

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA



EFFECTOS PRODUCIDOS POR EL n -HEPTANO EN LOS
CROMOSOMAS DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS
DE LA RAIZ DE HABA (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

María del Carmen Dávila Rivas

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.

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A MIS SOBRINOS

Agradezco sinceramente a la Dra.
Sandra L. Gómez Arroyo su dirección,
interés y apoyo en la presente
investigación.

Al Dr. Rafael Villalobos Pietrini por
su valiosa orientación y sugerencias
en el desarrollo de esta tesis.

Al Biol. Carlos Gónzales Jarquín por
su apoyo e indicaciones brindadas en
la realización de este trabajo

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Cristina Pérez Amador y a la M. en C. Olga Olvera Ramírez por su colaboración en la revisión de este trabajo.

Al Ing. Jesús Pallares Hernández por la aportación de las semillas utilizadas en el presente estudio.

A los compañeros de trabajo que de una u otra forma me ayudaron.

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	39

RESUMEN

Se probó el efecto de varias concentraciones de n-heptano en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz principal del haba (Vicia faba); el daño fue evaluado en células en anafase, observándose fragmentos sencillos y dobles, puentes subcromatídicos, puentes sencillos y dobles, cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas), anormalidades en el huso mitótico (anafases multipolares) y micronúcleos en células en interfase.

En las concentraciones más bajas probadas (0.1, 0.5 y 1.0 %) se notó el aumento de frecuencia de las alteraciones cromosómicas (excepto en el caso de los micronúcleos) y en las otras concentraciones (1.5, 2.0 y 3.0 %) no hubo diferencias entre sí.

Los micronúcleos no respondieron conforme a la concentración y el análisis del índice mitótico reflejó que este solvente tuvo un efecto inhibitor.

INTRODUCCION

Los hidrocarburos son muy importantes desde el punto de vista industrial; son componentes principales del petróleo, gas natural y carbón de hulla; son utilizados como combustibles, lubricantes, materiales para construcción, materia prima en la industria química y algunos de ellos como solventes (Elkins, 1959).

Los solventes han sido definidos como productos orgánicos líquidos de importancia comercial, con propiedades para disolver o dispersar sustancias de naturaleza orgánica natural o sintética, normalmente insolubles en agua (Gutiérrez-Flores, 1975).

Dichos solventes son indispensables para procesos industriales tales como la manufactura de pinturas, esmaltes, barnices, lacas y telas artificiales. En la fabricación del hule, en la extracción de grasas, aceites y ceras; purificación y síntesis de algunos compuestos y en muchas otras ramas auxiliares de procesos industriales (Browning, 1953).

Estas sustancias se han clasificado, de acuerdo con sus propiedades físicas, como: polares, no polares y polares débiles (Browning, 1953) y, dependiendo de su aplicación industrial, se agrupan en : solventes activos, co-solventes, sol

ventes latentes y diluyentes (Gutiérrez-Flores, 1975).

Entre los solventes utilizados como diluyentes están algunos hidrocarburos alifáticos o alcanos que se caracterizan por ser moléculas de cadena abierta simple formadas por átomos de carbono, su fórmula general es C_nH_{2n+2} . Los cuatro primeros miembros de la serie (metano, etano, propano y butano) son gases; del pentano al hexadecano son líquidos y por arriba del hexadecano son sólidos (Lawrence, 1957). Se usan extensamente en mezclas complejas de combustibles, refrigerantes, propulsores, solventes, pesticidas, recubrimientos, lavado en seco, extracción de grasas y como lubricantes (Browning, 1953).

El n-heptano es uno de los miembros de esta serie, con fórmula estructural de $CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$, peso molecular de 100.20; densidad de 0.679 g/ml, punto de fusión de $-90.60^\circ C$, punto de ebullición de 98.42, solubilidad en agua de 0.005 % a $20^\circ C$, límite máximo permitido en la atmósfera de 300 ppm (0.03 %); es un líquido no polar, se utiliza como anestésico, en la fabricación de hielo y como diluyente en las formulaciones de solventes en la industria de los recubrimientos y adhesivos con lo cual se ayuda a bajar los costos (Gerarde, 1973).

Todos los solventes en mayor o menor grado son tóxicos y las personas que los inhalan, voluntaria o involuntariamente, se dañan la salud (GUTIÉRREZ-FLORES,1975).

Existe un conjunto de factores que interactúan para que se exprese la toxicidad de los solventes, estos son: volatilidad, solubilidad en grasas o agua, concentración y duración de la exposición, producción de metabolitos tóxicos en la vía de degradación, modo de absorción, acumulación y eliminación del cuerpo; así como, la susceptibilidad de los organismos. Una vez que el solvente ha penetrado al torrente sanguíneo es llevado a todo el cuerpo, los muy volátiles son rápidamente eliminados, principalmente en la espiración y una cierta cantidad en la orina; los que son menos volátiles permanecen en el cuerpo, pueden acumularse y convertirse en otros productos químicos que ejercen su propio efecto tóxico sobre los órganos de depósito, especialmente el hígado y el riñón; además de que producen daño severo en el sistema nervioso, en la piel (dermatitis) y en las membranas mucosas (Browning,1953).

En experimentos con ratas expuestas a vapores de n-heptano en concentraciones de 4, 21 y 62 mol/l durante dos semanas se observó que tanto en el cerebro como en el cuerpo hubo una acumulación proporcional a la dosis del solvente. Los efectos neuroquímicos iniciales con las dosis bajas mostraron una re

ducción en la concentración de ARN y un incremento de la diaforesis-NADPH en cerebro, así como un aumento en la proteólisis, durante la segunda semana, en todas las dosis (Savolainen y Pfaffli, 1980).

Takeuchi et al. (1980) en un estudio comparativo de la neurotoxicidad en ratas del n-pentano, n-hexano y n-heptano, en exposiciones de vapor de 12 horas diarias por 16 semanas a una concentración de 3 000 ppm (0.3%), observaron que el sistema nervioso periférico, la unión neuromuscular y las fibras musculares en contacto con el n-hexano fueron drásticamente dañados, mientras que las expuestas a n-pentano o n-heptano no presentaron cambios.

El n-heptano a concentraciones de 10 000 a 15 000 ppm (1.0 - 1.5 %) produce narcosis en los ratones en un término de 30 a 60 min mientras que a concentraciones mayores de 15 000 a 20 000 ppm (1.5 - 2.0 %) les causa convulsiones y muerte (Fuhner, 1921).

Crespi et al. (1979) observaron en trabajadores expuestos a los vapores de n-heptano que el sistema nervioso periférico sufrió un daño mínimo; por otra parte Gerarde (1959) reporta que concentraciones de 1 000 ppm (0.1%) durante 6 min produce un ligero vértigo, con 4 a 15 min de 5 000 ppm (0.5 %) les ocasiona un marcado vértigo, incordinación muscular, hilari

dad, depresión del sistema nervioso, irritación de las mucosas y dermatitis. Después de varias horas de exposición al n-heptano, los individuos muestran pérdida del apetito (anorexia) con ligera náusea y un sabor que les recuerda el de la gasolina.

Se ha observado in vitro que el n-heptano y otros solventes tienen un efecto protector en los eritrocitos de ratas que sufren hemólisis hipotónica; esta acción antihemolítica está asociada a un aumento en el volumen de las células rojas, al incrementar el solvente la estabilidad en el funcionamiento de la membrana, posiblemente por la interacción de las moléculas del solvente con los lípidos de la membrana celular (Holmberg et al., 1973).

Se ha demostrado que el n-heptano y otros hidrocarburos son metabolizados por microorganismos aislados del suelo. por ejemplo la bacteria Pseudomona aeruginosa, produce alcohol, aldehído y ácido graso como formas intermedias en la vía de degradación del n-heptano, el cual es oxidado por la enzima heptano-hidroxilasa que lo convierte en heptanol, que a su vez es oxidado por la heptanol-deshidrogenasa, da un aldehído sobre el que actúa la enzima heptanal-deshidrogenasa convirtiéndolo en ácido graso. Además los análisis de fracciones de los extractos de bacterias indican que el sistema de oxidación

ción del n-heptano o parte de este, puede estar limitado a la membrana (Macham y Heydeman, 1974).

