



201  
17

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS INDUCIDOS  
POR DICROMATO DE POTASIO Y CROMATO DE CALCIO  
EN Vicia faba.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

PRESENTA:

**CELIA BARRENA GONZALEZ**

MEXICO, D. F.

1986



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.

## I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	9
RESULTADOS	11
DISCUSION Y CONCLUSIONES	12
BIBLIOGRAFIA	20
TABLAS Y FIGURAS	35

## RESUMEN

Actualmente el desarrollo industrial ha provocado que grandes cantidades de desechos sean depositados en el ambiente sin control alguno, tal es el caso de los metales pesados como el cromo, cuyos compuestos hexavalentes se ha encontrado que son mutagénicos y carcinogénicos. Debido a esto se realizó el presente estudio para evaluar la inducción de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba.

Los resultados demuestran que el dicromato de potasio elevó significativamente la frecuencia de ICH en todas las concentraciones ( 0.0050, 0.010 y 0.025 % ) presentándose una relación concentración-respuesta.

En el caso del cromato de calcio, en 0.005 % no se registró aumento significativo de la frecuencia de ICH con respecto al testigo, a mayores concentraciones ( 0.0075, 0.010 y 0.025 % ) no fue posible observar los ICH debido al deterioro del tejido.

Con base en los datos obtenidos con dicromato de potasio, se demostró que los ICH, constituyen un criterio adecuado para evaluar el efecto citogenético de concentraciones bajas de agentes químicos en vegetales.

## INTRODUCCION

Actualmente la contaminación del ambiente por compuestos metálicos se ha expandido, debido al desarrollo de la industria moderna. El uso del cromo y de sus compuestos hexavalentes, como los cromatos y dicromatos se ha incrementado considerablemente durante las últimas décadas, ya que se utilizan en numerosas industrias ( Sullivan, 1969 ), este avance tecnológico provoca que grandes poblaciones es tén expuestas ocupacional o incidentalmente por vivir cerca de las fábricas o de las refinerías con efluentes de desague que contienen cromo, contaminando así el agua, el suelo y el aire ( Hueper, 1955 ).

El cromo se encuentra naturalmente en el suelo como óxido de cromo, en concentraciones que van desde trazas hasta 250 mg/Kg ( Robinson, 1914 ). El mineral cromita es la fuente más importante de este metal, su producción mun dial anual asciende a 8 millones de toneladas métricas, la mayoría procedente del sur de Africa y de la URSS. Los principales usos de este mineral están relacionados con la industria metalúrgica, en la fabricación de refractarios y en la producción de sustancias. Las sales altamen te coloreadas son usadas como pigmentos y como mordiente en la industria textil, en curtiduría, en fotografía, en cerámica y en la catálisis de reacciones orgánicas, es usado también como explosivo y en medicina el radiocromo por vía intravenosa ayuda a evaluar la vida de las redes celulares ( Leonard y Sauwerys, 1980 ).

A las altas concentraciones del cromo en los suelos derivados de basalto y serpentina se ha adjudicado su in-

fertilidad ( Soane y Saunder, 1959 ). Este metal comunmente se presenta en el suelo en forma trivalente que se caracteriza por su falta de movilidad, a diferencia de la hexavalente ( Rosas, 1984 ). Se han encontrado concentraciones muy elevadas de este metal en suelos agrícolas por el uso de fertilizantes o en suelos industriales debido a los desechos sólidos vertidos en ellos ( Swaine, 1962 ).

El cromo disuelto es uno de los micronutrientes que con más frecuencia es detectado en aguas superficiales y subterráneas, debido a que los suelos y las rocas que forman el embalse lo contienen. Según se ha observado en los diversos mares, la concentración de este metal va de 0.04 a 0.40  $\mu\text{g}/\text{l}$  ( Ishibashi y Skigematsu, 1950; Fukai, 1967 ). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud ( WHO, 1963 ) y la SARH ( 1976 ), la cantidad permisible de cromo hexavalente en agua potable es de 0.05 ppm. Es común que tanto los drenajes urbanos como los industriales descargen sus aguas en los ríos o directamente en las bahías, llevando consigo grandes cantidades y concentraciones de contaminantes entre ellos el cromo ( Villalobos-Pietrini, 1977 ).

La concentración promedio de cromo contenido en el aire del área rural es de 1  $\text{ng}/\text{m}^3$  ( Rosas, 1984 ) y en el área urbana de EUA, está entre 0.002 y 0.02  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ( Mertz, 1969; Sullivan, 1969 ). Los niveles de exposición de cromatos y ácido crómico suspendidos en el aire, recomendados por la Asociación de Higiene Industrial Americana para jornadas de trabajo de 8 horas son de 100  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ( US Public Service, 1953 ). La contaminación del aire se origina por las emisiones de compuestos de cromo, en las zonas cercanas a las fábricas que lo utilizan o por el empleo de fun-

gicidas, inhibidores de la corrosión, gasolina, asbestos y cementos ( Rosas, 1984 ).

