

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1984  
Lej 46

EFEECTO DEL CITRATO DE PIPERACINA EN LA NO -  
DISYUNCIÓN DE Drosophila melanogaster .

Tesis que para obtener el título de Biólogo presenta:

DAVID DELGADO VIVEROS

MEXICO, D.F. ENERO DE 1984 .



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

INDICE:

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
METODOLOGIA.....	25
RESULTADOS.....	30
DISCUSION.....	40
BIBLIOGRAFIA.....	47

RESUMEN:

La no disyunción puede ser inducida por agentes físicos y químicos. Entre los factores físicos se encuentran: La temperatura, las radiaciones ionizantes, etc. Dentro de los elementos químicos encontramos: Gases, sales orgánicas e inorgánicas principalmente, los que se caracterizan por su alto poder mutagénico. Entre los compuestos que pueden causar daño genético, destacan los productos farmacéuticos que se consumen dentro de la población mundial masivamente.

El Citrato de Piperacina es una droga de amplio uso para el control de helmintiasis que afectan a grandes sectores poblacionales (principalmente el infantil), en los países en vías de desarrollo, entre los cuales se encuentra localizado el nuestro.

Coutiño en 1980, investigó el efecto mutagénico de esta droga en Drosophila melanogaster, con el sistema de letales recesivos ligados al sexo encontró que no se produce un efecto mutagénico significativo a la concentración de  $10^{-3}$ M., pero si se observó alta tasa de esterilidad, por lo cual el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del Citrato de Piperacina sobre la fertilidad de Drosophila melanogaster, analizando la no disyunción.

De acuerdo con la prueba de toxicidad y fertilidad, la concentración media letal (CML), fue de 1.5M. (la cual produce un 24% de esterilidad), y la concentración máxima tolerada (CMT) fue de  $1 \times 10^{-4}$ M (la

cual produce un 4% de esterilidad). En base a estas pruebas se seleccionaron las siguientes concentraciones: 0,  $1 \times 10^{-4}$ , 0.3, 0.6, 0.9, y 1.5M., que se administraron oralmente a 300 machos por concentración de la línea  $X^{c2} yf/B^s Yy^+$  durante 72hs., posteriormente se cruzaron con hembras vírgenes  $yw/yw$  (3 hembras por cada macho). Se cuantificó la no disyunción evidenciada por machos  $yw/0$  (cuerpo amarillo-ojo blanco).

Usando el análisis de regresión por mínimos cuadrados se observó que el efecto de la droga sobre el porcentaje de no disyunción, tiene un comportamiento lineal dado por la ecuación:  $Y=0.01145+0.1675X$  con un valor de correlación de 0.96. Se analizaron los resultados del lote testigo y los tratados por la prueba de diferencia de proporciones, encontrándose que a partir de la concentración 0.6M. había diferencia significativa.

Si se comparan estos datos con los obtenidos por Coutiño, (1980) se observa que la alta tasa de esterilidad a la concentración  $1 \times 10^{-3}$  M. es muy pequeña con relación a lo observado en esta investigación.

En base a los resultados obtenidos se concluye que el Citrato de Piperacina no causa un porcentaje significativo de no disyunción a concentraciones bajas ( $1 \times 10^{-4}$  - 0.03M.), por lo que deben investigarse cuales son los otros mecanismos involucrados en la esterilidad.

### INTRODUCCION:

La no disyunción se caracteriza por que no se separan los cromosomas en una de las divisiones meióticas.

Si la no disyunción ocurre en la meiosis I se considera reduccional, y si se presenta en la segunda división meiótica se considera ecuacional. (Lewin, 1980). Ambas pueden distinguirse por sus consecuencias genéticas.

La no disyunción puede ser también denominada primaria y/o secundaria (Swanson, 1965., Goodenough, 1978.). En el primer caso se pueden formar dos tipos de esperma en machos de Drosophila: XY y 0 respectivamente (Bridges, 1916, citado por Swanson, 1965). Los cigotos que resultan de estos espermias difieren en sus caracteres ligados al sexo. El esperma XY proveniente de no disyunción primaria, podría dar lugar a hijas XXY y estas a su vez pueden producir individuos excepcionales secundarios.

Entre las cepas de Drosophila más comúnmente usadas para detectar la no disyunción primaria en machos de este género están:  $y^+Y^{sc^8}$ , y  $B^S Y^+$  (Muller, 1948, Broseau y Lindsley, 1958, citados por Zimering, 1976), donde  $y^+$ , y  $B$  están unidos al brazo largo del Y,  $Y^L$ . El  $B^S Y^+$  (Broseau, 1961, citado por Zimering, 1976), donde B está unido al  $Y^L$ , y  $y^+$  al brazo corto  $Y^S$ .

Se ha sugerido que la frecuencia con la que se recobran los excepcionales primarios es de 0.01-0.05%. (Zimering, 1976).

La no disyunción primaria en las hembras de Drosophila, da lugar a cuatro tipos diferentes de cigotos:XXX, XXY, X0, y el Y0; los dos primeros dan origen a hembras , de las cuales la hembra XXY puede dar lugar a individuos excepcionales secundarios. Los dos últimos originan machos de los cuales el Y0 no es viable y no pasa de la etapa embrionaria.

Bridges, 1916 (citado por Swanson, 1964), observó que las hembras-XXY, provenientes de no disyunción primaria pueden originar cierto número de individuos excepcionales. Este fenómeno recibe el nombre de no disyunción secundaria. El postuló que había una competencia activa entre los dos cromosomas X, y el cromosoma Y, para el apareamiento de cromosomas asociados, dos de estos tres cromosomas pasan juntos mientras que el tercero puede quedar excluido, y queda como univalente para unirse al azar. La no disyunción secundaria podría tener lugar por consiguiente cuando el cromosoma X y el Y provenientes de hembras-XXY, quedan apareados y el X restante pasa al mismo polo como el X-segregante. Sin embargo si uno de los cromosomas X se apareó con el Y, en todos los ovocitos la cantidad de no disyunción secundaria no excedería del 50%.

Actualmente se ha demostrado que en hembras XXY, donde los X son estructuralmente homólogos la frecuencia de no disyunción secundaria es ligeramente superior al 1%. Sin embargo en ciertas hembras XXY,

donde los cromosomas X, son heterócigos para inversiones del cromosoma X, Stutervant y Beadle en 1936, encontraron que los valores de no disyunción secundaria eran muy altos, cercanos al 63%. Se ha observado que la no disyunción secundaria, es reducida si se usa un brazo del cromosoma Y, este provee solamente una región en la cual pueden aparearse un X o un Y. Bridges también observó que la heterozigocidad en los autosomas tendería a reducir la no disyunción secundaria. (Swanson, 1964 y Zimering, 1976).

Los estudios de los efectos de la sensibilidad a temperaturas tanto altas como bajas, sugieren que cada efecto se debe a una acción que ocurre en la meiosis temprana.

Los mutantes de Drosophila mei-269, mei-s8, mei-081, etc., todos causan no disyunción en la primera división meiótica; al realizar experimentos con estas líneas, la no disyunción afecta al par XY, y al cromosoma IV, pero puede también afectar a los cromosomas II y III.

La mutación pal, causa pérdida de los cromosomas no solo en la meiosis, si no también en la primera mitosis del embrión.

Ultimamente se ha podido identificar un mutante que afecta la recombinación, el Mr.

Los mutantes que afectan la meiosis en hembras de Drosophila melanogaster, afectan todo el complemento cromosómico, y pueden divi

dirse en dos clases generales, aquellas que reducen la recombinación y aquellas que interfieren con la segregación cromosómica, las dos incrementan la no disyunción.

Los eventos necesarios para hacer posible el intercambio, pueden estar relacionados con funciones tales como asegurar el apareamiento de homólogos.

Bridges en 1915, propuso que este tipo de mutaciones pueden distinguirse si la recombinación puede ser considerada como un proceso de dos estados. En el primero, los sitios posibles de intercambio son establecidos en una distribución apropiada. En el segundo estado, hay una probabilidad fija, que un intercambio ocurriera en cualquier sitio dado. Se ha sugerido que el efecto de las mutaciones sobre la distribución de intercambios, puede ser una medida del estado de entrecruzamiento impedido. (Lewin, 1980, Baker y Hall 1976.).

Los mutantes de Drosophila, SD (Segregation Disorder), y RD (Disruptor Recovred), se conocen como ejemplos de defectores de meiosis. (Baker y Hall, 1976.). (Tabla I).

La no disyunción causada por mutaciones que reducen o eliminan el intercambio génico, tienen las mismas características en cada uno de los casos mencionados: a) se aplica a todos los cromosomas, b) la no disyunción de homólogos diferentes no es independiente.

Se incrementa mucho la probabilidad de que la no disyunción - no solo se produzca en los cromosomas sexuales, si no también en los otros pares. Lo consistente de este efecto hace suponer que la no disyunción es un defecto secundario asociado a las deficiencias en - en el intercambio génico. (Lewin, 1980).

Se han propuesto dos modelos para explicar la disyunción de - los cromosomas: uno es el cromocentral y el otro es el de apareamiento distributivo. El modelo cromocentral fue propuesto por Novitsky, en 1964, quien postuló que las interacciones entre los centrómeros - de los cromosomas que no sufren intercambio son responsables de su - subsecuente disyunción, o sea que este evento se presenta previo al intercambio.

La hipótesis de apareamiento distributivo fue sugerida por Greel , en 1962; el apareamiento distributivo en el ovocito es un proceso - post-intercambio y está confinado a cromosomas que no han sufrido intercambio y entran a un pool en el cual pueden aparearse, con cualquier otro miembro. Usualmente el apareamiento distributivo tiene - lugar tanto en cromosomas homólogos como en no homólogos. En moscas de genotipo raro, como los no disyuncionales o portadores de translocaciones.

el principal criterio para el establecimiento del apareamiento distributivo parece ser la similitud de tamaño de los cromosomas-

aunque en ausencia de cromosomas de tamaño similar con los cuales - aparearse ; esto puede llevarse a cabo entre cualquier cromosoma que no haya intercambiado material. (Novitsky y Puro, 1978, Lewin, 1980).

Los argumentos genéticos de una interacción entre el intercambio y el no intercambio de cromosomas heterólogos, sugieren la presencia de una configuración cromocentral durante la meiosis de hembras de *Drosophila melanogaster*, esto se debe a que durante la mitosis premeiótica existe una distribución no al azar de cromosomas como resultado de un apareamiento somático mas temprano, las regiones centroméricas de todos los cromosomas se orientan hacia el centro de la metafase; existe tendencia de los cromosomas mas pequeños a ser localizados centralmente. Al inicio de la meiosis se forma un cromocentro por la asociación de todos los cromosomas. La existencia de un cromocentro es una evidencia citológica del modelo cromocentral.