Hasta ahora no se han estudiado los efectos genéticos del n-heptano, solamente se conoce los efectos fisiológicos, y con poco interés toxicológico debido a que presenta baja solubilidad y elevada volatilidad, lo cual impide que se acumule, eliminándose rápidamente del cuerpo.

El realizar experimentación directa con el hombre es difícil y peligroso, por lo que se han buscado sistemas biológicos de prueba que sean sensibles a los agentes mutagénicos y además de manipulación sencilla. Uno de los más usados para estudios de citogenética es el de las células meristemáticas de la raíz de haba (Vicia faba) debido a que presenta ventajas como son su número reducido de cromosomas ($2n=12$) y su gran tamaño que facilita su observación. Su cariotipo normal está formado por un par de cromosomas submetacéntricos los cuales presentan en los brazos cortos una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y cinco pares de cromosomas subacrocéntricos que presentan pocas diferencias entre sí. (Fig. 1 (a)).

El promedio de duración del ciclo celular de la raíz principal del haba es de 19.3 horas a 19 °C del cual el período

do presintético (G_1) es de 4.9 horas, el sintético (S) de 7.5 horas, el postsintético (G_2) de 4.9 horas y la mitosis (M) de 2.0 horas (Evans y Scott, 1964). (Fig. 1 (b)).

En los estudios de citogenética es importante considerar los efectos que tienen las sustancias sobre el ciclo celular. Kihlman (1966) propone que cuando se exponen células meristemáticas, cuyo ciclo celular dura de 16 a 22 horas, a los diversos agentes por un período de 1 a 4 horas se pueden distinguir dos efectos : 1. Si las aberraciones aparecen entre 0 y 8 horas después del tratamiento con una frecuencia máxima entre 4 a 10 horas, se considera que hay un efecto no retardado. 2. En cambio, si el efecto de los agentes hace que aparezcan las aberraciones de 8 a 48 horas, después del tratamiento con una frecuencia máxima entre las 24 y 48 horas se les atribuye un efecto retardado.

La división celular puede ser notablemente afectada en ciertas fases, a causa de los efectos de los agentes durante la entrada de las células en mitosis, la formación del huso funcional y en la citocinesis (Kihlman, 1966), impidiendo que las células realicen la división cromosómica, nuclear y celular. Aunque no necesariamente se inhiba la duplicación de los cromosomas. El período afectado es la interfase y en algunas ocasiones la profase temprana, causando la reversión de las

células a interfase, por lo que se les ha llamado agentes inhibidores profásicos de la mitosis (D'Amato, 1949).

Los agentes mutagénicos se han dividido en dos grupos: los conocidos como S-dependientes que inducen lesiones en todas las fases del ciclo celular pero requieren de la síntesis del ADN para que se expresen como aberraciones y estas son siempre de tipo cromatídico, debido a los rompimientos de banda sencilla y al daño en las bases del ADN. Según Evans (1966) son el resultado de errores en la replicación ("mis replication"). Dentro de este grupo están los agentes alquilantes y la radiación ultravioleta (Bender et al., 1973; Kihlman, 1977; Kihlman et al., 1978). Los S-independientes que producen aberraciones cuyo tipo está de acuerdo con la etapa del ciclo celular que afectan, son el resultado del daño en las bases y de rompimientos de banda sencilla y doble y no requieren de la síntesis del ADN para manifestarse; en este caso las lesiones provocadas por los agentes son ocasionados por errores en la reparación ("mis repair") (Evans, 1977); el tipo de aberraciones producidas en este caso son subcromatídicas, cromatídicas y cromosómicas. Cuando el daño se produce en la profase, las aberraciones son de tipo subcromatídico cuya unidad de ruptura es la media cromátida; si la lesión es en G₂ y S las aberraciones son de tipo cromatídico y la unidad de ruptura es la cromátida y si el daño es en G₁ las aberraciones son de tipo cromosómico siendo la unidad de ruptura

el cromosoma. Estos tres tipos de aberraciones son producidos por algunos antibióticos como la bleomicina, estreptomicina, pleomicina, radiaciones ionizantes y algunas oxipurinas metiladas (Kihlman, 1963, 1966, 1975; Kihlman et al., 1978).

Otro efecto de las sustancias sobre los cromosomas es a nivel del centrómero el cual puede ser inactivado (Ramanna y Natarajan, 1966; Tomkins y Grant, 1972) o dividido transversalmente dando lugar a los isocromosomas (Ramanna y Natarajan, 1966; Nicoloff y Gecheff, 1976), en ambos casos los cromosomas quedan fuera de la cinética normal de la anafase provocando aberraciones de tipo numérico (aneuploidias) en la siguiente generación celular .

El n-heptano es usado como diluyente en las formulaciones de tñer (solvente importante en la industria) del cual se conoce que ocasiona daño fisiológico y daño en los cromosomas de Vicia faba, así también se han investigado algunos de sus componentes como, benceno, tolueno, n-hexano, cuyos estudios indican que son inductores de alteraciones en los cromosomas de esta planta (Gómez-Arroyo, 1980). Por lo que en este trabajo se pretende establecer la curva de concentración-efecto del n-heptano (que como se mencionó anteriormente también forma parte del tñer) en la inducción de alteraciones cromosómicas en las células meristemáticas de la raíz

de Vicia faba, así como su efecto en la división celular.

MATERIAL Y METODO

Las semillas de haba (Vicia faba var. mayor serie C-69-12) se lavaron durante dos horas con agua corriente, después se dejaron remojar durante 24 horas con el fin de acelerar la germinación, pasado ese tiempo se sembraron entre dos capas de algodón humedecido con agua de la llave dentro de charolas que fueron colocadas en la obscuridad a temperatura constante de $21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Al aparecer la radícula se les quitó la testa a las semillas para evitar la contaminación por hongos. Cuando las raíces alcanzaron 4 cm de longitud (tamaño establecido en experimentos previos) las plántulas se agruparon en lotes de 5 individuos cada uno, los cuales fueron sometidos a las siguientes concentraciones de n-heptano (Matheson Coleman & Bell): 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0 % (los cuales fueron elegidos con base en experimentos preliminares) con tratamientos de 1, 2 y 3 horas sin recuperación y con 4 horas de tratamiento con 2, 14, 18, 42 y 44 horas de recuperación.

Como el n-heptano al combinarse con el agua formó una mezcla heterogénea, se mantuvieron los tratamientos en agita

ción constante. Las mezclas se colocaron en cristalizadores cubiertos con papel aluminio perforado en cuyos orificios se introdujeron las raíces de tal manera que quedaran sumergidas en el líquido.

Al término del tratamiento, las raíces se lavaron con agua de la llave y se pasaron a un baño con agua corriente, aereación y temperatura constante de 19 °C, para su recuperación.

Los lotes testigo se mantuvieron bajo las mismas condiciones experimentales, excepto que las raíces permanecieron en agua destilada en el lapso del tratamiento.

El proceso de germinación, tratamiento y recuperación se llevó a cabo en la obscuridad para evitar el efecto del ritmo circadiano.

Transcurridos los tiempos de tratamiento y recuperación, a las raíces se les aplicó la técnica de Villalobos-Pietrini (1965), con algunas modificaciones: se hicieron cortes de 2 mm de los extremos de las raíces (meristemo apical) los cuales se colocaron en portaobjetos excavados y se les agregó ácido clorhídrico (Sigma) 5N durante 10 min con el fin de hidrolizarlos, transcurrido este lapso, se retiró el ácido

y se aplicaron algunas gotas de acetorceína * por un período de 20 min, después se pasaron los cortes a portaobjetos planos a los que se les puso una gota de ácido acético (Merck) al 45 % rápidamente se les colocó un cubreobjetos encima y se hizo presión con una goma de lápiz ("Squash"). Posteriormente las preparaciones se hicieron permanentes usando la técnica de Conger y Fairchild (1953) congelándolas con hielo seco. Después de separar el cubreobjetos con un bisturí se pasaron por 2 cambios rápidos de butanol absoluto (Merck) con el fin de deshidratarlas, se secó el exceso de alcohol y se montaron en bálsamo de Canadá (Merck).

