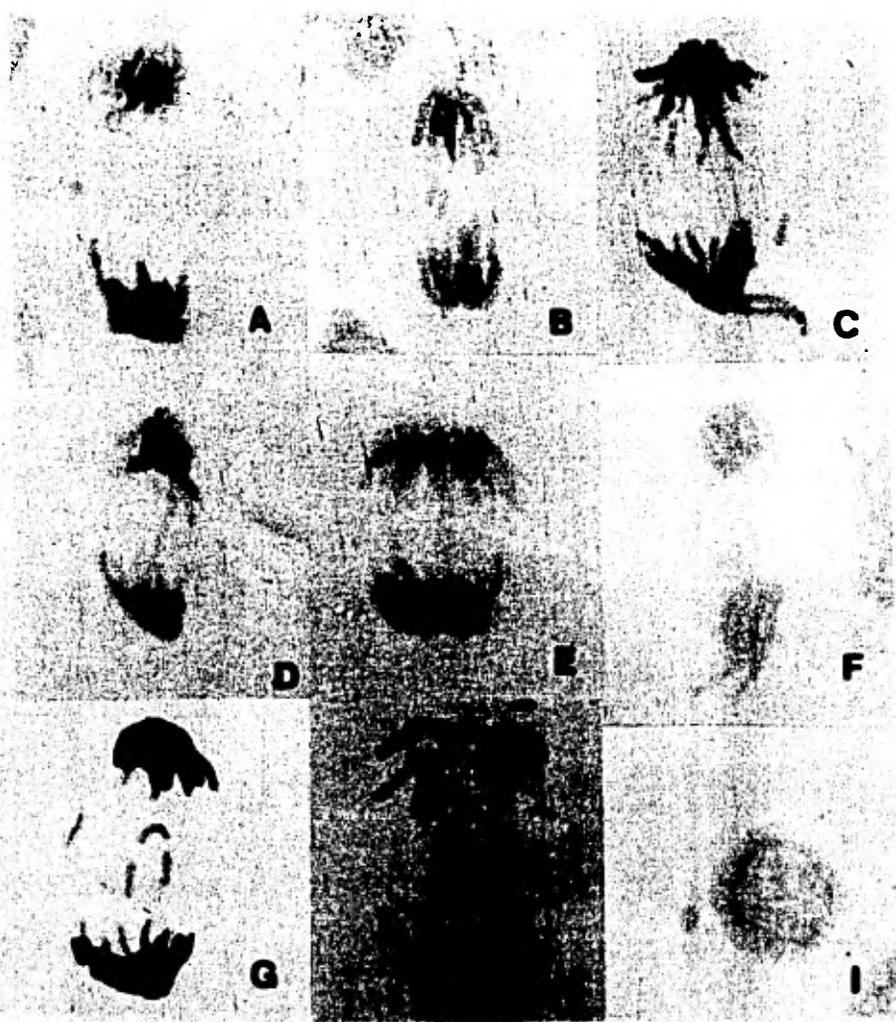


Fig. 3 Alteraciones en los cromosomas de *Vicia faba* producidas por acetato de etilo. A-H, células en anafase; I, célula en interfase; A, fragmento sencillo; B, fragmento doble; C, puente subcomatídico y fragmento sencillo; D, puente sencillo; E, puente doble; F, cromosoma con el centrómero inactivado; G, isocromosoma y un fragmento sencillo; H, anafase multipolar; I, micronúcleo.

FIG. 4
FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR ACETATO DE ETILO
EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*

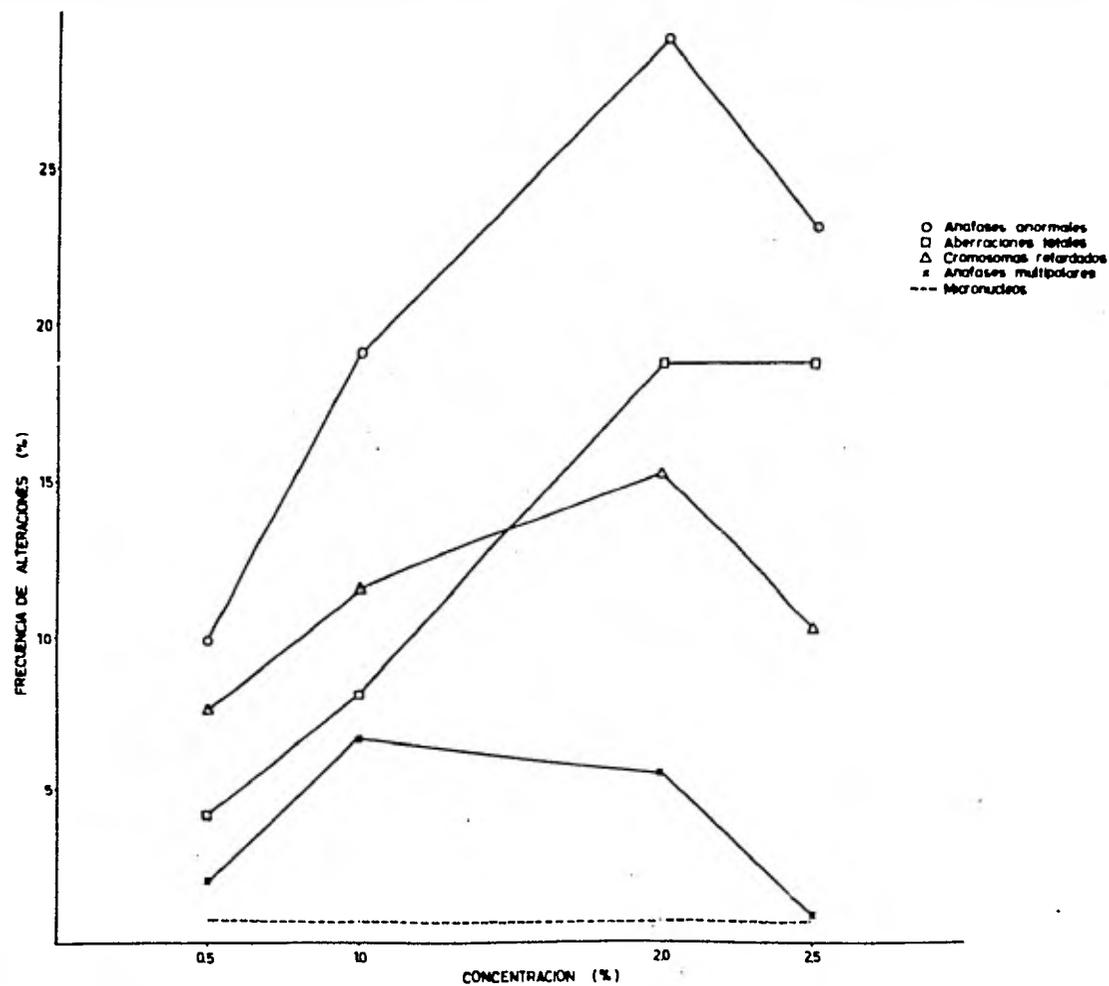


FIG. 5
INDICE MITOTICO EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA
RAIZ DE Vicia faba TRATADAS CON ACETATO DE ETILO.