El cromo también se puede encontrar en los alimentos, la ingestión diaria en la dieta de los adultos es de aproximadamente 30-200  $\mu\text{g}$ , de la cual 6-10  $\mu\text{g}$ , se atribuyen al agua ingerida. Las variaciones dependen de la fuente de proteínas, ya que la carne, el hígado y los huevos contienen concentraciones del metal relativamente altas. Las fracciones que han sido absorbidas se pueden excretar principalmente por la orina ( Leonard y Sauwerys, 1980 ).

Se ha encontrado que el cromo es un elemento esencial para el metabolismo de los mamíferos ( Mertz, 1967; Schroeder, 1968 ). Su deficiencia produce un síndrome similar a la " Diabetes Mellitus " ( Mertz y Schwarz, 1955 ). El factor de tolerancia a la glucosa ( FTG ), no ha sido totalmente identificado, pero se considera que el cromo trivalente (III) y el ácido nicotínico tienen un papel central en el complejo ( Mertz, 1977 ). Schroeder ( 1968 ) describe la presencia de cromo en todos los tejidos humanos desde las etapas fetales. Mikosha ( 1959 ) y Pribluda ( 1963 ) observan que la mayor concentración de este metal en el hombre ocurre durante el desarrollo fetal, ya que según se demuestra pasa a través de la placenta ( Mertz, 1969 ). Algunas excreciones de cromo se realizan mediante la bilis, la leche, el sudor, las uñas y el pelo ( Schroeder y Nason, 1969 ).

Con relación a su toxicidad, los compuestos de cromo ( VI ) son sumamente irritantes y corrosivos, el efecto dañino puede ser debido a su capacidad oxidante o a sus propiedades como metal pesado ( Baejter, 1956 ). Diversos auto

res señalan que la forma hexavalente es más tóxica que la trivalente para la mayoría de los sistemas biológicos ( Machle y Gregorius, 1948; Mertz, 1969; Taylor et al., 1975 ), esto se debe a que el cromo ( VI ), atraviesa las membranas celulares y se reduce dentro de la célula a la forma ( III ) que reacciona con los ácidos nucleicos y con las nucleoproteínas ( Herrmann y Speck, 1954; Levis et al., 1977 ).

Mediante estudios epidemiológicos se han detectado alteraciones fisiológicas producidas por el cromo, las cuales indican que la exposición laboral esta relacionada con tipos específicos de carcinogénesis, como en el caso del cáncer pulmonar en trabajadores de fábricas que producen cromatos ( Enterline, 1974; Sunderman, 1976 ). Los trastornos del aparato gastrointestinal son menos frecuentes que los del tracto respiratorio, cuando el metal alcanza el estómago puede alojarse en las paredes produciendo úlceras ( Sassi, 1956 ) y al estar en contacto con la piel, los cromatos, provocan reacciones de hipersensibilidad, ulceración, dermatitis y eczema ( Winston y Walsh, 1951; Walsh, 1953; Baetjer 1956; Sullivan, 1969; Bernhardt y Legnani, 1973 ).

Por otra parte, se han descrito efectos carcinogénicos tanto del dicromato de potasio ( Steffee y Baetjer, 1965 ), como del cromato de calcio ( Payne, 1960; Hueper, 1961; Roe y Carter, 1969; Laskin et al., 1970; Nettesheim et al., 1971 ). Según Schoental ( 1975 ), la carcinogénesis producida por cromatos es debida a derivados epoxialdehídicos en los tejidos lipídicos hidrolizados por la liberación de las lipasas, cuando los lisosomas han sido dañados por compuestos del cromo ( VI ).



En estudios realizados por Mc Cann y colaboradores ( 1975 ), se informa que el 85 % de los carcinógenos químicos probados, además tienen propiedades mutagénicas, asimismo algunos experimentos demuestran que diferentes compuestos de cromo ( VI ) producen mutaciones en Escherichia coli ( Venitt y Levy, 1974 ), en Salmonella thyphimurium ( Petrilli y De Flora, 1978 ), en levaduras ( Bonatti et al., 1976 ) y en Drosophila ( Rodríguez, comunicación personal ), además provocan aberraciones cromosómicas en células embrionarias de criceto ( Tsuda y Kato, 1977 ), en leucocitos humanos ( Nakumuro et al., 1978 ) e inducen intercambios de cromátidas hermanas en linfocitos humanos ( Gómez-Arroyo et al., 1981 ). Por otra parte, se ha encontrado que producen alteraciones en el ciclo mitótico ( Majone y Levis, 1979 ).

Respecto a los estudios en vegetales se ha observado que el cromo estimula el crecimiento de las plantas, pero también puede ser tóxico, dependiendo principalmente del tipo de planta y de la cantidad presente en el suelo. Las concentraciones de dicho metal encontradas en tejidos vegetales oscila entre 0.01 y 1.0 ppm y los niveles en los alimentos de origen vegetal están entre 0.05 y 0.10 ppm ( Saint-Rat, 1948 ). En suelos contaminados o tratados experimentalmente con cromo, las plantas muestran reducción en el tamaño de la hoja, pequeñas áreas necróticas y clorosis, así como una marcada disminución de nitrógeno ( Hunter y Vergnano, 1953; Anderson et al., 1973; Rosas et al., 1977; Rosas, 1984 ) e incremento en la concentración de fósforo ( Crooke e Inksan, 1955 ).