Las preparaciones se analizaron al microscopio y las alteraciones cromosómicas se identificaron en células en ana fase y al azar se observaron 1 000 células en interfase para el registro de micronúcleos. El índice mitótico se determinó en campos al azar y los resultados se obtuvieron de la siguiente manera :

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

* Se preparó con 3 g de orceína sintética (Sigma) en 100 ml de ácido acético (Merck) al 70 % en un matraz en el cual se puso a hervir a reflujo durante 2 horas, se dejó enfriar y se filtró .

El índice mitótico de cada concentración se comparó con su respectivo testigo así como entre concentraciones, para lo cual se empleó la prueba estadística de diferencia de proporciones (Spiegel, 1970) cuya fórmula es :

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

$$q = 1 - p$$

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

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

En 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

También se empleó esta misma prueba estadística en el caso de las aberraciones, para comparar las diferentes concentraciones. De todas las concentraciones de n-heptano y del testigo se realizaron un experimento y su repetición.

RESULTADOS

El daño producido por el n-heptano en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz principal de Vicia faba, se evaluó mediante el registro de aberraciones cromosómicas en células en anafase, cuyas alteraciones cromosómicas son: fragmentos sencillos y dobles, puentes subcromatídicos, puentes sencillos y dobles, cromosomas retardados (con el centrómero inactivado e isocromosomas) anafases multipolares y micronúcleos . En general se observó más de una alteración por anafase. (Fig. 2).

Las aberraciones subcromatídicas (puentes subcromatídicos) aparecieron en las tres primeras horas de tratamiento con las concentraciones 0.1, 0.5, 1.5 y 2.0 % (tablas I, II, IV y V) y en las dos primeras horas con 1.0 y 3.0 % (tablas III y VI).

Las aberraciones cromatídicas (fragmentos sencillos y puentes sencillos) se observaron en todos los tiempos de tratamiento y recuperación con las seis concentraciones (tablas I-VI).

Las aberraciones cromosómicas (fragmentos dobles y puentes dobles) se registraron a partir de los tratamientos de 4 horas y 14 horas de recuperación, en todas las concentraciones (tablas I- VI).

Los cromosomas retardados, que incluyen tanto cromosomas con el centrómero inactivado como isocromosomas, fueron evidentes en todas las concentraciones y tiempos de tratamiento y recuperación , excepto con la de 3.0 % en que no se apreciaron a las 6 horas de iniciado el tratamiento (tablas I- VI).

Las anafases multipolares se presentaron en 0.1 % en la segunda y tercera horas de tratamiento así como en las 4 horas de tratamiento con 14 y 44 horas de recuperación (tabla I), en 0.5 % surgieron en las 3 primeras horas de tratamiento y en 4 horas de tratamiento con 2 y 44 horas de recuperación (tabla II), en 1.0% se observaron en las 3 horas de tratamiento y en 4 horas de tratamiento con 14, 18 y 44 horas de recuperación (tabla III), en 1.5 % se apreciaron en la primera y tercera hora de tratamiento y en 4 horas de tratamiento con 14 y 18 horas de recuperación (tabla IV), en 2.0 % aparecieron en las 3 primeras horas de tratamiento y en 4 horas de tratamiento con 2 horas de recuperación (tabla V) y en 3.0% únicamente a la segunda hora (tabla VI).

Los micronúcleos fueron evidentes en todas las concentraciones y tiempos de tratamiento y de recuperación con algunas excepciones en 0.1, 2.0 y 3.0 % (tablas I, V y VI).

En la tabla VII y figura 2 se muestran los promedios de los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de n-heptano, notándose que el número de anafases disminuye conforme aumenta la concentración en 0.1, 0.5 y 1.0 % y en 1.5, 2.0 y 3.0 % aumenta ligeramente con respecto a 1.0% y se mantiene casi constante, aunque en 2.0 % el número de anafases es un poco mayor, las anafases anormales así como las aberraciones totales se incrementan conforme aumenta la dosis hasta 1.0% a partir del cual disminuye para mantenerse constante en las concentraciones mayores, a estas frecuencias se les aplicó la prueba de diferencia de proporciones, (tabla VII), observándose que en casi todas las concentraciones hay significatividad, excepto en 0.5% con respecto a 1.0 % y en 1.5 % comparado con 2.0 y 3.0%.

La frecuencia de cromosomas retardados es menor que la de aberraciones totales, observándose que al aumentar la concentración, la frecuencia de cromosomas retardados disminuye excepto con 0.5% que es la frecuencia más alta. Los micronúcleos no presentaron una relación con la concentración, manteniéndose casi constantes. La frecuencia de anafases multi

polares, en todas las concentraciones fue mínima con respecto a las demás alteraciones, presentándose en 0.1, 0.5 y 1.0 % una respuesta directamente proporcional a la concentración y en 1.5, 2.0 y 3.0 % una disminución en la frecuencia al aumentar la concentración.

Otro criterio que se evaluó fue el índice mitótico (I.M.) el cual se considera como una prueba rápida para determinar el daño del n-heptano. En general se observó diferencia significativa en todas las concentraciones con respecto al testigo, lo que implicó que hubo inhibición de la división celular siendo mayor en las concentraciones de 0.5 y 1.0 % (tabla VIII, figura 4.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La estructura de un mutágeno puede alterar significativamente las propiedades químicas y físicas de un sistema biológico (Konzak, 1965).

Estas alteraciones pueden ser a nivel cromosómico, por lo que se recomienda hacer las evaluaciones del daño en cromosomas que presentan mayor contracción, como sucede en la metafase y en la anafase de la mitosis (Conger, 1965; Kihlman, 1963, 1966, 1975; Tomkins y Grant, 1972; Savage, 1975). Sin embargo, en anafase se pueden identificar otras alteraciones, a parte

de las aberraciones , como son los cromosomas retardados, que se originan cuando el centrómero es dañado (Ramanna y Natarajan,1966; Tomkins y Grant, 1972; Nicoloff y Gecheff,1976) y anafases multipolares cuya inducción es debida a disturbios en la formación del huso acromático así como en su funcionamiento (Gómez- Arroyo,1980).

La aplicación de los diversos tiempos de tratamiento y recuperación es con el fin de establecer la sensibilidad de las diferentes etapas del ciclo celular y determinar si el agente utilizado provoca retardo en la duración del mismo; para conocer la rapidez con que actúan se aplican tratamientos cortos de 1, 2 y 3 horas (Gómez-Arroyo,1980).

Las aberraciones de tipo subcromatídico que se presentan en todas las concentraciones (tablas I-VI), de acuerdo con Kihlman (1963, 1966) y Kihlman et al. (1978), se producen durante la profase y como el sustrato es la media cromátida deben observarse en las 2 primeras horas de iniciado el tratamiento, lo que coincide con lo obtenido en este trabajo; sin embargo en 0.1, 0.5, 1.5 y 2.0 % aparecen aberraciones de este tipo en la tercera hora, lo que implica un alargamiento en la duración de la profase, ya que ésta dura aproximadamente una hora a 19 °C (Evans y Scott, 1964).