La presencia de un apareamiento hipotético distributivo, no puede ser excluido citologicamente, aunque no exista evidencia desde este punto de vista de su existencia. (Novitsky y Puro, 1978).

La no disyunción puede originarse por una serie de factores como: a) Edad, b) Temperatura, c) Radiaciones ionizantes, d) Mutágenos químicos etc.

La contaminación provocada por el desarrollo tecnológico cada vez

mas creciente, ha repercutido en el medio ambiente causando problemas ecológicos serios.

Los cambios que sufren los cromosomas, no solo se deben a las alteraciones que puedan sufrir en la mitosis, si no también a la meiosis. Para estudiar los cambios tanto estructurales como numéricos en la meiosis, se ha desarrollado el estudio de mutantes meióticos en Drosophila.

El fenotipo de un mutante meiótico es la producción de óvulos o espermias que son anormales en la cantidad y la calidad de los cromosomas (no disyunción, pérdida, rompimiento, recombinación alterada e interferencia o el recobramiento desigual de homólogos respectivamente).

Actualmente hay un amplio número de mutantes meióticos de Drosophila melanogaster. Alrededor de ocho son espontáneos, otros han sido inducidos en el laboratorio, o por medio de cruza de líneas de varias especies. Las restantes han sido obtenidas recientemente. (Baker y Hall, 1976).

Sandler y col. en 1968 (citados por Lewin, 1980), recuperaron trece mutantes meióticos de aproximadamente 180, del segundo y/o tercer cromosomas, tomados de poblaciones naturales. En 1971, Sandler recuperó dos mutantes meióticos de 30, del segundo y tercer cromosomas, inducidos por etil-metano-sulfonato (EMS). Baker y Carpenter en 1972 (ci-

TABLA 1. Mutaciones que afectan la meiosis de Drosophila melanogaster (machos).

Locus mutante.	Origen, localización, - Dominancia.	Efectos observados	Causa de Acción.
mei-269.	Inducido por EMS; se localiza en el cromosoma X; es hemícigo.	La no disyunción de los cromosomas XY, se presenta en un rango de 1 a 10% con exceso de cromosomas nulo XY; esta mutación, no afecta al cromosoma IV; en los cromosomas II/III no está analizado el efecto de esta mutación.	No disyunción en la meiosis, es similar a la del cromosoma X, el cual sufre deleción en la heterocromatina basal.
<u>pal</u>	Inducido por EMS; se localiza en el cromosoma II; es recesivo.	Pérdida no independiente de cromosomas paternos en o subsecuentes a la meiosis y en células somáticas de la progenie <u>pal</u> .	<u>pal</u> <sup>+</sup> puede especificar un componente del cromosoma recesivo para la división, tal como un componente centromérico.
Mr	Población natural; se localiza en el cromosoma II; es semidominante.	Ocasiona recombinación La tasa es la misma el cromosoma II y III con loci de 50 unidades de mapa, mostrando cerca del 1% de recombinación.	Los cambios no recíprocos ocurren en grupos y reflejan la distancia física a diferencia del mapa genético de las hembras; esto puede deberse a eventos prematuros, mas que a la inducción de entrecruzamiento meiótico.

TABLA 1 . Mutaciones que afectan la meiosis de *Drosophila melanogaster*. (machos) (CONTINUACION).

Locus mutante.	Origen, Localización, Dominancia	Efectos observados.	Causa de acción.
SD	Población natural; se localiza en el cromosoma II, es dominante.	SD/+ transmite el cromosoma mutante SD al 50% de la progenie (arriba del 50% hasta el 95%); los individuos SD/SD son estériles.	SD inactiva el esperma que lleva SD <sup>+</sup> . Existe una acción desconocida dirigida contra el cromosoma SD <sup>+</sup> en la meiosis temprana.
RD	Población natural, se localiza en el cromosoma IV; es recesivo.	Hay producción en exceso de hembras en la progenie.	Causa fragmentación del esperma y el período sensitivo
mei-S8.	Población natural, se localiza en el cromosoma IV; es recesivo.	No disyunción del cromosoma IV, esto no lo sufre el par XY. Los cromosomas II/III no están examinados. El 60% son nulo o diplo IV (con excepción del tipo nulo).	Existe posibilidad de que ocurra pérdida en la meiosis I, su acción no se conoce bien, ya que afecta solamente al cromosoma IV o también otros autosomas.
mei-081.	Población natural, se localiza en el cromosoma III, es recesivo.	Causa no disyunción independiente del IV (7-8%) y del Y (5%); II/III no examinados.	Actúa en la meiosis I.

tados por Lewin,1980), recuperaron 31 mutantes meióticos de 209 individuos tratados con EMS a nivel del cromosoma X.

Con solo dos excepciones, todos los mutantes meióticos conocidos de Drosophila melanogaster interfieren con la meiosis I, en los machos, o en las hembras pero no en ambos, lo que nos da a entender que el control de la meiosis I en los dos sexos es diferente. (Lewin 1980).

Dentro de los contaminantes de la biósfera un lugar importante lo ocupan los mutágenos, los cuales pueden ser físicos o químicos, como las radiaciones, y la diferente gama de productos químicos, que intervienen en el desarrollo de cada país.

El avance tan grande de la energía nuclear, y la quimización de la industria y la agricultura, han influido en el aumento de estudios tendientes a la evaluación del efecto mutagénico que tienen sobre los seres vivos, con el fin de conocer el daño que a este nivel puede causar la exposición prolongada a mutágenos ambientales. (Dubinin,1981).

En Drosophila estos factores pueden producir la esterilidad. En los machos esta esterilidad puede deberse a mutaciones ligadas al sexo o autosómicas, y a aberraciones cromosómicas. La esterilidad está comunmente asociada con mutaciones que afectan el ala, ojo, o desarrollo abdominal (Romrell, 1975).

a machos de Drosophila. (Varentzova y Zajarov, 1970).

Se ha visto que en los ovocitos irradiados con rayos X se incrementa la pérdida del cromosoma X, sobre la ganancia de un X en Drosophila melanogaster.

Cuando estos mismos ovocitos fueron tratados con frío, se observó una alta frecuencia de no disyunción. (Leigh, 1979).

Como ya se ha mencionado, el desarrollo de la tecnología a un ritmo acelerado ha provocado que lleguen al ambiente grandes cantidades de compuestos químicos. Aproximadamente cada año aparecen en el mercado alrededor de 500 nuevos compuestos químicos, que inclusive llegan directamente o indirectamente a los alimentos. Estos compuestos pueden ser mutagénicos y por lo tanto inducir no disyunción y pérdida cromosómica, y otros tipos de trastornos genéticos, tanto en células somáticas como en células sexuales. Estos mutágenos pueden llegar al hombre a través de: las industrias donde trabaja, del aire que respira, de los productos medicinales que usa, de sus alimentos, etc.

Entre los productos industriales que tienen un efecto mutagénico alto, están los pesticidas, que se usan en la agricultura inclusive en el hogar. Los productos que han mostrado un efecto mutagénico alto, son los elaborados a base de nitratos, los cuales se transforman en nitritos como resultado del metabolismo de los orga-

nismos. Los nitritos reaccionan con aminas secundarias y forman las nitrosaminas, las cuales se ha observado que son causantes de mutagénesis.

Las substancias nitrogenadas se han probado en sistemas bacterianos, en plantas y en Drosophila.

Otro tipo de productos de importancia por su efecto mutagénico son los alquilantes, que se usan ampliamente en la industria química, como productos intermedios para diferentes procesos tecnológicos, como disolventes orgánicos. Como ejemplo de estos productos se encuentran, los epóxidos, las etilenaminas, etileniminas, los aquirsulfatos, lactonas con la presencia de anillos de sulfonas, etc.

El efecto mutagénico de este tipo de productos se debe principalmente a que tienen "la capacidad" de introducirse a la molécula de ADN. (Dubinin, 1981).

Muchos productos medicinales no han sido evaluados desde el punto de vista de su potencial mutagénico, por lo que su uso sin la precaución debida puede ser causante de daño genético, el cual tendrá mas repercusiones si se afecta a la población infantil, debido a que en este sector de la población las células germinales se encuentran en desarrollo, lo que puede llevarlos a que sean portadores de mutaciones, lesiones que pueden transmitirse a sus descendientes cuando estos hayan llegado a la etapa adulta, o puedan originar es

terilidad.

El efecto de los mutágenos adquiere importancia cuando estos llegan a las gónadas, ya que las lesiones producidas en estas estructuras son hereditarias.

La barrera hemato-testicular puede defender considerablemente las células germinales masculinas contra la acción de diferentes agentes.

Las espermatogonias como se saben están localizadas entre dos elementos principales de la barrera apenas estando sujetas a las substancias traídas por el flujo sanguíneo. Los espermatoцитos y los espermatozoides maduros sufren el efecto unicamente de las substancias que se transportan selectivamente a través del epitelio canalizado y las células de Sertoli. Actualmente no se sabe si existen estas barreras análogas en los ovarios. (Dubinin, 1980).

Se ha visto que de los sistemas para evaluar el efecto genético de los mutágenos, uno de los mas utilizados es la Drosophila esto se debe a la facilidad de manejo que ofrece este organismo, así mismo el mantenimiento resulta económico comparado con otro tipo de organismos.

Su ciclo de vida es relativamente corto (10 días a 25°C.), la cantidad de individuos que pueden obtenerse es bastante grande por lo cual se pueden hacer pruebas con una población grande, lo que ha

ce que los experimentos sean estadísticamente confiables.

La Drosophila melanogaster es un insecto que tiene la capacidad de llevar a cabo las mismas reacciones que ocurren en el metabolismo de los mamíferos, además en este insecto se pueden evaluar "in vitro" todas las alteraciones génicas, como son:

- a) Mutaciones letales dominantes.- En esta prueba se observa muerte en los cigotos.
- b) Mutaciones letales recesivas ligadas al sexo.- Con este sistema se pueden detectar mutaciones hacia adelante, incluyendo mutaciones genéticas, y pequeñas deleciones en el cromosoma X de las células de la línea germinal del macho.
- c) Pérdida total o parcial de cromosomas.- Esta prueba sirve para detectar rompimientos no restituidos, y pérdida de segmentos del cromosoma Y. En la  $F_1$  por medio de marcadores, se detecta la pérdida cromosomal en forma de una segregación defectuosa.
- d) Translocaciones.- Estas pueden ser detectadas en forma de rompimientos, rearrreglos en 95% del material contenido en un juego haploide típico de un macho; producto de lateraciones causadas por un compuesto que origine estos rompimientos.
- e) No disyunción.- Con este tipo de prueba se puede detectar daños en los elementos del aparato mitótico y/o alterar el apareamiento cromosómico, y el entrecruzamiento que antecede a la disyunción, du

durante la meiosis. La tasa espontánea de hembras y machos no disyuncionales es generalmente baja, alrededor del 0.1%, rara vez excede del 0.2%. (Abrahanson, 1971, Zimering, 1975).