En algunos vegetales como frijol, arroz, col y cebada, Wallace et al. ( 1976 ) encuentran que el cromo es absorbido

por la raíz y solo pequeñas cantidades llegan a las hojas, de manera que los efectos tóxicos se concentran principalmente en la raíz. Rosas ( 1984 ) encuentra en sembradíos de maíz si tuados dentro de la zona industrial de Lechería, Edo. de México, a este metal en diferentes estructuras de la planta, debi do probablemente a los altos niveles de concentración registrados tanto en el suelo, como en el aire y en el agua de llu via.

Se ha descrito que los compuestos de cromo hexavalente producen aberraciones cromosómicas en las raíces de Vicia faba ( Rendón, 1980; Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983), en células gaméticas de Gibasis pulchella ( Flores, 1980 ), a demás de inducir alteraciones c-mitóticas semejantes a las provocadas por la colchicina en células de cebolla ( Levan, 1945; Villagómez, 1981 ).

Uno de los sistemas de evaluación del daño producido al material genético es el intercambio de cromátidas hermanas ( ICH ), esta prueba es muy sensible ya que dicho fenómeno es inducido con agentes químicos en concentraciones hasta 10 veces menores de las que producen aberraciones cromosómicas ( Wolff et al., 1977 ). Esta técnica es empleada para conocer la mutagénesis de agentes químicos tanto in vivo ( Allen y Latt, 1976 ) como in vitro ( Perry y Evans, 1973; Salomon y Brobow, 1975; Stetka y Wolff, 1976 ).

Taylor y colaboradores ( 1957 ) son los primeros en describir este fenómeno en células de plantas, usando marcaje con timidina tritiada. Posteriormente se han elaborado métodos citológicos más simples y eficaces para el estudio de ICH, los cuales se basan en el empleo de 5-Bromodesoxiuridina ( Brd-

Urd ), que se incorpora al ADN al reemplazar a la timina ( Zakharov y Egolina, 1972; Ikushima y Wolff, 1974 ). Asimismo la utilización de algunos colorantes tales como el naranja de acridina ( Kato, 1974; Perry y Wolff, 1974 ) o el Hoechst 33258, los cuales producen fluorescencia en los cromosomas ( Latt, 1973 ) y el tratamiento de las preparaciones con el colorante Giemsa, hacen posible la tinción diferencial permanente, de manera que pueden visualizarse con facilidad los ICH. Kihlman y Kronborg ( 1975 ) describen esta técnica para vegetales y recientemente Tempelaar et al. ( 1982 ) la simplifican, empleando el reactivo de Schiff.

En los estudios citogenéticos, se usan diversos materiales biológicos para evaluar el efecto de los agentes contaminantes, entre los cuales se incluye la raíz de Vicia faba, en cuyos meristemos se llevan a cabo numerosas divisiones celulares, sus cromosomas son pocos (  $2n=12$  ) y de gran tamaño lo que permite que sean fácilmente observables, un par de ellos son metacéntricos en uno de cuyos brazos presentan una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y cinco pares de cromosomas subacrocéntricos de aproximadamente igual longitud. El promedio de duración del ciclo celular, según Evans y Scott ( 1964 ), es de 19.3 horas a 19°C, siendo de 4.9, 7.5 y 4.9 horas los periodos  $G_1$ , S y  $G_2$ , respectivamente, y la mitosis de 2 horas.

Debido al uso tan extendido de los diversos compuestos de cromo y a la importancia que tiene desde el punto de vista de la mutagénesis y carcinogénesis, en este trabajo se pretende evaluar el efecto de bajas dosis de dicromato de potasio y cromato de calcio, mediante el análisis de intercambio de cromátidas hermanas en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba.

## MATERIAL Y METODO

Las semillas de Vicia faba ( var. minor ) se lavaron en agua corriente durante dos horas. Posteriormente se sumergieron 24 horas en agua con el fin de acelerar la germinación y se mantuvieron en la obscuridad a temperatura constante (21°C), transcurrido ese tiempo se lavaron nuevamente 10 minutos en agua corriente y se colocaron entre dos capas de algodón humedecido, en la obscuridad.

Una vez que aparecieron las radículas, se les removió la testa para evitar la contaminación por hongos. Cuando las raíces alcanzaron de 2 a 3 cm de longitud se incubaron en una solución de BrdUrd 10  $\mu$ M, FdUrd 0.1  $\mu$ M y Urd 5  $\mu$ M durante un ciclo de replicación ( 20 horas ), cada raíz se introdujo en la solución en un tubo de ensayo cubierto con papel aluminio, tapando también los cotiledones para evitar la exposición a la luz.

Después se trataron una hora con dicromato de potasio y con cromato de calcio ( Baker ), a concentraciones de 0.005, 0.010 y 0.025 %, pero en éste último compuesto de cromo se utilizó una más, que fue de 0.0075 %. Las raíces de 8 plántulas por concentración se introdujeron en un vaso de precipitados cubierto con papel aluminio, con orificios hechos en la parte superior, para ponerlas en contacto con la solución durante el tiempo de tratamiento. Los testigos correspondientes se mantuvieron en las mismas condiciones experimentales, pero con las raíces en agua destilada, todo el experimento se realizó en la obscuridad.