Las aberraciones de tipo cromatídico, las cuales aparecen en todas las concentraciones, tratamientos y tiempos de recuperación, son inducidas en S, G₂ y profase y el sustrato es la cromátida. Kihlman (1966) y Kihlman et al. (1978) mencionan además, que este tipo de aberraciones deben presentarse entre las 2 y las 14 horas de recuperación con agentes cuyo efecto se considera "no-retardado" y también proponen que las aberraciones de tipo cromosómico deben aparecer con sustancias que tienen este mismo efecto a las 14 horas de recuperación. Siguiendo este criterio se puede considerar al n-heptano como de efecto "no-retardado", debido a que las aberraciones cromatídicas aparecen a partir de la primera hora de tratamiento y las de tipo cromosómico se manifiestan a las 14 horas de recuperación. Lo que también implica que este solvente no produce un alargamiento en la duración del ciclo celular. En cambio Gómez-Arroyo (1980) observa con el tíner y algunos de sus componentes como tolueno, benceno, n-hexano que las aberraciones de tipo cromatídico aparecen desde la primera hora del tratamiento y las aberraciones cromosómicas se presentan con el tíner y en el n-hexano a las 46 horas de iniciado el tratamiento y con el tolueno y el benceno aparecen a las 48 horas de iniciado el tratamiento, lo que implica que estas sustancias producen un alargamiento en la duración del ciclo celular.

En tiempos de recuperación mayores de 18 horas, todavía se registran células con alteraciones cromatídicas mezcladas con células que presentan aberraciones cromosómicas. Esto mismo ha sido observado usando radiaciones por Taylor (1953) y Moses y Taylor (1955) en las microsporas de tradescantia y por Thoday (1954) en las raíces de Vicia faba, así como Taylor (1958) en microsporas de Tulbaghia violaceae, quienes concluyen que la transición de aberraciones de tipo cromatídico a cromosómico coinciden en tiempo en el período de síntesis del ADN en la interfase.

Los estudios autorradiográficos realizados por Wolff y Luippold (1964) y por Evans y Savage (1963) en Vicia faba, señalan que las aberraciones de tipo cromatídico pueden ser inducidas por los rayos X al aplicarse en un lapso corto durante la presíntesis del ADN. Por ello, Evans y Savage (1963) sugieren que esto puede ser el resultado de la separación física de las unidades de replicación antes de la síntesis.

Evans (1962) describe que las células irradiadas durante la fase S muestran en metafase una mezcla de aberraciones, tanto de tipo cromatídico como cromosómico. Bostock y Summer (1978) explican que este hecho se debe a que el ADN, en la fase S, se replica en diferentes tiempos (replicación asincrónica).

Estas demostraciones pueden explicar los resultados obtenidos con el n-heptano.

Como se mencionó anteriormente el n-heptano se comporta como un agente de efecto "no-retardado" en cuanto a la aparición de las aberraciones, además induce aberraciones de tipo subcromatídico, cromatídico y cromosómico, de acuerdo a la etapa del ciclo celular en donde se produjo la alteración, no dependiendo de la síntesis del ADN para expresarse. Por estas razones se puede concluir que este solvente tiene un comportamiento S-independiente. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gómez-Arroyo (1980) quien encuentra el mismo comportamiento con el tíner y algunos de sus principales componentes como el benceno, tolueno y n-hexano.

Los cromosomas retardados que se presentan desde la primera hora de tratamiento, en todas las concentraciones, indican que el n-heptano tiene un efecto directo e inmediato sobre el centrómero, inactivándolo, dando lugar a los cromosomas con el centrómero inactivado o provocando la ruptura transversal del mismo produciendo isocromosomas. Al no integrarse estos cromosomas a las células hijas se producen aumentos o disminuciones en sus números cromosómicos (aneuploidías). También se pueden expresar como micronúcleos en interfase.

En este trabajo, los cromosomas retardados muestran un decremento conforme aumenta la concentración, excepto en 0.5 % que fue la más alta. En términos generales la frecuencia de aberraciones totales fue mayor que la frecuencia de cromosomas retardados, por ello se puede considerar que el n-heptano tiene menor efecto sobre el centrómero que sobre el resto del cromosoma, este mismo resultado fue obtenido con benceno, tolueno y n-hexano por Gómez-Arroyo (1980).

También se hizo el análisis de anafases multipolares, las cuales se producen por el daño en el aparato mitótico, que está formado por fibras cuya estructura está constituida por una compleja asociación de microtúbulos y estos a su vez formados por subunidades de dímeros de proteínas muy similares: la tubulina alfa y beta. Cada dímero tiene varias uniones, tanto longitudinalmente como lateralmente y algunos de ellos posiblemente sean centros donde se puedan unir otras moléculas. El papel del calcio es importante ya que bastan ligeros cambios en su concentración para afectar al proceso de ensamblaje. Algunos resultados recientes sugieren que la proteína reguladora dependiente del calcio llamada calmodulina es la que controla el ensamble y la disgregación de los microtúbulos en las células durante la división. En la mayoría de las células se presentan dos grupos diferentes de fibras para el movimiento de los cromosomas: un grupo surge del cinetocoro hasta el cuerpo polar y el otro grupo se extiende de polo a polo (Dustín, 1980).

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar el efecto de las sustancias sobre el huso mitótico. Así Giménez-Martín y López-Saez (1960,1961) y Giménez-Martín et al. (1964, 1966), sugieren que la producción de anafases multipolares se debe a una activación en la división del "centro de atracción" (que sería equivalente al centriolo en las células animales); cuya división anormal provoca un número arbitrario de husos dando origen a células multipolares. Esta alteración produce células aneuploides debido a la distribución irregular de los cromosomas.

Giménez-Martín et al. (1966) encuentran que el γ hexacloro ciclohexano (lindano) produce anafases multipolares en raíces de Allium cepa debido a la activación de la división del "centro de atracción" por acumulación de la sustancia.

Rapkine (1931), Zimmerman (1960) y Mazia (1961) consideran importante el equilibrio mantenido entre los grupos SH de las proteínas (tubulina) y los enlaces -S-S- que se forman al unirse estas proteínas, así como en la formación de las fibras del huso mitótico, basado en la reacción inicial sulfhidril-disulfuro.

Lorente (1969,1972) ha reportado que los compuestos mercuriales bloquean los grupos SH ocasionando, entre otras anormalidades mitóticas, las células multipolares.

Levan y Östergren (1943) y Östergren (1944) señalan que la destrucción del huso por el naftaleno y el benceno posiblemente se deba a la atracción entre las moléculas de las substancias y las cadenas laterales lipofílicas de las proteínas (tubulina), convirtiendo las miscelas del huso que son de tipo fibrilar en una forma globular acortándose de esta manera las fibras y produciéndose por lo tanto la destrucción del mismo. Gómez-Arroyo (1980) también propone que los solventes como el tiner, tolueno, benceno y el n-hexano actúan de esta manera y siendo el n-heptano una substancia muy similar, estructuralmente al n-hexano probablemente actúa de la misma forma .

Otra alteración que se considera para evaluar el daño cromosómico producido por agentes tanto físicos como químicos son los micronúcleos (Evans et al., 1959; Heddle, 1973; Schmid, 1975; Maier y Schmid, 1976; Ma, 1979), que son la expresión, en interfase de los fragmentos acéntricos (Evans et al., 1959; Maier, 1976) y de los cromosomas retardados (Schmid, 1973, 1975), los cuales permanecen en la región ecuatorial y no son transportados a los polos de la célula durante la anafase.

La frecuencia de los micronúcleos inducidos por el n-heptano se muestra como una asíntota debido a que no hay respuesta con la concentración, estos datos coinciden con los obtenidos en haba por Gómez-Arroyo (1980) con tiner, tolueno, benceno y n-hexano, lo cual sugiere que en este vegetal, a los

micronúcleos es posible usarlos solamente como sensor cu
litativo del daño cromosómico.

También se evalúa el índice mitótico, ya que se ha observado que los diversos agentes provocan inhibición de la divisi
ón celular.

Las alteraciones en el índice mitótico pueden ser producidos tanto por agentes químicos (Kihlman, 1966; Bruchousky et al., 1967) como por físicos (Davidson, 1959; Evans et al., 1959) y de acuerdo con el estado del ciclo celular (G_1 , S, G_2 y profase) en el que actúe el agente, será la respuesta (Kihlman, 1966). Generalmente el estado que se afecta de la célula es la interfase y en ocasiones la profase temprana, cuando esto sucede se produce una reversión de la célula a interfase (D'Amato, 1949).