El etil-metanosulfonato (EMS), es uno de los productos químicos con un alto poder mutagénico. Cuando se observa el efecto conjunto del EMS, la radiación X, y la edad, se observa en Drosophila melanogaster, que a dosis de 1000 a 2000 r, tiende a aumentar la producción de disómicos. A dosis bajas disminuye la frecuencia de gametos nulósómicos, así como la de disómicos. A una radiación de 125-500r la frecuencia de disómicos fue mas alta que el control, notándose un efecto similar a las dosis 1000, 250, y 500 r. El tratamiento con EMS sobre hembras de diferentes edades, no tuvo incremento significativo de la no disyunción. Pero si se combina el efecto del EMS; cuando se tratan individuos con el químico antes y después de la radiación X se observa un incremento de la pérdida del cromosoma X; lo cual se atribuye a la inhibición del sistema de reparación, como resultado del tratamiento con EMS. (Sobels, 1979., Petrova, 1976.).

Cuando se usaron dosis fraccionadas de EMS y Etilenimina sobre el esperma maduro de machos de Drosophila melanogaster, se observa incremento mutacional de letales recesivos ligados al sexo, cuando se tratan espermatoцитos y espermatoгонias; en cambio con etilenimina (EI) no se observa incremento en la mutación, pero si

un incremento en la esterilidad de la mosca. (Bondarenko, et al, 1978).

Kogan y colaboradores en 1978; encontraron que no se incrementaba la frecuencia de mutaciones letales de células germinales de Drosophila melanogaster, cuando utilizaron una dosis sub umbral de Cloruro de Cadmio ( $10^{-3}$  M.) , lo mismo se observó en individuos tratados con radiación gama, en relación a los controles, pero si se encontró un incremento en la no disyunción primaria, lo cual vino a confirmar la hipótesis de que el cloruro de cadmio actúa sobre la división celular; en base a investigaciones anteriores donde se observó a altas concentraciones de sales de cadmio en el medio, que estas intervenían en la catividad metabólica de células y tejidos, en el semen y ovarios de animales y huevos de peces.

Los pesticidas pueden causar daño genético, lo cual ha llevado los países a desarrollar programas de estudio, para evaluar este tipo de daños, como forma de protección a la población.

Como parte del programa toxicológico de Checoslovaquia, Marsa Vargová y colaboradores, en 1980, probaron el efecto del potencial mutagénico del nuevo fungicida trimorfamida, en virtud del amplio uso que este tiene en la agricultura de ese país. La trimorfamida fue evaluada utilizando como sistemas de prueba a la Drosophila melanogaster, linfocitos humanos, y células de médula espinal de ratón.

En Drosophila no se encontró incremento en la frecuencia espontánea de letales recesivos ligados al sexo y no disyunción, utilizando los sistemas Muller-5 para la prueba de letales recesivos ligados al sexo, y el sistema  $sc^5 yw^a Ins sc^8 / ys^8 y^+$ , y el marcador  $ysc^{sl} In^{49} w sc^8$ , para la prueba de no disyunción.

Tampoco se observó efecto sobre linfocitos humanos y médula espinal de ratón.

Los herbicidas fabricados a base de triazinas, se ha observado que son mutagénicos para las plantas y para Drosophila.

Rengo y Nash, en 1977 probaron el potencial mutagénico de las Triazinas: atrazina, cianazina, y simazina, en Drosophila melanogaster, observando su efecto en la prueba de letales dominantes, letales recesivos ligados al sexo, pérdida cromosómica, y no disyunción.

Las líneas utilizadas fueron : Basc, para letales recesivos,  $y w^2 a 6 t f / B^s Y y^+$ , para no disyunción y pérdida cromosómica, y Oregon-R para la prueba de letales dominantes. Todos los herbicidas probados incrementaron aparentemente la tasa de letales dominantes, ya que la reducción de la madurez de los huevos fue probablemente debida a aspectos fisiológicos, tales como la reducción del esperma de los machos tratados, o toxicidad del esperma, ya que los ensayos no confirman que esos herbicidas sean mutágenos fuertes. La atrazina incrementó significativamente la frecuencia de letales recesivos li--

gados al sexo y la pérdida de cromosomas X o Y después del tratamiento de larvas con el producto por alimentación. La inyección de simazina, elevó la frecuencia de letales recesivos ligados al sexo, mientras que en las larvas alimentadas con el producto no la incrementaron. En general se pudo observar que ninguno de estos herbicidas incrementó significativamente la pérdida cromosómica, ni la -- no disyunción de cromosomas sexuales.

La cafeína es un producto que interviene en forma amplia en la industria alimenticia y farmacéutica.

Zettle y Rengo(1972), encontraron que la cafeína incrementa -- incrementa la pérdida cromosomal en todos los genotipos examinados. El efecto de esta substancia no fue claro en la no disyunción primaria.

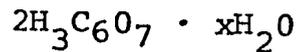
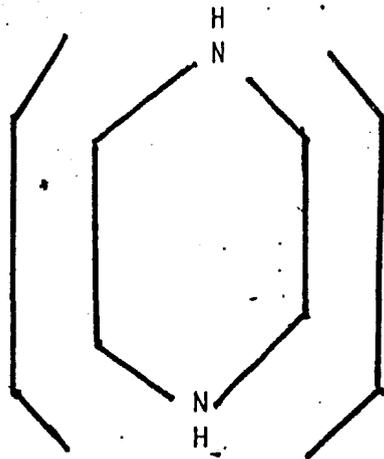
Dentro de los productos farmacéuticos que han adquirido importancia actualmente, se encuentran los productos conocidos como narcóticos antagonistas. Zimering, en 1979, encontró que el naltroxeno (producto que se utiliza en el tratamiento de personas adictas al opio), a una concentración de 10mg/ml, indujo un incremento de letales recesivos ligados al sexo en comparación con el control(0.43% - en contraste con 0.16% de letales en 9697 cromosomas examinados). - Esta substancia no incrementó la tasa de no disyunción en Drosophila melanogaster.

Un compuesto similar al anterior, la metadona, no incrementó la frecuencia de letales recesivos en el sistema Muller-5 de Drosophila melanogaster; así mismo el efecto sobre la no disyunción fue negativo.

Los fármacos en general pueden ser inductores de mutaciones y por lo tanto en el incremento de no disyunción; se encuentra que este tipo de compuestos se extiende a toda la población mundial, juega un papel importante en la resolución de problemas de salud.

Uno de los problemas de esta índole que afecta un gran número de personas en los países en vías de desarrollo (alrededor de 800 millones de personas, equivalentes a casi un tercio de la población mundial), es la helmintiásis, la cual es resultado del saneamiento inadecuado y de una medicina preventiva deficiente. Nuestro país no es la excepción y presenta este tipo de problemática. Entre las helmintiásis mas comunes se encuentra la ascariasis, la tricocefalosis, y la oxiurasis. (Rollo, 1966).

El Citrato de Piperacina se caracteriza porque es un polvo blanco cristalino de olor ligero que alcanza un pH cercano a 5 cuando esta en solución. Es soluble en agua, insoluble en alcohol y en otros solventes orgánicos, su peso molecular es de 642.7; su estructura química es la siguiente:



Esta substancia actúa paralizando al helminto. La piperacina bloquea el efecto estimulador de la acetilcolina.

Se ha observado que el potencial de membrana del músculo de Ascaris es inestable y este se caracteriza por descargas de impulsos espontáneos, los cuales son propagados a lo largo de la fibra muscular, causando contracción.

La acetilcolina despolariza la membrana, produciendo el incremento espontáneo de picos de actividad muscular, contrariamente la piperacina tiene el efecto opuesto, incrementa el potencial de membrana y la hace inestable y de esta manera inhibe la propagación efectiva del impulso.

La parálisis muscular de Ascaris está asociada con un decremento marcado en la formación de ácido succínico, el cual es un producto metabólico del helminto. La producción de succinato suple la energía para la contracción muscular del parásito y es probable que esta energía sea aportada por la mitocondria de la célula muscular-

del Ascaris por una relación del difosfopiridín nucleótido en conjunto con la fosforilación. (Buelding, 1979).

La presentación del producto es variada, pero en forma general podemos encontrarlo en suspensión y en pastillas de Adipato de piperacina; 120mg, de esta sal es equivalente a 100mg de Citrato de piperacina. La dosis cuando se sufre ascariasis, es de 3.5g cada 24hs. durante 48hs. Cuando se sufre oxiuriasis la dosis es de 2.5g durante 8 días. Cuando se sufre enterobiasis la dosis usual es de 65mg por Kg de peso corporal. Los efectos colaterales que se llegan a observar son: Náuseas, vómitos, incoordinación muscular y debilidad, dificultad en el enfocamiento y erithema. Todos estos efectos son transitorios. (Buelding, 1979., Karnaujov, 1978., Rachkobskaya, 1978, Rollo, 1966., Thompson, 1972.).

El Citrato de piperacina es una droga que se administra principalmente a la población infantil; motivo por el cual Coutiño, 1980, trató de evaluar el efecto mutagénico del producto encontrando que este no era mutagénico, pero si observó que se incrementaba la esterilidad en machos de Drosophila melanogaster, sistema Muller-5. En base a esto en el presente trabajo se investigó el efecto del Citrato de piperacina sobre la fertilidad de Drosophila melanogaster, analizando la disyunción de esta.

MATERIAL Y METODO:

El Citrato de Piperacina usado en esta investigación es de Química Latina S.A. con un grado de pureza del 98%. El producto se caracteriza por ser soluble en agua, insoluble en alcohol y en otros solventes polares, su peso molecular es de 642.7. En el presente-trabajo el solvente utilizado fue una solución de sacarosa al 5% en agua destilada.

Las líneas de Drosophila melanogaster utilizadas fueron: -  $X^{c2} yf/ B^S Y y^+$ ,  $yw/yw$ . Material biológico proveniente de las líneas puras del I.N.I.N., el cual fue proporcionado por el Laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M. y mantenido a las condiciones óptimas (25°C y alimentación, etc.), en el sitio mencionado anteriormente.

Esta investigación se llevó a cabo en tres etapas:

- 1) Valoración de la toxicidad del Citrato de Piperacina.
- 2) Determinación de la fertilidad en lotes tratados con diferentes - concentraciones de Citrato de Piperacina.
- 3) evaluación de la frecuencia de no disyunción de Drosophila melanogaster a concentraciones de Citrato de Piperacina seleccionadas en base a las pruebas anteriores.

En la primera parte se probaron las concentraciones:

0, 0.0001, 0.001, 0.1, 1.0, 1.5, 2.0, Molar de Citrato de Pi

peracina disuelto en solución de sacarosa al 5%.