Posteriormente al tratamiento, las raíces se colocaron

en una solución fresca de BrdUrd ( 5-bromodesoxiuridina ), FdUrd ( 5-fluordesoxiuridina ) y Urd ( Uridina ) durante un segundo ciclo de replicación ( 20 horas ).

Después de ese tiempo se hicieron cortes de 2 milímetros de la raíz y se expusieron por tres horas a colchicina 0.05 % en la oscuridad. La fijación se realizó con ácido acético al 100 % durante una hora a 21°C y más tarde se transfirieron a etanol-ácido acético ( 3:1 ) a -20°C por dos días. Al transcurrir este lapso, los cortes se colocaron en etanol al 70 % a 28°C por 15 minutos. A continuación se hidrolizaron en HCl 5N durante 80 minutos en baño maría a 28°C.

Los meristemas se enjuagaron por lo menos tres veces con agua destilada y se tiñeron con el reactivo de Schiff ( tinción de Feulgen ) durante doce minutos en la oscuridad.

Los cortes se trataron con pectinasa ( Sigma ) de Aspergillus niger al 2 % disuelta en amortiguador de citratos ( pH = 4.7 ) por 15 minutos a 28°C. A continuación se pusieron en ácido acético al 45 % por 10 minutos y finalmente se transfirieron a etanol al 70 % frío por 30 minutos.

El aplastamiento del tejido en monocapa ( "squash" ), se realizó empleando ácido acético al 45 % y las preparaciones fueron hechas permanentes por la técnica del hielo seco ( Conger y Fairchild, 1953 ), deshidratando con dos cambios de butanol y se montaron en bálsamo de Canadá.

El análisis de los cromosomas se hizo en células en meta fase, por cada concentración de los dos compuestos de cromo, se registraron 50 cromosomas metacéntricos ( M ) y 250 suba-

crocéntricos ( S ), que corresponden al número de cromosomas contenidos en 25 células. La cuantificación de los intercambios terminales se consideró como un evento y los intersticiales como dos. El registro de las preparaciones se llevó a cabo empleando claves para que el observador no conociera el lote que estaba analizando, con el fin de evitar prejuicios.

Con el propósito de comprobar la validez de los resultados se hizo una repetición del experimento. El análisis estadístico fue realizado mediante la prueba de "t" de Student. De acuerdo con Latt et al. (1981) para analizar los resultados obtenidos, se consideró como agente químico eficiente en la inducción de ICH aquel que dobla la frecuencia basal o en su defecto el que presente un incremento sobre el nivel basal en relación con la concentración, considerando valores significativos a partir de  $p < 0.001$ .

Para el análisis gráfico se ajustaron los valores a una recta mediante mínimos cuadrados y se obtuvo el valor de correlación.

## RESULTADOS

Para determinar si se presentaban diferencias significativas entre los experimentos correspondientes a cada compuesto de cromo, se utilizó la prueba estadística de "t" de Student, al no existir éstas, los valores fueron promediados.

En la tabla I, se muestran los resultados obtenidos con dicromato de potasio, notándose que a medida que la concentración aumenta, se incrementan las frecuencias de ICH ( fig. 1). En todos los casos se encuentran diferencias significativas.

(  $p < 0.001$  ) con respecto al testigo, pero en ninguno se duplica el valor basal.

Observada esta relación lineal se ajustó a una recta, cuyos valores y ecuación fueron:  $y = 514.86 (x) + 34.64$  y se obtuvo un factor de correlación  $r = 0.84$

Con el cromato de calcio se probaron inicialmente las mismas concentraciones que para el dicromato de potasio, sin embargo la toxicidad mostrada es muy grande, ya que en 0.010 % se deteriora totalmente el tejido. Entonces se decidió probar la concentración de 0.0075 %, la cual también resultó citotóxica, de tal manera que únicamente en 0.005 % se pudo hacer el análisis de ICH, no encontrándose diferencias significativas con relación al testigo al aplicar la prueba de "t" de Student ( Tabla II ).

#### DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con el dicromato de potasio ( Fig. 1 ), muestran un comportamiento concentración-respuesta, asimismo encontrándose en todos los casos diferencias significativas con respecto al testigo,  $p < 0.001$ , al aumentar la dosis se incrementan las frecuencias de ICH. Lo anterior permite considerar al dicromato como un agente químico eficiente en la inducción de ICH ( Latt et al., 1981 ) ( Fig. 2 ).

El dicromato de potasio es un fuerte oxidante que se reduce por acción de los metabolitos celulares, del estado VI al III y forma varias clases de ligandos biológicos, por ejemplo, con los ácidos nucleicos ( Hermann y Speck, 1954; Mertz, 1969 y Levis et al., 1977 ).

Majone ( 1977 ) describe, que este compuesto interfiere en los procesos mitóticos, produciendo bloqueo de la mitosis y alteraciones nucleares; también ha sido mencionado que es un fuerte agente citotóxico en cultivo de células de mamíferos, inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas y afectando el paso de nucleósidos y aminoácidos a través de la membrana plasmática ( Levis et al., 1978 a y b ). Se ha mencionado que el dicromato de potasio disminuye la cantidad de lípidos en el hígado y la de fierro en el bazo ( Spasskaya y Blokhin, 1967 ).