Kihlman (1966) propone que cuando el agente actúa en G_1 ó S puede inhibir la replicación cromosómica así como la división de los cromosomas, mientras que los que afectan G_2 dañan únicamente la separación de las cromátidas.

Se puede considerar dos maneras de actuar de los agentes que provocan inhibición de la división celular (Kihlman, 1966).

1. Aquellos que afectan la síntesis o la estructura del ADN y ARN.
2. Los que inhiben la producción de energía requerida en la mitosis.

Dentro del grupo de los que afectan el ADN y su metabolismo es conveniente distinguir los inhibidores de la síntesis del ADN y/o de sus precursores, por un lado, y por el otro a los agentes que modifican su estructura.

La síntesis del ADN y la fosforilación oxidativa son eventos importantes para la división celular, la inhibición de esos procesos generalmente resulta en la inhibición de la mitosis. Substancias tales como 5-fluorodesoxiuridina, 2'-desoxirribósido de adenina, citocina arabinosa, arabinosa, aminopterina, etc. inhiben la síntesis del ADN, por lo que se ha descrito que son fuertes inhibidores mitóticos. También la inhibición de la división celular puede ser producida con inhibidores respiratorios como el monóxido de carbono, el cianuro, etc.

Otra causa que puede inducir la disminución de la frecuencia de divisiones celulares son las aberraciones cromosómicas ya que algunas de ellas originan la muerte celular (Davidson, 1959,1960; Gómez-Arroyo,1980).

El n-heptano ocasiona inhibición en la división celular con respecto al testigo (tabla VIII y fig.4) observándose en

las concentraciones 0.5 y 1.0 % una inhibición mayor, esto puede deberse probablemente a que en estas concentraciones hubo una frecuencia elevada de aberraciones (tabla VII y fig.3), lo cual puede ser congruente con lo expresado por Davidson (1959, 1960) y Gómez-Arroyo (1980).

En la tabla VII y Fig. 3 se observa que el n-heptano a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 % produce un incremento directamente proporcional en la frecuencia de aberraciones, y una proporción inversa en el índice mitótico (Tabla VIII y Fig. 4) por el contrario en las concentraciones de 1.5, 2.0 y 3.0 % hay un decremento en la frecuencia de aberraciones manteniéndose casi constante y un ligero incremento en el índice mitótico, aunque en terminos generales, en todas las concentraciones hay una inhibición de este último con respecto al testigo. También se puede apreciar que el n-heptano no provoca toxicidad severa ya que el número de células analizables por concentración no se abate permaneciendo casi constante en las concentraciones elevadas. El mecanismo que puede explicar este efecto es desconocido, sin embargo es posible considerar que el n-heptano en concentraciones bajas se difunde al principio con mayor facilidad a través de la membrana debido a que se trata de un solvente liposoluble, lo cual concuerda con los resultados de Overton (1902) (citado por Loewy y Siekevitz, 1974) quien estudió la permeabilidad de la membrana

na a un gran número de sustancias y notó que, en general, la velocidad de penetración de una determinada sustancia está relacionada con su solubilidad en los lípidos, pero posiblemente al aumentar la concentración y conforme va penetrando el solvente, éste tenga una mayor interacción con algunas moléculas como enzimas, iones o transportadores específicos que actúan durante el transporte pasivo o activo, afectando la cinética del solvente en el momento de entrar, lo cual provoca que éste se acumule, formándose una barrera que impida la difusión del solvente hacia el interior de la célula, por lo que consecuentemente, ya no se producen tantos efectos en las mismas. A esto puede deberse posiblemente la disminución en la frecuencia de aberraciones así como el ligero aumento en el índice mitótico.

De los constituyentes del tiner se ha podido observar que el n-heptano es el menos tóxico, ya que se han probado los efectos, en el mismo sistema biológico (haba), de algunos componentes del tiner como benceno, tolueno, n-hexano y el mismo tiner y se ha encontrado que estos cuatro solventes presentan mayor toxicidad en concentraciones menores de 3.0% que es la concentración máxima que se utiliza de n-heptano, y el que menos efecto provoca es el n-hexano ya que las plántulas de las habas soportaron concentraciones de 0.75%, siguiendole en toxicidad el benceno con 0.30%, luego el tolueno con

0.15 % y el más drástico es el tiner con 0.12 %. Esto comprueba lo descrito por varios autores (Browning, 1953; Gerarde, 1973; Takeuchi et al., 1980) que entre los solventes industriales el n-heptano es uno de los que tiene menor efecto biológico.

REFERENCIAS

- BENDER, M.A., Griggs, H.G. y Walker, P.L. (1973). Mechanisms of chromosomal aberrations production. I. Aberrations induction by ultraviolet light. *Mutat. Res.* 20, 387-402.
- BOSTOCK, C.J. y Summer, A.T. (1978). The eukaryotic chromosome. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, pp. 437-473.
- BROWNING, E. (1953) Toxic solvents. Edward Arnold & Co. London. pp. 1-165.
- BRUCHOVSKY, N., Mak, S. y Till, J.E. (1967). Effects of B-phenethyl alcohol on mouse L cell in suspension culture. II Effects on the cell division cycle. *Mol. Pharmacol.* 3, 133-141.
- CONGER, A.D. (1965) The fate of metaphase aberrations. *Radiat. Bot.* 5, 81-96.
- CONGER, A.D. y Fairchild, L.M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanents. *Stain. Technol.* 28, 281-283.
- CRESPI, V., Di Costanzo, M., Ferrario, F., Tredici, G. (1979). Electrophysiological findings in workers exposed to n-heptane fumes. *J. Neurol.* 222, 135-138.
- D'AMATO, F. (1949). Prophase poisoning by chemical agents. *Caryologia* 1, 327-328.
- DAVIDSON, D. (1959). A method for estimating mitotic rates in Vicia roots after X irradiation. *Brit. J. Radiol.* 32, 612-614.

- DAVIDSON, D. (1960). Meristem initial cells in irradiated root of Vicia faba. Ann. Bot. 24, 287-295.
- DUSTIN, P. (1980). Microtubulos. Sci. Am. 49, 36-53.
- ELKINS, B.H. (1959). The chemistry of industrial toxicology. 2da. Ed. John Wiley & Sons. Inc. Nueva York.
- EVANS, H.J. (1962). Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. Int. Rev. Cytol. 13, 221-231.
- EVANS, H.J. (1966). Repair and recovery from chromosome damage after fractionated x-ray dosage. En : Genetical Aspects of Radiosensitivity: Mechanisms of Repair. Int. Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 31-48.
- EVANS, H.J. (1977). Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations. En: D. Scott, B.A. Bridges and F.H. Sobels, EDs. Progress in Genetic Toxicology. Elsevier, Amsterdam, pp. 57-74.
- EVANS, H.J., Neary, G.J. y Tonkinson, S.M. (1959). The effect of oxygen on the induction by gamma radiation of mitotic delay in root tips of Vicia faba. Exp. Cell. Res. 17, 144-159.

- EVANS, H.J. y Savage, J.R.K. (1963). The relation between DNA synthesis and chromosome structure as resolved by x-ray damage
J.Cell. Biol. 18, 525- 540.
- Evans, H.J. y Scott, D. (1964). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by x-ray and maleic hydrazide in Vicia faba. Genetics 49, 17-38.
- FUHNER, H. (1921). Die Narkotische wirkung des Benzins und seiner bestandteile (pentan, hexan, heptan, octan) Biochem. Z. Berlin 115, 235-261.
- GERARDE, H.W. (1959) Toxicological studies on hydrocarbons.V. Kerosine toxicol. Appl. Pharmacol. 1. 462-474.
- GERARDE, H.W. (1973) .Gases y vapores nocivos. II Hidrocarburos y mezclas de hidrocarburos. En: Farmacologia Medica. Prensa Médica Mexicana. Méx. pp. 1187-1206.
- GIMENEZ-MARTIN, G. y López-Sáez, J.F. (1960). Acción del γ -hexaclorociclohexano sobre la división celular. Phytion 14, 61-78.
- GIMENEZ-MARTIN, G. y López-Sáez, J.F. (1961). Mutagénesis por acción del γ -hexaclorociclohexano. Phytion 16, 45-55.
- GIMENEZ - MARTIN, G. González-Fernández, A. y López-Sáez, J.F. (1964) Bimitosis. Phytion 21, 77-84.
- GIMENEZ-MARTIN, G., González-Fernández A., López-Sáez, J.F. y Fernández-Gómez E. (1966). Polymitosis with unbalanced nuclei. Phytion 23, 11-14.