La droga se administró por vía oral, con este propósito en el fondo de un frasco homeopático (de 9cm de altura por 3cm de diámetro), se colocaron cuatro discos de papel filtro, los cuales se saturaron con la solución correspondiente, usándose cinco frascos por concentración, conteniendo cada uno de ellos diez machos de la línea  $X^{c2} yf/B^s Y y^+$ ; el tiempo de tratamiento fue de 72 horas, cambiando se las moscas cada 24 horas a frascos con solución fresca.

El número de individuos muertos fue evaluado cada 24 horas durante tres días, calculándose el porcentaje total de sobrevivencia por concentración, de estos se obtuvo la concentración media letal (cL50), y la concentración máxima tolerada (cMT).

Para determinar el porcentaje de fertilidad, se utilizaron las concentraciones citadas anteriormente, y el tratamiento fue similar. Después los machos se cruzaron con hembras vírgenes de la línea  $X^{c2} yf/B^s Y y^+$  (tres hembras por cada macho tratado). Setenta y dos horas después de efectuada la cruce, se eliminaron los progenitores.

Quince días después de efectuada la cruce se contó la  $F_1$ , de cada frasco homeopático. Esto se hizo con el fin de observar las diferencias que existían entre la fertilidad de los machos progenitores después del tratamiento.

Para la determinación del porcentaje de no disyunción se seleccionaron cinco concentraciones: 0, 0.0001, 0.3, 0.6, 0.9, y 1.5 M.). La droga se administró de acuerdo con la fase experimental de toxicidad. Ya realizada esta operación 300 machos tratados de la línea  $X^{c2}y^f/B^S$  Y  $y^+$ , se cruzaron con hembras vírgenes  $yw/yw$  (tres por cada macho, 900 por concentración.).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, se consideraron los fenotipos obtenidos en la  $F_1$ , y se realizó el conteo de individuos normales (machos ojo en barra, y hembras con cuerpo amarillo, ojo blanco.), y de individuos excepcionales ( machos cuerpo amarillo ojo blanco). (ver esquema de la cruza).

Con los resultados obtenidos se hicieron líneas de regresión por el método de mínimos cuadrados, obteniéndose para cada caso el valor de correlación correspondiente. Las diferencias de no disyunción del lote testigo y los experimentales, fueron evaluados por la prueba de diferencia de proporciones (Spiegel, 1980). De donde se tiene que:

$$P = \frac{N_1(Pr_1) + N_2(Pr_2)}{N_1 + N_2}$$

$$q = 1 - P$$

$$S_{pq} = ((Pq) (1/N_1 + 1/N_2))^{1/2}$$

$$Z = \frac{Pr_1 - Pr_2}{S_{pq}}$$

• donde  $N_1$  = Tamaño de la muestra control.

$N_2$  = Tamaño de la muestra experimental.

$Pr_1$  = Probabilidad de no disyunción del control, expresada en porcentaje.

$Pr_2$  = Probabilidad de no disyunción experimental, expresada en porcentaje.

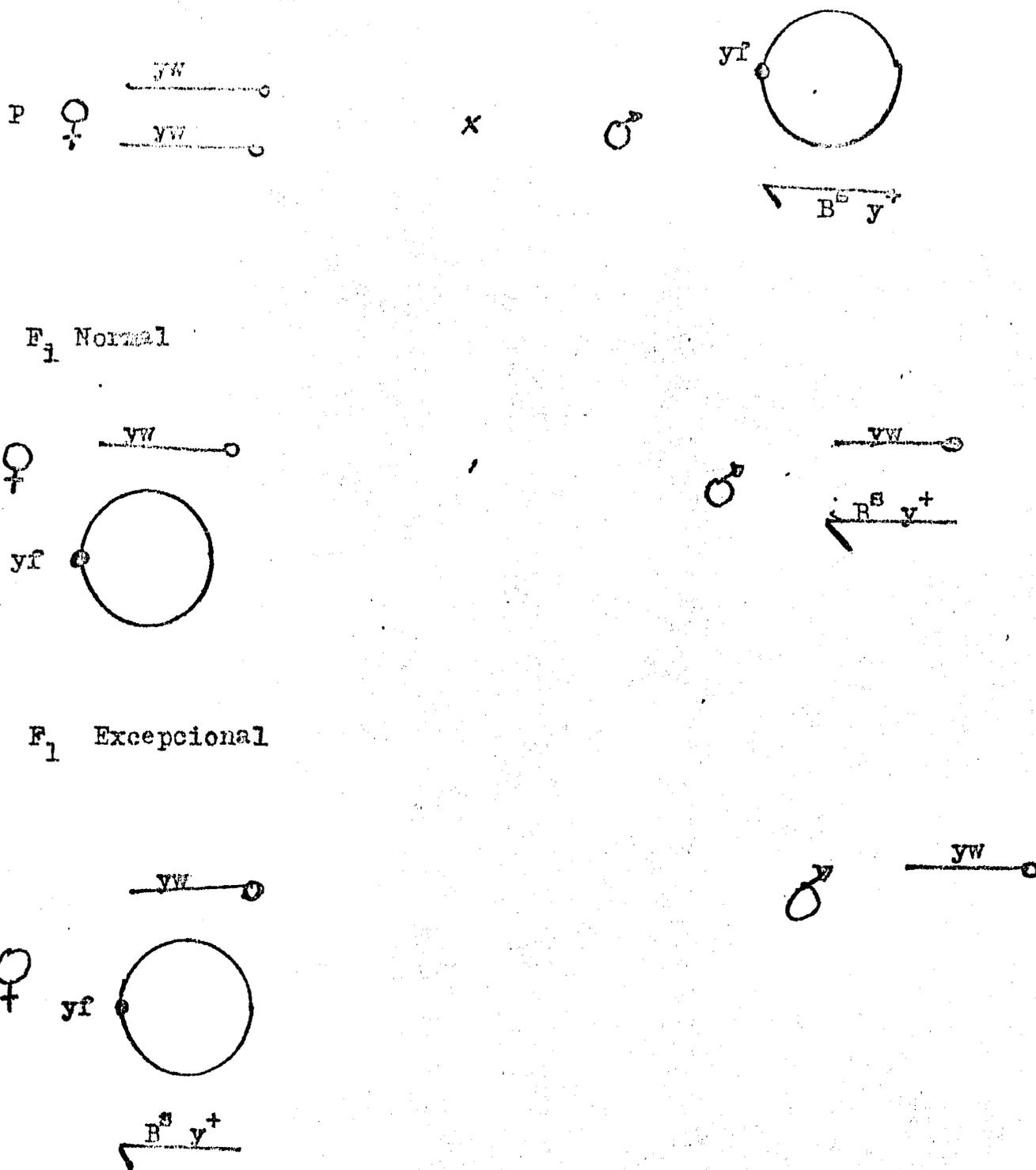


Figura A. Esquema de la cruza de hembras  $yw/yw$ , por machos tratados con Citrato de Piperacina  $X^{c2} yf/B^s Yy^+$ .

RESULTADOS:

TOXICIDAD:

En la tabla II se presentan los valores observados al realizar la prueba de toxicidad, en estos se ve que el incremento de la concentración de Citrato de Piperacina reduce la supervivencia - lo que se nota con mayor claridad al graficarse el porcentaje de su pervivencia con respecto al testigo (figura, 1), en la misma se marca la concentración media letal (1.5 molar), y la concentración máxima-tolerada (0.0001M.).

FERTILIDAD:

La fertilidad se ve disminuída al aumentar la concentración - del medicamento, lo que se manifiesta en la progenie de la cruce de los machos  $X^{c2} Yf/B^S Y y^+$  tratados, con hembras vírgenes del mismo - genotipo (tabla III, figura 2), así mismo puede observarse que el por centaje de esterilidad aumenta en relación al incremento de la con centración.

NO DISYUNCIÓN:

Al evaluar la progenie resultante de los machos  $X^{c2} Yf/B^S Y y^+$  - tratados, con hembras  $yw/yw$ , se observó un aumento proporcional de - la no disyunción con relación al, incremento de la concentración del Citrato de Piperacina (tabla IV), este comportamiento corresponde -

a una recta cuya ecuación es:  $y=0.1145 + 0.1675X$ , la cual tiene un valor de correlación de 0.96, y está representada en la figura 3. - En la tabla V se presentan la comparación de los valores teóricos y experimentales de la recta mencionada, en la misma se indica que no hay diferencia significativa entre ellos a una  $P(0.05)$  de error.

En la tabla IV también puede observarse que la esterilidad no causada por no disyunción, se incrementa conforme aumenta la concentración del Citrato de Piperacina. (figura 4).

De acuerdo a la prueba de diferencia de proporciones realizada se tiene que a las concentraciones de 0.0001-0.3M. de Citrato de Piperacina no produjo efecto estadísticamente detectable , pero a partir de la concentración 0.6 Molar se observó diferencia significativa. (tabla IV.).

Tabla II.- Prueba de toxicidad del Citrato de Piperacina en machos de Drosophila melanogaster X<sup>C2</sup>yf/ B<sup>Sy</sup>y<sup>+</sup> (50 individuos por concentración).

Concentración (M)	No. de Sobrevivientes.	Sobrevivencia (%)
0	49	98
0.0001	48	96
0.001	47	94
0.01	46	92
0.1	45	90
1.0	38	76
1.5	25	50
2.0	1	2.0