El dicromato de potasio incrementa la frecuencia de aberraciones cromosómicas en células de la médula osea por envenenamiento crónico y agudo ( Bigaliev et al., 1976 ). En Vicia faba produce un comportamiento similar respecto al incremento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas, conforme aumenta la concentración ( Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983 ). En linfocitos humanos es débil productor de ICH ( Gómez-Arroyo et al., 1981 ).

Las frecuencias de ICH obtenidas en este trabajo con el cromato de calcio en la concentración de 0.005 %, no difieren significativamente de las testigo, a mayores concentraciones se presenta deterioro celular. Esto implica que el rango de dosis que se puede probar es muy corto, ya que antes de que se exprese el daño genético, se manifiestan alteraciones fisiológicas. Aun cuando el porcentaje de peso/volumen en ambos compuestos presentan la misma concentración, el cromato de calcio duplica la molaridad del dicromato de potasio en casi todas las concentraciones, quizás esto pueda ayudar a explicar el comportamiento observado al tratarse las raíces de Vicia faba con el compuesto ( Tabla III ).

Furst ( 1977 ) señala que el cromato de calcio tiene mayor actividad química que el dicromato, siendo mas efectivo también como carcinógeno que otros compuestos ( Hueper y Payne, 1962; Laskin et al., 1970 y Kuschner y Laskin, 1971 ).



En estudios de inducción de ICH en Vicia faba con plaguicidas ( Cortés, 1985 ), se ha descrito que hay cierta relación entre el deterioro del tejido, la reducción del índice mitótico y la toxicidad. Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini ( 1983 ), al probar este compuesto también en Vicia faba, no encontraron relación de las frecuencias de aberraciones con la concentración, además de producirse alargamiento en la duración del ciclo celular.

En linfocitos humanos in vitro el cromato de calcio fue mas efectivo que el dicromato de potasio para producir ICH ( Gómez-Arroyo et al., 1981 ). Fradkin et al. ( 1985 ) señalan transformaciones morfológicas en fibroblastos BHK in vitro, inducidos por cromato de calcio. Diversos autores ( Majone, 1977; Tsuga y Kato, 1977; Nishimura y Umeda, 1978; Majone y Levis, 1979; Umeda y Nishimura, 1979 ) han encontrado frecuencias elevadas de aberraciones cromosómicas producidas por cromatos en células de mamífero in vitro. Petrilli y De Flora ( 1977, 1978 ) sugieren que el cromo hexavalente interactúa directamente con el ADN bacteriano, causando corrimiento del mensaje y substitución de pares de bases.

El cromo produce aberraciones cromosómicas en las células de la raíz de Pisum sativum ( Von Rosen, 1954 ) y de Vicia faba ( Gläss, 1956; Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983 ) y altera el huso acromático en células de cebolla ( Levan, 1945 ).

Entre los agentes químicos que provocan aberraciones cromosómicas se conocen los denominados dependientes e independientes de la fase S, de acuerdo a que se requiera o no que la célula pase por el período de síntesis para que se exprese el daño ( Bender et al., 1973, 1974; Kihlman y Sturelid, 1978; Natajara y Obe, 1978 ).

Se considera que el dicromato de potasio y el cromato de calcio se comportan como agentes S-independientes ( Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983 ), ya que la expresión de las aberraciones no requiere de la síntesis de ADN. Se ha descrito que los agentes S-dependientes son más efectivos para inducir ICH ( Latt, 1974; Perry y Evans, 1975; Nakanishi, 1979 ). Sin embargo, algunos agentes que se consideran de efecto S-independientes como la luz ultravioleta de onda larga ( Natajara et al., 1980 ) y el antibiótico estreptonigrina ( Kihlman y Odmark, 1975 ) inducen ICH, por lo que Andersson ( 1981) y Kihlman et al. ( 1981 ) proponen considerar a este grupo de agentes como solo parcialmente S-independientes, asimismo el tñner que es un agente S-independiente ( Gómez-Arroyo et al., 1986 ) eleva de manera significativa la frecuencia de ICH en Vicia faba ( Romero, 1984; Gómez-Arroyo y Castillo-Ruiz, 1985 ).

El mecanismo de acción del cromo aun no está totalmente claro, sin embargo se ha sugerido que puede interactuar con la unión cet-imida de los péptidos, para formar complejos de coordinación muy estables, se unen también a los grupos fosfatos, a las purinas y/o pirimidinas de los ácidos nucleicos, a través de enlaces covalentes ( Wacker y Vallee, 1959 ). También se ha propuesto que el cromo causa cáncer indirectamente, mediante su acción sobre los lisosomas de las células dañadas, los cuales dejan en libertad a ciertas lipasas que son capaces de hidrolizar el tejido graso, dando como consecuencia la formación de epxialdehidos, que son los que en última instancia actúan produciendo cáncer ( Schoental, 1955 ).