- GOMEZ-ARROYO, S. (1980). Efectos cromosomicos del tñner 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 chromosomal damage. Mutat. Res. 18, 187-180.
- HOLMBERG, I.B., Jakobson y Malmfors, T. (1974). The effect of organic solvents on erythrocytes during hypotonic hemolysis Environ. Res. 7, 193-205.
- KIHLMAN, B.A. (1963). Relations to radiation-induced aberrations. En: Radiation-Induced Chromosome Aberrations, S. Wolff, Ed. Columbia University Press, Nueva York, pp 100-122.
- KIHLMAN, B.A. (1966). Actions of chemicals on dividing cell. Prentice Hall, Nueva Jersey .
- KIHLMAN, B.A. (1975). Root tips of Vicia faba for the study of the induction of chromosomal aberrations. Mutat. Res. 31, 401-412.
- KIHLMAN, B.A. (1977). Caffeine and chromosomes. Elsevier, Amsterdam .
- 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.

- KONZAK, C.F., Nilan, R.A., Wagner, J. (1965) Efficient chemical mutagenesis. En: The use of induced mutations in plant breeding Pergamon Press. Roma ,Itallia.
- LAWRENCE, T. (1957) Industrial toxicology 2da. Ed. Williams & Wilkins Company Nueva York pp.268- 269.
- LEVAN, A. y Östergren, G. (1943). The mechanism of c-mitotic action observation on the naphthalene series. Hereditas 29, 381-443.
- LOEWY, A.G. y Siekevitz, P. (1974). Estructura y función celular. Ed. Continental, S.A. México pp. 1-567.
- LORENTE, R. (1969). Acción de mercuriales en mitosis vegetales. An.Est. Exp. Aula dei 9, 265-276.
- LORENTE, R. (1972). Acción de mercuriales en mitosis Vegetales. II. Genet. Iber. 24, 331.
- MA, T.H. (1979). Micronuclei induced by x-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of Tradescantia. Mutat. Res. 64, 307-313.
- MACHAM, L.P. y Heydeman M.T. (1974). Pseudomonas aeruginosa mutants defective in heptane oxidation. J.Gen.Micro. 85, 77-84.
- MAIER, P. y Schmid, W. (1976). Ten model mutagens evaluated by the micronucleus test. Mutat. Res. 40, 325-338.

- MAZIA, D. (1961). Como se dividen las células. En: La célula viva. Blome, Barcelona, pp. 285-299.
- MOSES, M. J. y Taylor, J. H. (1955). Desoxyribose nucleic acid synthesis during microsporogenesis in Tradescantia. Exp. cell Res. 9, 474-488
- 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.
- RAMANNA, M. S. y Natarajan, A. T. (1966). Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonate under different physical treatment conditions. Chromosoma 18, 44-59.
- RAPKINE, L. (1931) Sur les processus chimiques au cours of the division cellulaire. Ann. Physiol. Physicochim. Biol., 7, 382-418 .
- SAVAGE, J. R. K. (1975). Radiation-induced chromosomal aberrations in the plant Tradescantia: dose-response curves. I. Preliminary considerations. Radiat. Bot. 15, 87-140.
- SAVOLAINEN, H. y Pfaffli, P. (1980). Neurochemical effects on rats of n-heptane inhalation exposure. Arch. Environ. Contam. toxicol. 9, 727-732.

- SCHMID, W. (1973). Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammalian cell. Agents and Actions 3, 77-85.
- SCHMID, W. (1975). The micronucleus test. Mutat. Res. 31, 9-15.
- SPIEGEL, M.R. (1970). Estadística Serie de Compendios Schaum. Mc-Graw-Hill. México. pp.168-171.
- TAKEICHI, I. Ono, Y., Hisanaga, N., Kitch, S. y Sugiura, Y. (1980). A comparative study on the neurotoxicity of n-pentano, n-hexano, and n-heptano in the rat. Br.J. Ind. Med. 37, 241-247.
- TAYLOR, J.H. (1953). Autoradiographic detection of incorporation of p^{32} into chromosomes during meiosis and mitosis. Exp. Cell. Res. 4, 164-173.
- TAYLOR, J.H. (1958). Incorporation of phosphorus-32 into nucleic acids and proteins during microgametogenesis of Tulbaghia. Amer.J.Bot. 45, 123-131.
- THODAY, J.M. (1954). Radiation- induced chromosome breakage, desoxyribo-senucleic acid synthesis and the mitotic cycle in root-meristem cell of Vicia faba. New Phytol. 53, 511-516.
- TOMKINS, D.J. y Grant, W.F. (1972) Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metrobromuron and tetrachloro-isophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Can. J. Genet. Cytol. 14, 245-256.

VILLALOBOS_PIETRINI, R. (1965). Alteraciones inducidas por los rayos x en los cromosomas de las raíz de Vicia faba. I. Aspectos Técnicos. Bol. Soc. Bot. Méx. 29, 178-183

WOLFF, S. y Luippold, H.E. (1964). Chromosome splitting as revealed by combined X-ray and labeling experiments .Exp. Cell. Res. 34, 548-556

ZIMMERMAN, A.M. (1960). Physico-chemical analysis of the isolated mitotic apparatus. Exp. Cell. Res. 20, 529-547

TABLA I

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 0.1 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos senci doble s		% Puentes * senci doble s		% Cromosomas retardados centro- mero inacti- vado		% Anafa- ses multi- polares		% Micro- nú- cleos**
1	0	1593	15.90	13.87	9.95	0	0.94	2.98	0	10.49	3.37	0	2.90
2	0	1253	14.43	12.94	7.42	0	0.26	5.26	0	3.75	2.81	0.08	1.35
3	0	359	14.49	11.86	1.49	0	1.05	9.32	0	10.88	3.97	0.32	0
4	2	433	17.23	20.37	5.64	0	0	14.73	0	13.10	1.28	0	0.85
4	14	3326	5.13	4.59	3.19	0.22	0	0.89	0.29	1.77	0.18	0.05	0
4	18	1079	9.62	7.13	4.40	1.37	0	0.58	0.78	4.02	2.04	0	0.80
4	42	7877	2.05	2.13	0.64	0.33	0	0.52	0.64	0.39	0.07	0	2.10
4	44	6186	3.48	3.14	1.73	0.46	0	0.50	0.45	0.76	0.35	0.04	0

* con y sin fragmentos

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

TABLA II

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 0,5 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos senci- doble s		% Puentes * senci- doble s		% Cromosomas retardados centro- mero inacti- vado		% Anafa- ses multi- polares		% Micro- nú- cleos**
1	0	1491	19.98	14.70	9.58	0	1.55	3.57	0	8.52	11.23	0.11	4.45
2	0	684	17.69	19.15	10.50	0	1.35	7.30	0	4.44	1.25	0.17	1.15
3	0	254	29.95	46.58	37.11	0	0.64	8.83	0	27.62	7.40	0.32	1.60
4	2	578	13.68	14.96	6.94	0	0	8.02	0	5.15	0	0.10	0.70
4	14	1299	11.80	10.78	9.06	0.22	0	1.33	0.17	3.63	0.39	0	0.25
4	18	1942	18.11	21.58	9.29	11.70	0	0.31	0.28	6.26	0.11	0	2.40
4	42	3623	2.15	2.14	0.64	0.28	0	0.63	0.59	0.26	0.08	0	1.65
4	44	983	11.44	9.68	5.48	1.67	0	1.73	0.80	2.88	1.66	0.25	0.15