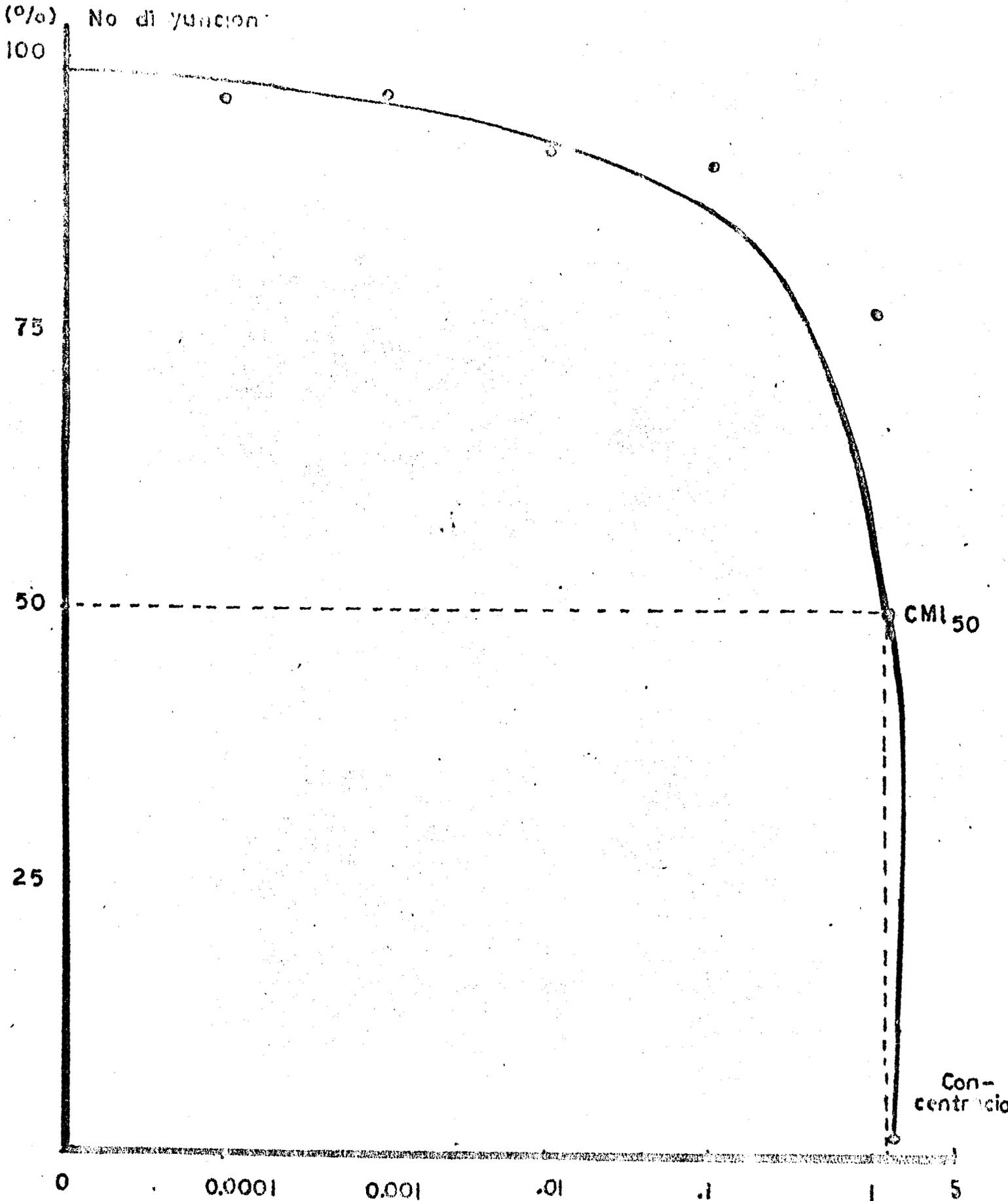


Fig. 1. Gráfico de % Sobrevivencia Vs. Concentracio de Citrato de Piperacina.

Tabla III. Prueba de fertilidad de los machos tratados con Citrato de Piperacina  $X^{C_2}$  y  $F/B^S Y^*$  por 72 hs. (50 por concentración), cruzados posteriormente con hembras vírgenes del mismo genotipo. (tres por cada macho.).

Concentración (M)	No. de machos estériles.	Esterilidad (%)	$F_1$ Total de - 50 por 150
0	1	2	3374 $\bar{X} = 68.7$
0.0001	2	4	3248 $\bar{X} = 67.8$
0.001	6	12	2906 $\bar{X} = 66.04$
0.01	7	14	2875 $\bar{X} = 65.34$
0.1	10	20	2652 $\bar{X} = 61.67$
1.0	10	20	2340 $\bar{X} = 58.52$
1.5	12	24	2208 $\bar{X} = 58.1$
2.0	29	58	1035 $\bar{X} = 49.3$

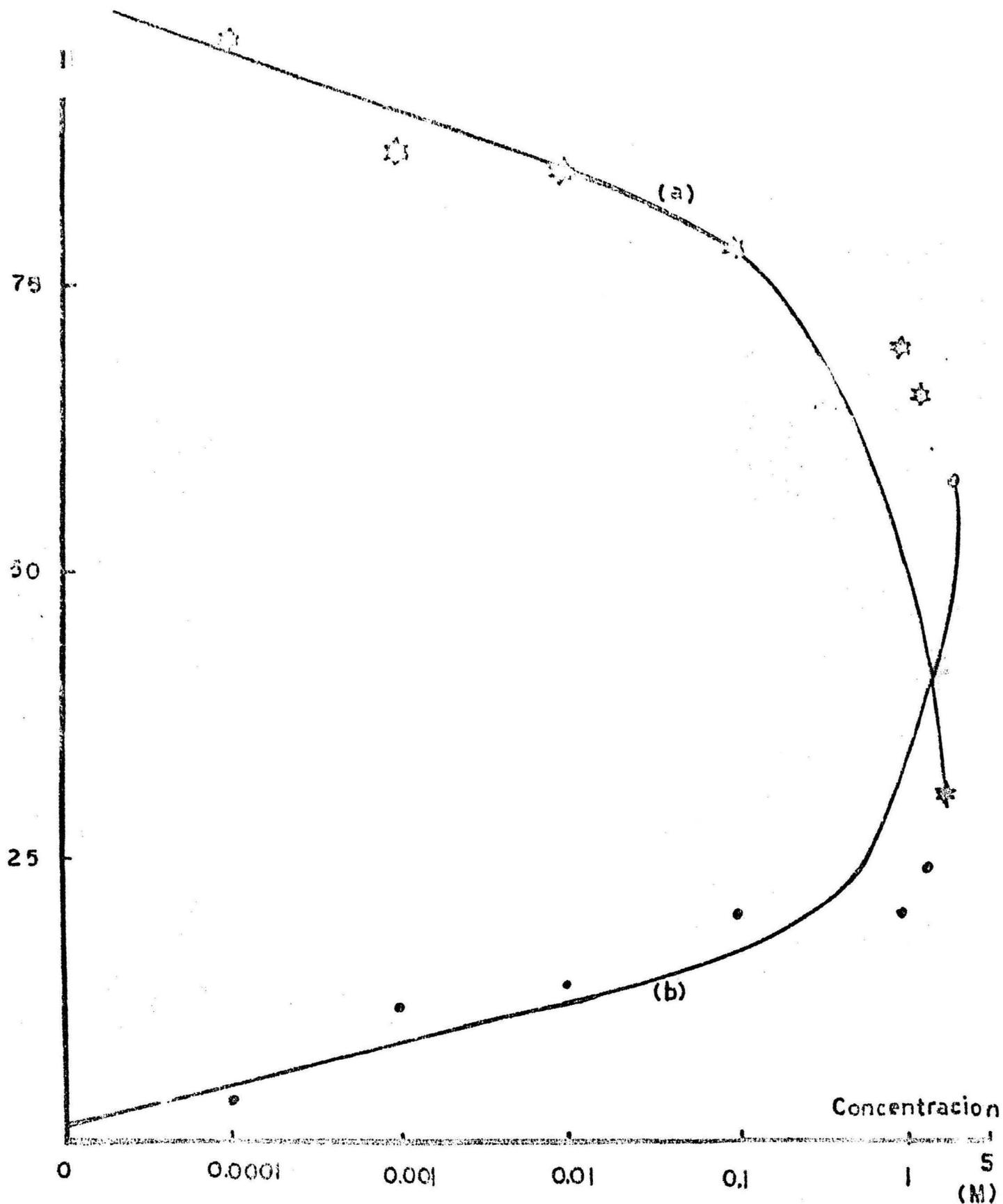


Fig. 2. Gráfica (a) F<sub>1</sub> total de la cruce X<sup>62</sup>Y<sup>1</sup>/S<sup>62</sup>Y<sup>2</sup> por σ<sup>7</sup>(mismo genotipo) tratados con Citrato de Piperacina expresado en % Vs. Concentración de la droga.  
 Gráfica (b) % Esterilidad V<sub>1</sub> con concentración del Citrato de Piperacina.

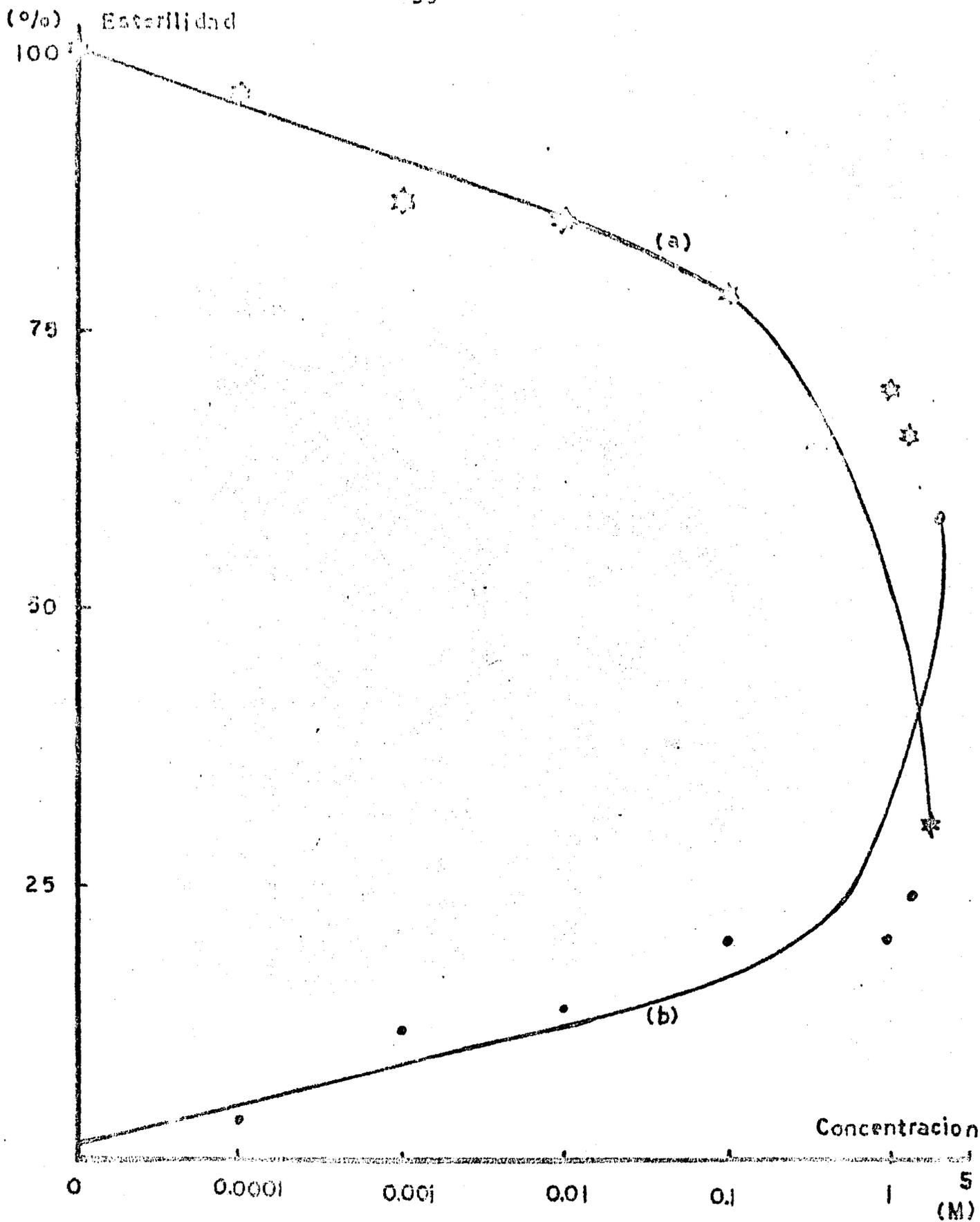


Fig. 2. Gráfica (a)  $F_1$  total de la cruz  $X^{43}y//S^5Yy^+$  por  $\sigma^7$  (mismo genotipo) tratados con Citrato de Piperacina expresado en % Vs. Concentracion de la droga.  
Gráfica (b) % Esterilidad Vs. Concentracion del Citrato de Piperacina.