Existen pocos trabajos de ICH en vegetales en comparación con los de células animales, debido a que ha sido necesario

vencer una serie de obstáculos, como es la incapacidad de la raíz para incorporar suficiente BrdUrd, para una buena tinción diferencial de las cromátidas hermanas, esta se ha resuelto suprimiendo la síntesis de novo del ácido timidílico, mediante la adición del análogo de uridina la 5-Fluordesoxiuridina (5-FdUrd) ( Haut y Taylor, 1967 ), éste compuesto puede inhibir la síntesis de ARN ( Rao y Gontcharoff, 1969 ), causar alargamiento del ciclo celular e inducir rompimientos cromosómicos ( Kihlman, 1971 ), por lo cual se agrega de manera simultánea uridina ( Urd ), para contrarrestar cualquier efecto adverso ( Kihlman y Andersson, 1982 ). Finalmente la solución queda constituida de 5-BrdUrd, 5-FdUrd y Urd.

La resistencia que presentan las células vegetales a ser aplastadas en monocapa, se ha podido vencer mediante el empleo de ácidos y enzimas que disuelven por hidrólisis los componentes pécticos de la pared celular y logran una buena separación de las células meristemáticas ( Kihlman y Andersson, 1982 ).

Los estudios en plantas se han realizado en Vicia faba ( Kihlman y Kronborg, 1975 ), en Allium oepa ( Schwartzman y Cortés, 1977 ), Secale cereale ( Friebe, 1978 ), Hordeum vulgare ( Schubert et al., 1980 ) y en Tradescantia paludosa ( Grant y Goldstein, 1983 ). En estas investigaciones la metodología descrita es elaborada, involucrando muchos pasos para la incorporación de BrdUrd tales como, tinción con sustancias fluorescentes, irradiación, tinción con Giemsa, blanqueamiento, deshidratación, embebimiento.

En este trabajo se ha desarrollado una técnica que involucra el menor número de pasos posibles y que se basa en la tinción de Feulgen ( Tempelaar et al., 1982 ). La reacción Feulgen-Schiff está basada en la conversión ácida catalizada del ADN por hidrólisis a ácido polialdehídoapurínico ( APA ), seguida de la tinción de esos aldehídos con el reactivo de Schiff. La intensidad de la tinción es influida por el

tipo de fijación, el procedimiento de hidrólisis, la compactación de la cromatina y la composición del reactivo de Schiff ( Duijndam y Van Duijn, 1975 ).

Posiblemente el paso más importante para la obtención del contraste diferencial, es la hidrólisis del ADN por el HCl ( Tempelaar et al., 1982 ). La despolimerización del ADN se lleva a cabo después de la despurinización dando por resultado una menor tasa de cromatina compacta, que de cromatina difusa ( Duijndam y Van Duijn, 1975 ). Se considera que existe una despolimerización diferencial, debido a que el ADN sustituido con BrdUrd tiene mayor afinidad por las proteínas, que el ADN que contiene timina ( Gordon et al., 1976 ).

Los cromosomas de las raíces tratadas con BrdUrd resisten la despolimerización y retienen el color, lo cual hace posible distinguir las cromátidas que poseen ADN sustituido bifilamente ( oscura ) y ADN unifilamente sustituido ( clara ) ( Tempelaar et al., 1982 ).

Vicia faba ha demostrado ser muy útil y sensible en la inducción de ICH producidos por diversos agentes químicos. Kihlman ( 1977 ) señala que los cromosomas de esta planta conservan buena visibilidad bajo hidrólisis prolongada. Uno de los aspectos del intercambio que se ha estudiado detalladamente por el gran tamaño de sus cromosomas, es la presencia de intercambios diminutos, los cuales tienen dimensión menor al grosor de una cromátida. Este tipo de fenómeno se ha descrito como pequeñas zonas o regiones, en donde están presentes dos intercambios localizados muy cercanos uno del otro, esto no se ha observado en células animales.

La frecuencia de ICH depende de la cantidad de ciclos durante los cuales las células están expuestas a BrdUrd ( Schwartzman et al., 1979 ), detectándose mayor número de intercambios en los cromosomas que permane

cen dos ciclos de replicación en una solución de BrdUrd ( constitución TB-BB ) ( Fig. 3 ), los promedios de los valores de ICH hallados en los testigos fueron 30.31 y 30.43 ICH/célula, los cuales son muy cercanos a 29.1 ICH/célula descritos por Kihlman y Andersson ( 1982 ) en Vicia faba.

Kihlman y Kronborg ( 1975 ) encuentran que en Vicia faba la frecuencia de intercambios es aproximadamente proporcional a la longitud del cromosoma, mientras que Schweizer ( 1973 ) menciona que aparecen agrupados en determinadas regiones, especialmente las heterocromáticas. Schubert et al. ( 1979 ) coinciden al señalar un aumento significativo de ICH en la región nucleolar y en la constricción primaria de los cromosomas M. Por otro lado Friebe ( 1978 ) observa que dichos ICH son más frecuentes en las regiones eucromáticas adyacentes a regiones heterocromáticas en Secale cereale, lo que está de acuerdo con la distribución observada en células animales ( Wolff, 1977 ).

Los ICH representan cambios en los productos de replicación de ADN, sin que se altere ni la polaridad, ni la estructura de la doble hélice de ADN, posiblemente estos involucran ruptura y reunión del ADN, aunque no se conoce de manera precisa como se provocan a nivel molecular ( Latt et al., 1980 ).