* con y sin fragmentos

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

TABLA III

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 1.0 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración	Total de anafases	% Anafases anormales	% Aberracio- nes totales	% Fragmentos senci- doble s	% dobles	sub croma- tídic os	% Puentes * senci- doble s	% Cromosomas retardados centro- mero inacti- vado	% isocro- moso- mas	% Anafa- ses multi- polares	% Micro- nú- cleos**	
1	0	2022	14.27	11.38	5.31	0	2.02	4.05	0	2.69	5.55	0	2.10
2	0	655	9.19	8.23	5.17	0	0.21	2.85	0	3.96	0.70	0	0.50
3	0	201	28.17	23.82	8.20	0	0	15.62	0	22.86	0.64	1.04	0.15
4	2	108	33.53	40.40	26.46	0	0	13.94	0	12.85	1.19	0	0.05
4	14	768	13.93	14.92	8.29	0.62	0	5.71	0.30	4.15	0.17	0.07	0.10
4	18	890	18.56	20.39	5.65	3.15	0	7.68	3.91	4.03	1.11	0.22	2.30
4	42	429	13.96	12.97	5.60	1.43	0	4.71	1.23	6.31	0.48	0	2.65
4	44	1647	10.14	9.38	3.15	2.26	0	1.14	2.83	1.57	0.32	0.18	0.75

* con y sin fragmentos

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

TABLA IV

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 1,5 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Tratamiento (horas)	Tiempo de recuperación	Total de anafases	%	%	%		%		%		%	%	
			Anafases anormales	Aberraciones totales	Fragmentos sencillos	dobles	Puentes sencillos	*dobles	Cromosomas retardados centro inactivo	isocromosomas	Anafases múltiples	Micronúcleos**	
1	0	2771	6.37	6.31	3.46	0	0.15	2.70	0	0.85	1.43	0.03	0.30
2	0	1105	13.35	15.14	5.25	0	0.32	9.57	0	3.91	0	0	0.55
3	0	415	17.40	14.82	6.00	0	0.27	8.55	0	9.55	1.67	0.21	2.20
4	2	234	29.99	27.00	15.43	0	0	11.57	0	14.92	0.27	0	0.20
4	14	731	13.65	13.73	8.80	0.56	0	3.73	0.64	4.32	0.98	0.31	0.50
4	18	612	10.41	11.04	5.69	2.13	0	1.94	1.28	2.57	0.66	0.09	1.75
4	42	963	9.18	8.62	2.68	2.61	0	0.20	3.13	2.67	1.45	0	0.60
4	44	600	13.68	12.90	3.48	4.86	0	1.50	3.06	2.18	0.10	0	0.20

* con y sin fragmentos

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

TABLA V

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 2.0 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración	Total de anafases	%	%	%		%		%		%	%	
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos senci- llos	dobles	Puentes * senci- llos	dobles	Cromosomas retardados centro- mero inacti- vado	isocro- moso- mas	Anafa- ses multi- polares	Micro- nú- cleos**	
1	0	3057	7.73	7.77	3.23	0	0.22	4.32	0	1.34	1.16	0.03	0
2	0	910	14.63	14.33	6.28	0	0.22	7.83	0	2.88	1.12	0.11	1.20
3	0	685	19.25	16.25	9.42	0	0.42	6.41	0	10.36	10.12	0.18	1.80
4	2	1097	15.35	15.98	5.69	0	0	9.45	0	2.62	2.77	0.19	1.30
4	14	624	20.51	28.42	9.75	10.12	0	4.35	4.20	5.98	1.84	0	0.45
4	18	388	19.24	18.63	6.84	2.78	0	2.12	6.89	1.64	0.98	0	3.05
4	42	3216	5.48	4.92	0.30	0.77	0	0.60	3.25	0.69	0.21	0	0.45
4	44	118	10.60	7.91	1.55	1.65	0	0.64	4.07	3.78	0	0	0.45

* con y sin fragmentos

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

TABLA VI

FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE Vicia faba INDUCIDAS POR n-HEPTANO 3.0 % A DIVERSOS TIEMPOS DE RECUPERACION

Trata- miento (horas)	Tiempo de recu- peración	Total de anafases	%	%	%	% sub		% Puentes *		% Cromosomas		%	%
			Anafases anormales	Aberracio- nes totales	Fragmentos senci- doble s	dobles	romo- soma s	do bles	centro- mero inacti- vado	isocro- moso- mas	Anafa- ses multi- polares	Micro- nú- cleos**	
1	0	166	25.12	27.76	9.93	0	2.45	15.38	0	0.56	0	0	0.20
2	0	580	20.46	19.88	4.05	0	0.42	15.41	0	2.45	0.35	0.23	0.15
3	0	666	12.44	10.70	5.73	0	0	4.97	0	4.01	2.04	0	0
4	2	83	20.15	23.17	11.60	0	0	11.57	0	0	0	0	0.15
4	14	2060	4.58	4.28	0.85	0.35	0	1.35	1.73	0.49	0.19	0	0.75
4	18	1787	4.48	4.44	1.52	0.08	0	0.87	1.97	0.10	0	0	1.45
4	42	280	13.43	11.17	8.41	0.56	0	1.78	0.42	2.51	0.56	0	2.10
4	44	1453	3.03	3.25	0.85	0	0	1.75	0.65	0.04	0	0	1.25

* con y sin fragmentos

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

TABLA VII

FRECUENCIAS DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR n-HEPTANO EN LOS CROMOSOMAS

DE Vicia faba

Concentración (%)	Total de anafases	Anafases anormales	Aberraciones totales	Cromosomas retardados	Anafases multipolares	Micronúcleos
0.1	22106	10.29	9.50	7.40	0.06	1.00
0.5	10854	15.60	17.44	10.11	0.11	1.54
1.0	6720	17.71	17.68	8.57	0.18	1.07
1.5	7431	14.25	13.69	5.94	0.08	0.78
2.0	10095	14.09	14.27	5.93	0.06	1.08
3.0	7075	12.96	13.08	1.66	0.02	0.75

TABLA VIII

INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE n-HEPTANO
 EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

Concentración (%)	Indice Mitótico
0	39.27
0.1	20.91
0.5	17.15
1.0	15.76
1.5	20.72
2.0	22.51
3.0	21.97

$$z (0.05) = - 1.645$$

TABLA VIII

INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE n-HEPTANO
 EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

Concentración (%)	Indice Mitótico
0	39.27
0.1	20.91
0.5	17.15
1.0	15.76
1.5	20.72
2.0	22.51
3.0	21.97

$$z (0.05) = - 1.645$$

A PARTIR
DE ESTA
PAGINA

FALLA DE
ORIGEN.



Fig. 1 (a). Metafase normal de Vicia faba detenida con colchicina.

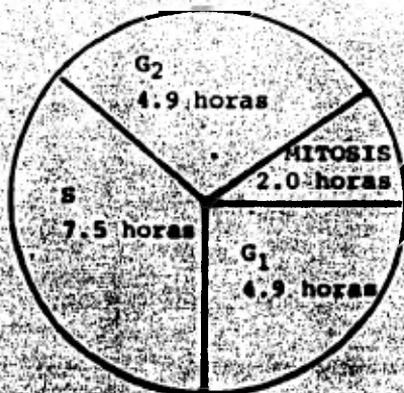


Fig. 1 (b). Tiempos de generación celular en células meristemáticas de la raíz principal de Vicia faba a 19 °C (Evañs y Scott, 1964).