Tabla IV. Frecuencias de no distugción observadas en la F<sub>1</sub> de la cruce de machos X<sup>c2</sup> yf/B Yy<sup>+</sup> tratados con Citrato de Pi peracina con hembras vírgenes yw/yw de Drosophila melano-gaster.

Concent. (M)	No. de - hembras - normales *	No. de - machos - normales **	Indivi- duos nor- males.	Indivi - duos ex- cepciona- les. ***	No dis- yunción. (%)	Esterili - dad. (%)
0	11174 $\bar{X}= 37.6$	9851 $\bar{X}= 33.05$	21025	23	0.11	0.7
0.0001	10865 $\bar{X}=36.7$	9700 $\bar{X}= 32.7$	20565	27	0.13	1.33
0.3	10616 $\bar{X}= 35.98$	9650 $\bar{X}=32.7$	20266	30	0.15	1.67
0.6 *°	10392 $\bar{X}= 35.5$	9390 $\bar{X}= 32.04$	19782	40	0.20	2.33
0.9 *°	9635 $\bar{X}= 33.57$	8848 $\bar{X}= 31.0$	18477	54	0.29	4.33
1.5 *°	8722 $\bar{X}= 32.3$	8176 $\bar{X}= 30.3$	16898	61	0.36	10 0

hembras de cuerpo amarillo, ojo blanco. \*\* Machos ojo en Barra.

\* Individuos de sexo masculino, cuerpo amarillo, ojo blanco. (para ver genotipos, ver esquema de la cruce, fig. A.).

\*° Diferencia significativa de no disyunción con respecto del control a un nivel de significancia del 95%.

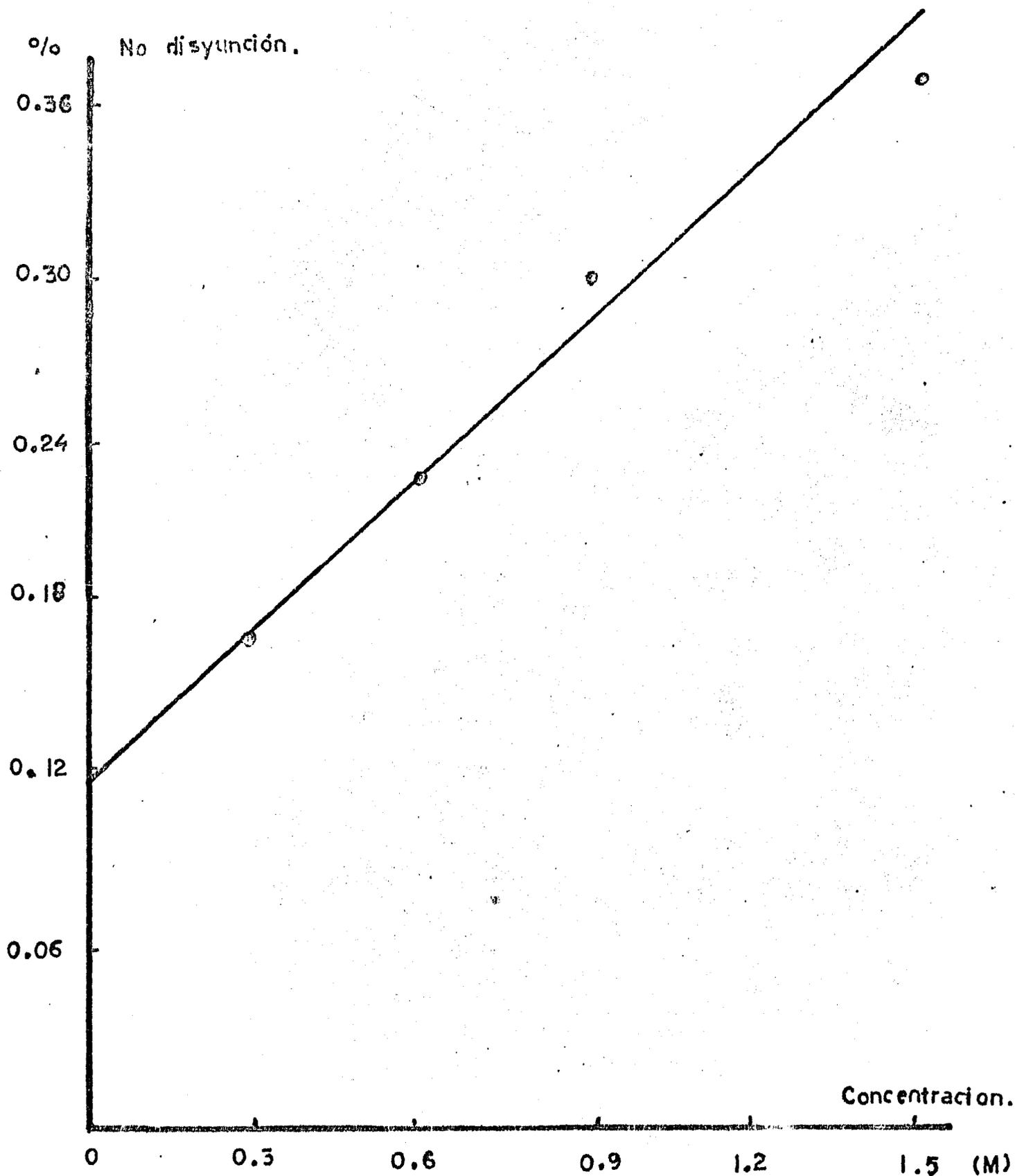


Fig.3 Efecto del Citrato de Piperacina sobre el % de no disyunción en D. melanogaster.

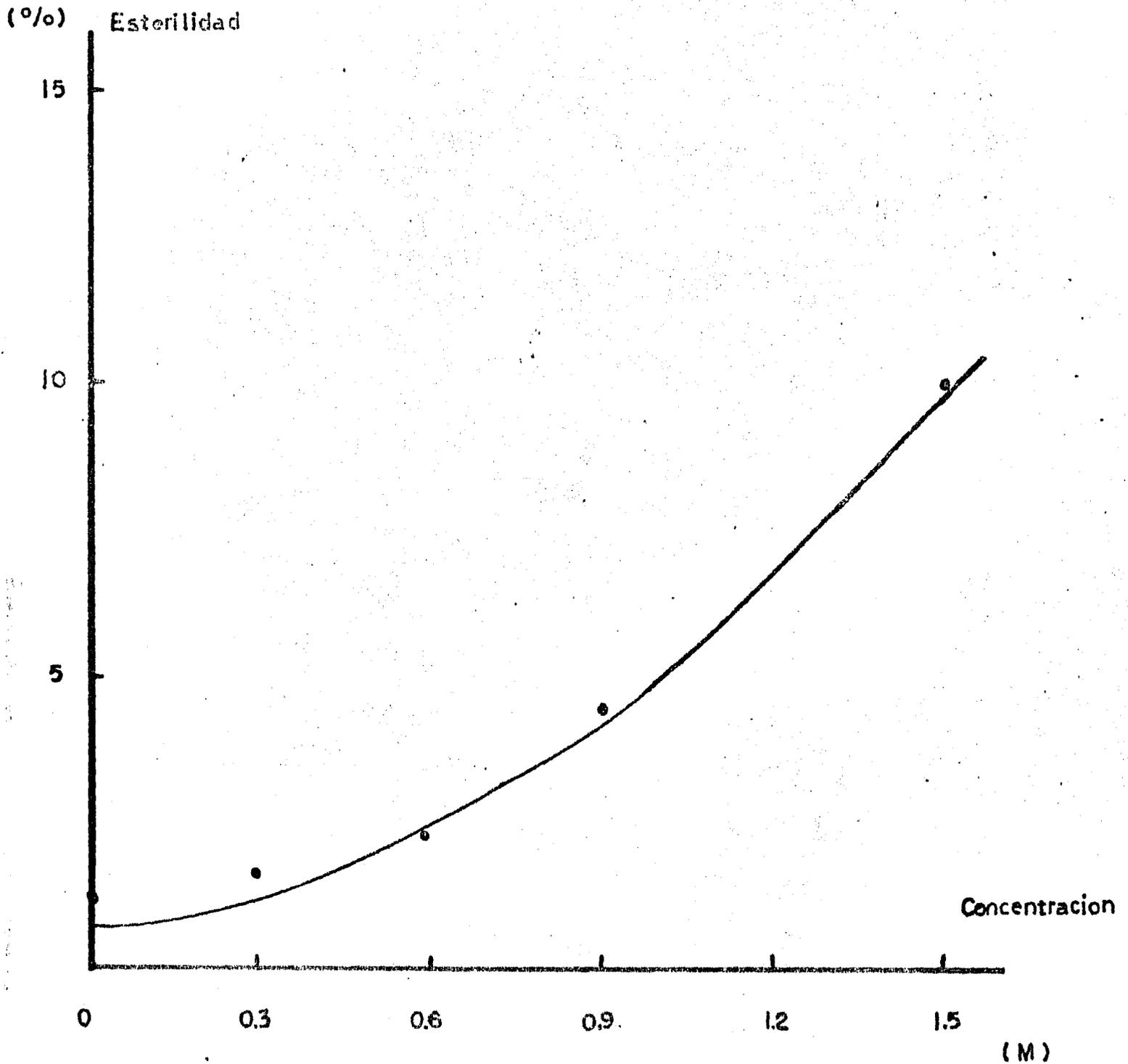


Fig. 4. Gráfica de % Esterilidad (tabla IV) Vs. Concentracion del Citrato de Piperacina.

DISCUSION:

En los resultados de la tabla III se observa que al incrementarse la concentración de Citrato de Piperacina se disminuye la fertilidad, y se aumenta la esterilidad (figura 2). La causa por lo menos en parte es la no disyunción del cromosoma Y en los machos tratados, los que nos produjeron una progenie en donde se tenían individuos normales y excepcionales (X0), estos últimos son estériles por lo tanto nuestros resultados de esterilidad, nos permite inferir que una parte de esta esterilidad inducida por el Citrato de Piperacina es ocasionada por la no disyunción, aunque no se descarta la posibilidad que esta droga sea capaz de producir otro tipo de anomalías que incrementen la esterilidad.