El significado biológico de los ICH aún no ha sido establecido, pero se han hecho diversas investigaciones para tratar de esclarecer este fenómeno.

Se ha encontrado que el proceso de intercambio de cromátidas hermanas requiere el paso de la célula por la etapa de síntesis del ADN ( Wolff y Perry, 1974 ). Kato ( 1980 ) menciona que durante o inmediatamente después de que se ha formado la bifurcación en la síntesis de ADN, es cuando se realiza el intercambio de doble banda entre las cadenas de ADN. Aunque recientemente Andersson ( 1983 ) ha obtenido evidencias de que también se inducen en la etapa G<sub>2</sub>.

Diversos autores han sugerido modelos para explicar el mecanismo involucrado en la formación de ICH, sin embargo uno de los más aceptados es el propuesto por Painter ( 1980, 1982 ), quién se basa en que la replicación de ADN es controlada a nivel de agrupaciones de replicones, de tal manera que cuando uno de ellos inicia, muchos de sus vecinos lo hacen al mismo tiempo. Los que participan en este evento de iniciación parasincrónico son parte del mismo grupo.

Agentes tales como la mitomicina C y la luz ultravioleta bloquean el alargamiento de la cadena de ADN y el daño se da en los agrupamientos de replicones que están en diferentes estados de terminación. Esto trae como consecuencia un retardo en la replicación de ciertos agrupamientos de replicones ( Fig. 4 I ). Por lo tanto en la cadena molecular del ADN existen segmentos replicados y no replicados, por lo que sugiere Painter ( 1982 ) que la ruptura de la doble banda del ADN se presenta en las uniones de dichos segmentos, quizás catalizadas por la topoisomerasa II. Ocasionalmente en vez de que se una en forma normal, la banda hija de la molécula replicada lo hace con la molécula sin replicar, dando lugar a la formación de ICH, este intercambio requiere un solo evento, la ruptura de la doble banda del ADN ( Fig. 4 II ).

Los resultados encontrados con el dicromato de potasio en el presente trabajo coinciden con lo sucedido a los carcinógenos mutagénicos que muestran una cinética lineal para la inducción de ICH como una función de la dosis y que se atribuye al retardo en la duplicación normal del ADN.

Se puede concluir que el dicromato de potasio es un buen inductor de ICH en el sistema de prueba Vicia faba, en tanto que el cromato de calcio no muestra tal comportamiento, debido posiblemente a que produce mayor daño fisiológico.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, W. J. y Latt, S. A. (1976). In vivo BrdU 33258 Hoecht analysis of DNA replication kinetics and sister chromatid exchange formations in mouse somatic and mitotic cells. Chromosoma 58: 256-340.
- Anderson, A. J., Meyer, D. R. y Meyer, F. K. (1973). Heavy metal toxicities: levels of nickel, cobalt, and chromium in the soil and plants associated with visual symptoms and variation in growth of an oat crop. Austr. J. Agri. Res. 24: 557-571.
- Andersson, H. C. (1981). Induction of sister chromatid exchanges by streptonigrin, an antibiotic and antineoplastic agent. Hereditas 95: 141-148.
- Andersson, H. C. (1983). Hydroxyurea induces sister chromatid exchanges in G<sub>2</sub>: implications for the formation of chromosomal aberrations. Hereditas 98: 61-64.
- Baetjer, A. M. (1956). Relation of chromium to health. En: Chromium, chemistry of chromium and its compounds. M. J. Udy. Ed. Reinhold, Nueva York, Vol. I Cap 4, pp. 76-104.
- Bender M. A., Griggs, H. B. y Walker, P. L. (1973). Mechanims of chromosomal aberrations production. I. Aberration induction by ultraviolet light. Mutat. Res. 20: 387-402.
- Bender, M. A., Griggs, H. G. y Bedfor, J. S. (1974). Recombinational DNA repair and sister-chromatid exchanges. Mutat. Res. 24: 117-123.

- Bernhardt, F. y Legnani, P. (1973). Reserche sulla tossicita di miscele di cromo-detergente anionico per l' Alburnus alburnus varieta alborella. Ig. Mod. 66: 531-537.
- Bigaliev, A. B., Elemosova, M. S. H. y Bigalieva, R. H. (1976). Chromosome aberration induced by chromium compounds in somatic cells of mammalia. Tsitol. Genet. 10: 222-224.
- Bonatti, S. Miemi, M. y Abbondandolo, A. (1976). Genetic effects of potassium dichromate in Schizosaccharomyces pombe. Mutat. Res. 38: 147-150.
- Conger, A. D. y Fairchild, L. M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanents. Stain Technol. 23: 281-283.
- Cortés, E. J. (1985). Intercambios de cromátidas hermanas inducidos por los insecticidas organofosforados Folimat y Metil Paratión en Vicia faba. Tesis Profesional. Facultad de Ciencia, UNAM, México.
- Crooke, W. M. e Inkson, R. H. E. (1955). The relationship between nickel toxicity and major nutrient supply. Plant and Soil 6: 1-15.
- Duijndam, W. A. L. y Van Duijn P. (1975). The influence of chromatin compactness on the stoichiometry of the Feulgen Schiff procedure studied in model films. Histochem. Cytochem. 23: 882-890.
- enterline, L. (1974). Respiratory cancer among chromate workers. J. Occup. Med. 16: 523-526.
- Evans, H. J. y Scott, D. (1964). Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hidrazide in Vicia faba. Genetics 49: 17-38.