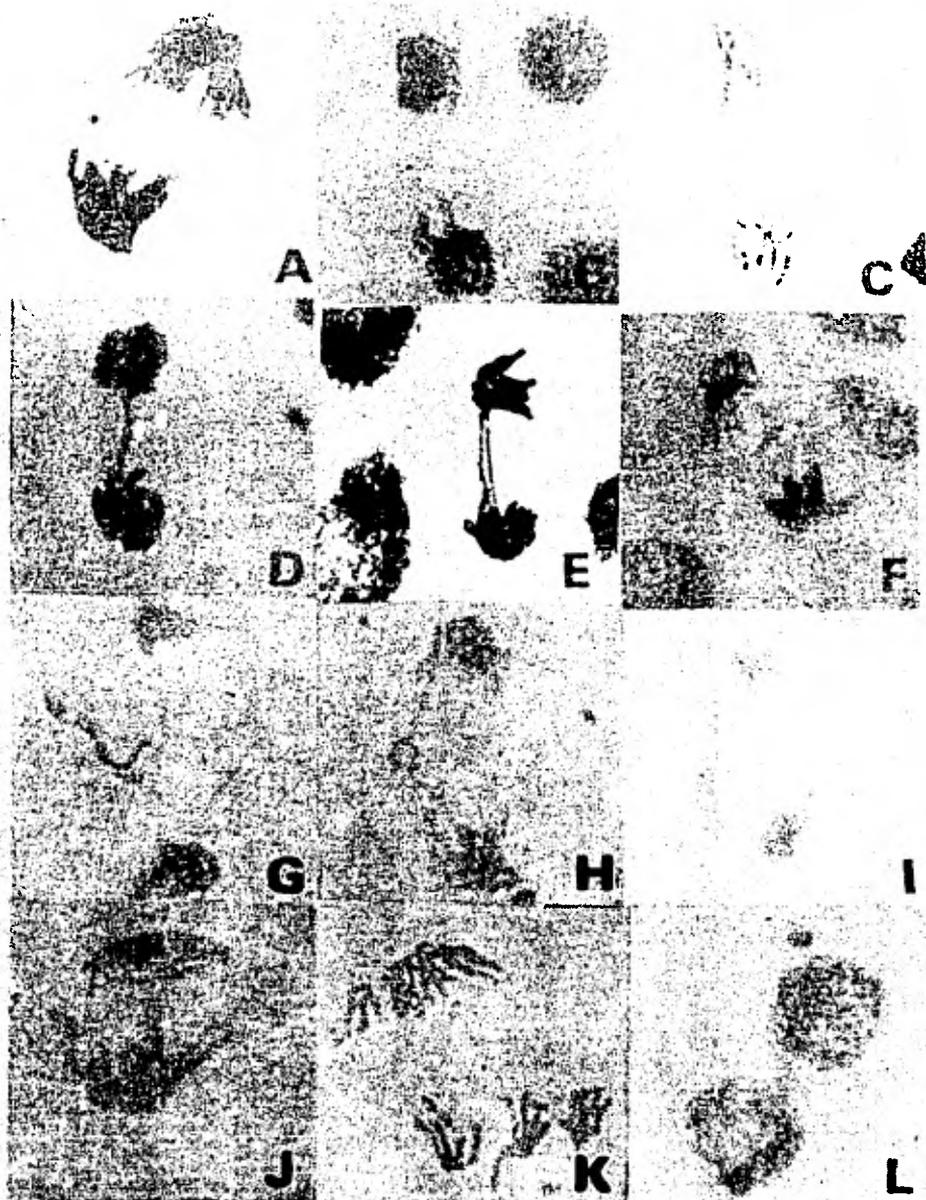


Fig. 2. Alteraciones en los cromosomas de *Vicia faba* producidas por n-heptano. A-K, células en anafase; L, células en interfase; A, fragmento sencillo; B, fragmento doble; C, puente subcromatídico; D, puente sencillo; E, puente doble; F, cromosoma con el centrómero inactivado; G, isocromosoma; H, cuatro fragmentos sencillos; I, dos cromosomas con el centrómero inactivado; J, un puente sencillo y un isocromosoma; K, anafase multipolar; L, micronúcleo.

Fig. 3
 FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE
 HEPTANO EN LOS CROMOSOMAS DE *YERL. IRII*.

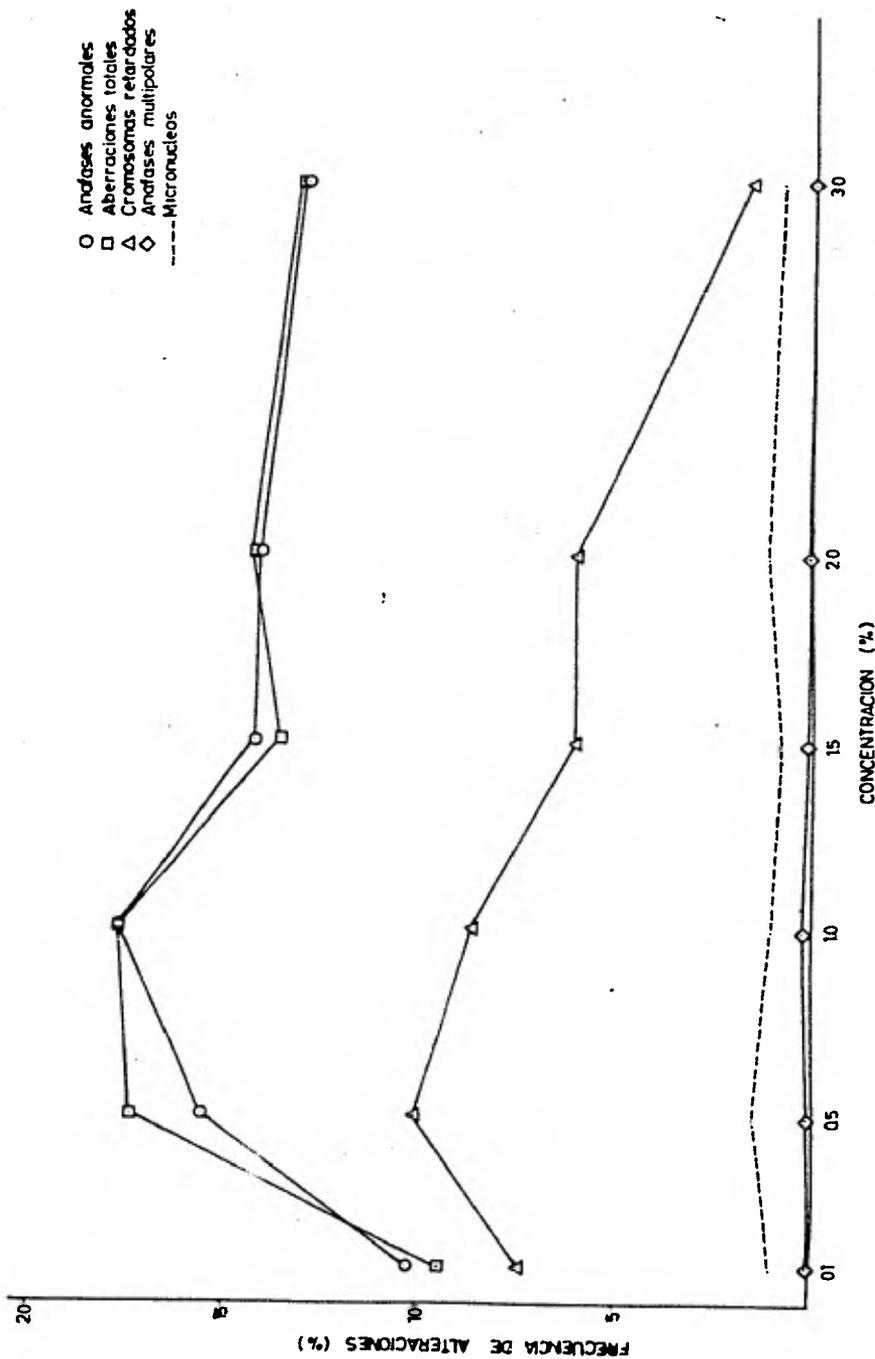


Fig. 4
INDICE MITOTICO EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAZ DE VINO JUBO
TRATADAS CON HEPTANO