Una de estas anomalías es la aneuploidía, la cual fue analizada por Bridges en 1916 en Drosophila melanogaster, habiendo demostrado que las moscas que tienen dos juegos de autosomas y una constitución sexual a nivel cromosómico de XX y XXY son hembras, y aquellas que tienen un solo cromosoma X, sin su homólogo, X0 o XY eran machos.

Una causa importante de la esterilidad provocada por el Citrato de Piperacina, es la no disyunción de los cromosomas sexuales, sin embargo, no es la única si no que también afectan los arreglos

cromosómicos y defectos de un solo gen (Hess, 1971) , se ha observado que deficiencias en los cromosomas Y o X causan esterilidad en machos de Drosophila melanogaster. ( Romrell, 1975).

Para explicar los efectos del cromosoma X sobre la fertilidad sobre la fertilidad de los machos , se cree que la inactivación del cromosoma X durante un estadio crítico de la espermatogénesis es esencial para la diferenciación normal del espermatozoide, esta inactivación esta controlada por una región cromosómica específica. Por consiguiente, los fragmentos del cromosoma X separados de esa región traerán como consecuencia que la diferenciación de las espermátidas sea aberrante. (Romrell, 1975.).

Se ha observado que el Citrato de Piperacina no induce mutaciones , en Salmonella typhimurium, ni en Drosophila melanogaster (Zeiger, E., 1972 , Zeiger, y Sheldon, 1977., y Coutiño, 1980.). Aunque nuestros resultados muestran que la droga produce efecto genético (no disyunción en machos de D. melanogaster ), a altas concentraciones (tabla IV). Esto sugiere por una parte que el Citrato de Piperacina altera a bajas frecuencias (o no altera), la información del ADN, el daño sobre el genoma puede deberse principalmente a alteraciones basicamente a nivel de centromero, o de las fibras del huso por lo que no puede detectarse con Salmonella (ya que carece de centromero y de huso ), ni por la prueba de letales recesivos ligados al sexo en Drosophila.

Se ha reportado por otra parte que derivados nitrogenados de la Piperacina incrementan su poder mutagénico. Sin embargo para que se manifieste este efecto es necesaria la activación metabólica, por lo que al probarse el poder mutagénico de la dinitrosopiperacina en Escheriquia choli no se detectan daños a nivel genético. (Kemeswar, et al, 1978). Drosophila ofrece mayores ventajas sobre los sistemas bacterianos, ya que presenta un sistema enzimático que produce un efecto similar a la fracción microsómica de las células del hígado de los mamíferos.

Con las pruebas realizadas de toxicidad y fertilidad del Citrato de Piperacina, se observó que la droga no es tan tóxica para Drosophila, lo cual se traduce por la resistencia del insecto a altas concentraciones (1-1.5 M, a diferencia de la dosis en humano que es de 0.0156M.).

En la figura 2 se puede apreciar que solo a concentraciones altas (1.5 y 2M), de la sustancia se dispara el efecto de esta droga, esto puede atribuirse por un lado a la capacidad de la mosca para metabolizar la sustancia y de esta manera atenuar el efecto de la droga a concentraciones mas bajas (0.0001-1 M), y además podemos agregar que los sistemas de reparación del insecto juegan un papel determinante para disminuir el daño genético, lo cual pudo traer como consecuencia que no se observara incremento en el por-

centaje de no disyunción espontánea a concentraciones bajas (0.0001-0.3M), pero a las concentraciones altas posiblemente ya no se alcanzan a metabolizar o se han saturado los mecanismos de reparación.-

El efecto del Citrato de Piperacina sobre la no disyunción es proporcional con el incremento de la concentración, lo que se demostró por una regresión lineal y una bondad de ajuste con la prueba de  $\chi^2$  a una probabilidad de error de 0.05, para una recta teórica comparada con la experimental, observándose que no había diferencia significativa, con lo cual podemos decir que nuestros resultados de no disyunción contra concentración de la droga siguen el comportamiento lineal.

El porcentaje de no disyunción del control y de los experimentales, se analizó por la prueba de diferencia de proporciones, encontrándose únicamente diferencia significativa en las concentraciones: 0.6, 0.9, y 1.5 M. de Citrato de Piperacina con respecto del control (tabla IV), el efecto no significativo encontrado en las bajas concentraciones puede ser atribuido, por la alta tasa de no disyunción del testigo (0.1%), que es aproximadamente tres veces mayor al promedio de no disyunción espontánea reportada por Zimering (1976). El incremento de la no disyunción espontánea encontrada en este trabajo puede ser causado por la presencia del cromosoma X en anillo de cepa  $X^{c2} yf/B^s Yy^+$  empleada.

Brosseau y Lindsley, 1958, y Brosseau y colaboradores, 1961, (ci-

tados por Zimering, 1976), utilizaron en sus experimentos de no - disyunción el marcador  $B^sYy^+$ , pero sin considerar el marcador del cromosoma X.

El efecto de la presencia de un cromosoma X en anillo, cuando sufre un rompimiento, puede ser seguido por la fusión de las cromátidas, que sufren una torción primero a  $180^\circ$ , y posteriormente hasta  $360^\circ$ , lo cual forma un puente dicéntrico o dos anillos entrelazados (ver Figura B.), esto puede conducir a una pérdida cromosómica o actuar como letal dominante. (leigh, 1976). De ahí que en nuestro experimento el porcentaje espontáneo de no disyunción puede verse incrementado.

Las concentraciones que nos dan un efecto significativo respecto del testigo, son muy altas en relación con lo observado por Coutiño, 1980, lo que trae como consecuencia un mayor porcentaje de esterilidad en la prueba de letales recesivos ligados al sexo realizada por este autor.

La no disyunción se ve incrementada significativamente solo a concentraciones altas, por lo tanto se puede inferir que el efecto de esta droga en las poblaciones humanas puede causar poco daño en relación con la no disyunción, ya que la dosis empleada en los medicamentos no rebasa el 10% (0.0156M.). Sin embargo es necesario hacer notar que las poblaciones humanas están frecuentemente en contacto -

con diversos agentes (preservadores, solventes, otro tipo de medicamentos, etc.), que pueden aumentar o reducir el efecto del Citrato de Piperacina.

1ª Escisión

Anafase

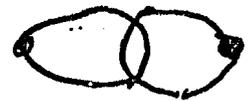
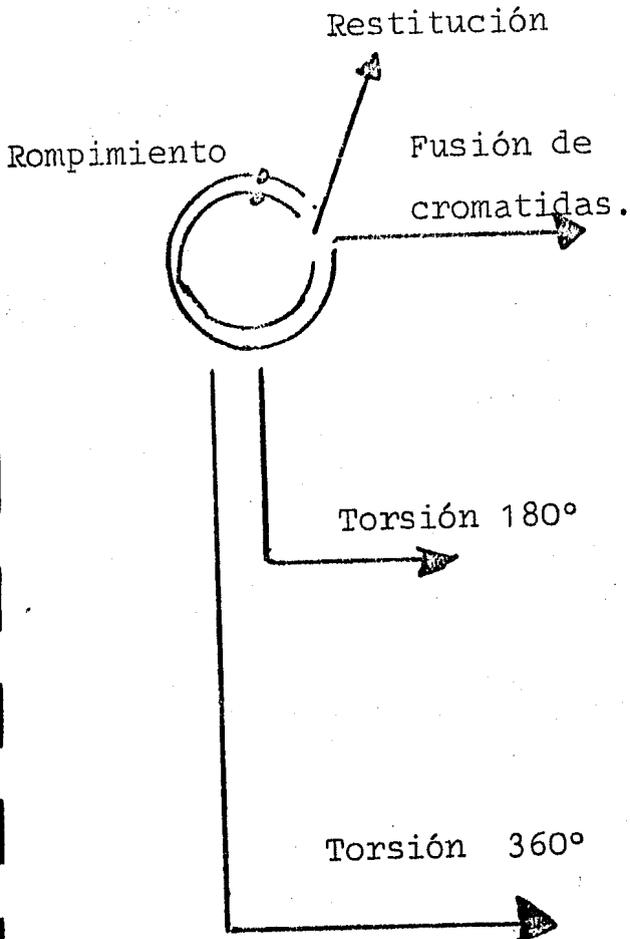


Figura B. Esquema del rompimiento de cromosomas en anillo y su comportamiento. (tomado de Leigh, 1976).

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Abrahamson, S. (1971) The detection of mutations in Drosophila melanogaster. In: Hollander, A. (Ed). Chemical mutagens. Principles and methods for their detections. - Vol. II. Plenum Press. N.Y. 461-483.
- 2.- Baker, S.B., J.C. Hall (1976) Meiotic mutants: Genetic control of meiotic recombination and chromosomes segregation. In: Ashburner, M. and E. Novitski (ED). The genetics and Biology of Drosophila. Vol. 1a. Academic Press. London. 352-349.
- 3.- Bondarenko, V.L., T. Voloshenko, P. Shvartzman . (1978) Analysis of mutation frecuencies after prolonged and fractioned effects of ethylenimine and ethylmethanesulfonate on male germ cells of Drosophila melanogaster .- Genetika. 14(2): 313-320.
- 4.- Boyd, B.J. (1976) Isolation and characterization of X-linked mutants of Drosophila melanogaster which are sensitive to mutagens. Genetics. 84: 485-486.
- 5.- Buehling, E. (1979) Chemoterapy of infections by nematodes and cestodes. In: Dipalma, R.J. (Ed). Drill's Pharmacology in Medicine. 4th. Ed. Mc. Graw Hill Book. Co. N.Y. 1822-1828.
- 6.- Coutiño, B. (1980). Detrminación del potencial mutagénico de -

la droga anti-helmíntica Citrato de Piperacina. Tesis Facultad de Ciencias U.N.A.M.

- 7.- Chadov, F.B. and B.E. Chadova (1977) Non homologous pairing and spontaneous interchanges between non-homologous chromosomes in Drosophila melanogaster. Genetika. 13(3): 477-489.
- 8.- Dubinin, P.N. (1981) Genética general. Vol. II. Mir. Moscú. 171-220.
- 9.- Gardner, J.E. (1980) Principios de Genética. 5a. Ed. Limusa. México. 715pp.
- 10.- Grell, F.R. and E.E. Generoso. (1980) Time of recombination in the Drosophila melanogaster, oocyte. Chromosoma (Berl). 81: 339-348.
- 11.- Goodenough, U. (1978) Genetics. 2nd. Edition. Saunders College Philadelphia. U.S.A. 840pp.
- 12.- Ikebuchi, M. and Y. Nakao. (1979) Storage effects on translocations and dominant lethals induced by ethylmethanesulfonate (EMS) in Drosophila melanogaster. Japan. J. Genetics. 54(2): 133-137.
- 13.- Karnaujov, K.B. (1978) Modern antihelmintics and cure methods of helminthiases. Med. Parazitologiya. 4(6): 90-98.
- 14.- Kemeswar, R., J. Young, W., Lijinsky. and J. Epler. (1978) Mutagenicity of nitrosopiperazine derivatives in Salmonella typhimurium. Mutat. Res. 57: 127-134.

- 15.-King,C.R. and J.Nohler.(1975) The genetic analysis of oogene -  
sis in Drosophila melanogaster. In: King,R.(Ed). -  
Handbook of Genetics.VOL. 3.Plenum Press.N.Y. 757-764.
- 16.- Kogan,I.G.,T.Ma. Grozdova, and T.A. Kholikova.(1978) Investi-  
gation of the mutagenic effect of CdCl<sub>2</sub> on Drosophi-  
la melanogaster germ cells. Genetika. 14(12):2136-2148.
- 17.-Leigh,B.(1976) Ring chromosomes and radiation induced chromoso  
mes loss. In: Ashburner, M. and E. Novitski(Ed). The  
genetics and Biology of Drosophila. Vol.1b.- Acade-  
mic Press. London. 505-523.
- 18.-Leigh, B.(1979) Induced nondisjunction in Drosophila oocytes. -  
Mutat. Res. 61: 65-68.
- 19.- Lewin,B.(1980) Gene expression. 2nd. Ed. Vol.II. Wiley and Sons.  
N.Y. 1160pp.
- 20.-Lucchesi,C.J.(1976) Inter-chromosomal effects. In: Ashburner,-  
M. and E. Novitski.(Ed) The genetics and Biology of  
Drosophila. Vol.1a. Academic Press.London.
- 21.- Madern,H.R. and B.Leigh.(1976) The timing of restitution of -  
chromosome breaks induced by X-rays, in the mature -  
sperm of Drosophila. Mutat. Res. 41: 255-268.
- 22.-Marco,A.,M.Belloni,R. Cozzi, D. Febbo and R. Ricordy.(1979) -  
Aberrations induced in chromosomes induced of soma-  
tic cells of Drosophila melanogaster, irradiated in  
c-metaphase. Genetics. 92:175-187.

- 23.- Mendelson, D. (1976) The improved bithorax method for the detection of rearrangements in Drosophila melanogaster. - Mutat. Res. 41:269-276.
- Mollet, P. and E.F. Wurgler, (1974) Detection of somatic recombination and mutation in Drosophila. A method testing genetic activity of chemical compounds. Mutat. Res. - 25: 421-424.
- 25.- Moore, M.Ch. and F.R. Grell. (1972) Factors affecting recognition and disjunction of chromosomes at distributive pairing in female Drosophila melanogaster. Total length Vs. arm length. Genetics. 12: 567-582.
- 26.- Neubert, D. (1974) The toxicological evaluation of mutagenic events. Mutat. Res. 25: 145-157.
- 27.- Novitski, E. (1978) The relation of exchange to nondisjunction in heterologous chromosome pairs in the Drosophila - female. Genetics. 28:499-503.
- 28.- Novitski, E. and J. Puro. (1978) A critique of theories of meiosis in the female of Drosophila melanogaster. Hereditas. 89: 51-67.
- 29.- Oster, I. (1964) Mutagenic effects of chronically and intensely delivered radiation in Drosophila. Japan. J. Genetics. - 40: 83-96.
- 30.- Parker, D.R. (1969) Heterologous interchange at meiosis in Drosophila. II. Some disjunctional consequences of interchange. Mutat. Res. 7: 393-407.

- 31.- Paztor, M.L. (1976) Aneuploidy in Drosophila melanogaster. In:-  
Ashburner, M. and E. Novitski. (Ed). The genetics and  
Biology of Drosophila. Vol. 1a. Academic Press. Lon-  
don. 185-205.
- 32.- Pelisson, A. (1978) Non Mendelian, female sterility in Drosophila  
melanogaster variations of chromosomal contamination  
caused by chromosomes of various inducer-deficiencies.  
Genet. Res. Comb. 32: 113-132.
- 33.- Petrova, G.L. (1976) Effect of ethylmethanosulfonate (EMS) on lo-  
sses of X-chromosome induced by X-rays in germ ---  
cells of Drosophila melanogaster females. Genetika.  
12(6): 83-87.
- 34.- Picard, G., J. Bregliano, A. Bucheton, J. Lavige, A. Pelisson. (1978)  
Non-Mendelian female sterility and hybrid dysgenesis  
in Drosophila melanogaster. Genet. Res. Camb. 32: -  
275-287.
- 35.- Pimpinelli, S.D., Pignone, G. Santini, M. Gatti, G. Olivieri. (1977).  
Mutagen specificity in the induction of chromosomal-  
aberrations in somatic cells of Drosophila melano -  
gaster. Genetics. 85: 249-257.
- 36.- Portin, P. (1978) Studies on gynandomorphs induced with the --  
claret-nondisjunctional mutation of Drosophila mela-  
nogaster. An approach to the timing of chromosome loss

- in cleavagemitoses. *Heredity*. 41(2): 193-203.
- 37.- Portin, P. (1975) Nonhomologous chromosome pairing in female *Drosophila*. Before or after exchange. *Hereditas*. 80: 59-68.
- 38.- Rachkobskaya, B.I. (1978) Micromorphological study musculocutaneous sac of *Ascaridia galli* by means of antihelminth compounds. *Parazitologiya*. 12(5):434-438.
- 39.- Rengo, M.M. and L. Nash. (1977) Mutagenicity of the triazine herbicides: atrazine, cyanazine, and simazine, in *Drosophila melanogaster*. *J. Tox. Envir. Health*. 3: 691-697.
- 40.- Roberts, A.P. (1976) The genetics of chromosomal aberration. - In: Ashburner, M. and E. Novitski. (Ed). *The genetics and Biology of Drosophila*. Vol. 1a. Academic Press. - London. 66-184.
- 41.- Robins, G.L. (1980) The meiotic effects of a deficiency in *Drosophila melanogaster*: Identification of two dosage sensitive sites. *Genetics*. 94: 361-380.
- 42.- Rollo, M.I. (1966) Chemotherapy of parasitic disease. Drugs -- used in the chemotherapy of helminthiasis. In: Goodman, S.L. and Gilman, A. (Ed). *The Pharmacological basis of therapeutics*. 3rd. Ed. Mc. Millan Co. N.Y. 1058-1071.
- 43.- Romrell, J.L. (1975) Mutations influencing male fertility in *Drosophila melanogaster*. In: King, R. (Ed) *Handbook of ge-*

netics. Vol.3. Plenum Press. N.Y. 735-755. -

- 44.- Savantaus, M. (1975) Relationship between effects of X-rays on nondisjunction and crossing over in Drosophila melanogaster. Hereditas. 80: 195-204.
- 45.- Savantaus, M. (1981) Cytology of aberrations induced by X-rays in oocytes of Drosophila melanogaster. II. Early meiotic stages. Hereditas. 94: 153-159.
- 46.- Serres, J.E. (1975) The utility of short-term test for mutagenicity in the toxicological evaluation of environmental agents. Mutat. Res. 33: 11-15.
- 47.- Shvartzman, Ya.R. (1978) Comparative frequencies of complete- and mosaic mutations induced in mature spermatozoa of Drosophila by ethylmethanosulfonate and the additional exposure to high temperature. Genetika. 14(3): 478-486.
- 48.- Sobels, F.H. (1979) Studies of nondisjunction of the major autosomes in Drosophila melanogaster. II. Effects of dose-fractionation, low radiation doses, EMS and aging. Mutat. Res. 59: 179-188.
- 49.- Sobels, F.H. and E. Vogel. (1976) The capacity of Drosophila for detecting relevant genetic damage. Mutat. Res. 41: 95-106.

- 50.-Sorsa, M.(1980) Evaluation of the mutagenicity of epoxytrichithecene mycotoxins in Drosophila melanogaster. Mutat. Res. 41: 95-106.
- 51.-Spiegel, M.(1980) Estadística. Mc. Graw Hill. México.357pp. -
- 52.-Swanson,C.(1964) Cytology and cytogenetics. Cliffs, Prentice - Hall. Englewood. N.Y. 596pp.
- 53.-Thomson,H.J.(1972) Drugs used in the treatment of helminthiasis. In: Becherman, J.(Ed). Essentials of Pharmacology. Harper and Row Pub. N.Y.553-564.
- 54.- Tokunaga,C.(1970) The effects of low temperature and aging - on nondisjunction in Drosophila. Genetics. 65: 75-94.
- 55.- Traut,H. (1980) X-chromosomal Nondisjunction induced by aging oocytes of Drosophila melanogaster: The special susceptibility of mature eggs. Can. J.Genet. Cytol. - 22: 433-437.
- 56.-Varentzova, R.E. and Zajarov,A.(1976) Studies on Drosophila radiosensitive strains, their frequencies of spontaneous dominant lethals and of X-chromosome nondisjunction. Genetika. 12(5): 108-112.
- 57.- Vargová,M.(1980) Evaluation of the mutagenic effect of the new fungicide trimorphamide. Mutat. Res. 29: 241-250.
- 58.-Vogel,E.(1975) Some aspects of the detection of potential mutagenic agents in Drosophila. Mutat. Res. 29: 241-250.

- 59.- Vogel, E. and B. Leigh. (1975) Concentration effect studies with MMS, TEB, 2-4-6-tri-Cl.-PDMT, and Den., on the induction of dominant lethals chromosome loss and translocations in Drosophila sperm. Mutat. Res. 29: 383-396.
- 60.- Zeiger, E. (1972) Mutagenicity of n-nitrosopiperazine for Salmonella typhimurium in the host-mediated assay. Cancer Research. 32: 1598-1599.
- 61.- Zeiger, E. and T.A. Sheldon. (1977) The mutagenicity of heterocyclic n-nitrosamines for Salmonella typhimurium. Mutat. Res. 23: 223-231.
- 62.- Zeettle, E.T. and M. Rengo. (1973) Effects of caffeine on chromosomal loss and nondisjunction in Drosophila melanogaster. Genetica. 44: 146-153.
- 63.- Zeuthen, J. (1979) Chromosomal unit fibers in Drosophila. Chromosoma (Berl.). 73: 317-326.
- 64.- Zimering, S. Utility of Drosophila for detection of potential environmental chemical mutagens. Ann. N.Y. Ac. of Sci. 26-33.
- 65.- Zimering, S. (1976) Genetics and cytogenetics aspects of altered segregation phenomena in Drosophila. In: Ashburner, M? and E. Novitski. (ED). The genetics and Biology of Drosophila. Vol. 1b. Academic Press. London. 569-606.

- 66.- Zimering, S. (1979) Evidence for mutagenic effects of the narcotic antagonist naltroxene in germ cells of Drosophila  
1a. Mutat. Res. 66: 129-131.
- 67.- Zimering, S. (1979) Evidence for the absence of methadone in -  
germ cells of Drosophila melanogaster. Mutat. Res.-  
66: 133-134.