- Flores, M. A. (1980). Efectos del cromo en las células gaméticas de Gibasis pulchella. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Fradkin, A., Janoff, A., Lane, B. y Kushner, M. (1975). In vitro transformation of BHK 21 cells grow in the presence of calcium chromate. Cancer. Res. 35: 1058-1063.
- Friebe, B. (1978). Untersuchungen zum schuierster chromatide naustausch bei Secale cereale. Micros. Acta 81: 159-165.
- Fukai, R. (1967). Valency state of chromium in sea water. Nature 213, 901.
- Furst, A. (1977). Inorganic agents as carcinogens. Adv. Mod. Tox. Vol. 3 Environ. Cancer. K. and M., Eds. Hlsted Press, Washington D. C.
- Glass, E. (1956). Untersuchungen uber die Einwirkung von Schwemmetallsalzen auf die Wurzelspitzenmitose von Vicia faba. Z. Bot. 44: 1-58.
- Gómez-Arroyo, S. (1980). Efectos cromosómicos del tiner y algunos de sus principales componentes en Vicia faba. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Gómez-Arroyo, S., Altamirano M. y Villalobos-Pietrini, R. (1981). Sister-chromatid exchanges induced by some chromium compounds in human lymphocytes in vitro. Mutat. Res. 90: 425-431.
- Gómez-Arroyo, S. y Villalobos-Pietrini, R. (1983). Chromosomal alterations induced by some chromium salts. Cytologia 48: 185-193.
- Gómez-Arroyo, S. y Castillo-Ruiz, P. (1985). Sister chromatid exchanges induced by thynner in Vicia faba. Cont. Amb. 1: 17-23.

- Gómez-Arroyo, S., Castillo-Rufz, P. y Villalobos-Pietrini, R. (1986). Chromosomal Alterations Induced in Vicia faba by Different Industrial Solvents: Thinner, Toluene, Benzene, n-Hexane, n-Heptane, and Ethyl Acetate. Cytologia 51: 000-000.
- Gordon, J. S., Bell, G. K., Martinson, H. C. y Rutler, W. J. (1986). Selective interaction of 5' bromodeoxyuridine substituted DNA with different chromosomal proteins. Biochemistry 15: 4778-4786.
- Grant, W. F. y Goldstein, L. D. (1983). Sister chromatid exchange in Tradescantia. A. first report. Genetics Soc. Canada Bull. 14: 51.
- Green, M. H. L., Muriel, W. J. y Bridges, B. A. (1976). A simplified fluctuation test for the detection of low levels of mutagens. Mutat. Res. 38: 130-131.
- Haut, W. F. y Taylor, J. H. (1967). Studies of bromouracil deoxyriboside substitution in DNA of bean roots Vicia faba. J. Mol. Bio. 26: 389-401.
- Herrmann, H. y Speck, L. B. (1954). Interaction of chromate with nucleic acids in tissues. Science 119: 221.
- Hueper, W. C. (1955). Experimental studies in metal carcinogenesis VII. Tissue reactions to parenterally introduced powdered metallic and chromite ore. J. Nat. Cancer Inst. 16: 447-842.
- Hueper, W. C. (1961). Environmental carcinogenesis and cancer. Cancer Res. 21: 842.
- Hueper, W. C. y Payne W. W. (1962). Experimental studies in metal carcinogenesis, chromium, nickel, iron, arsenic. Arch. Environ. Health. 5: 445-462.

- Hunter, J. y Vergnano, O. (1953). Trace element toxicities in oat plants. *Appl. Biol.* 40: 761-777.
- Ikushima, T. y Wolff, S. (1974). Sister chromatid exchanges induced by light-flashes to 5'bromodeoxyuridine and 5-iododeoxyuride-substituted Chinese hamster chromosomes. *Exp. Cell Res.* 87: 15-19.
- Ishibashi, M. y Sdigenatsu, I. (1950). Determination of chromium in sea water. *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.* 23: 55-60.
- Kato, H. (1980). Evidence that the replication point is the site of sister chromatid exchange. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2: 69-77.
- Kihlman, B. A. (1971). Molecular mechanisms of chromosome breakage and rejoining. *Advanv. Cell Molec. Biol.* 1: 59-108.
- Kihlman, B. A. y Kronborg, D. (1975). Sister chromtid exchanges in Vicia faba. I. Demonstration by a modified fluorescent plus Giemsa (FPG) technique. *Chromosoma* 51: 1-10.
- Kihlman, B. A. y Odmark, G. (1975). DNA synthesis and the production of chromosomal aberrations by streptonigrin, 8-ethoxycafeine and 1,3,7,9-tetramethyluric acid. *Mutat. Res.* 2: 494-505. .
- Kihlman, B. A. (1977). Caffeine and Chromosomes. Elsevier, Amsterdam, pp. 304.
- Kihlman, B. A. y Sturelid, S. (1978). Effects of caffeine on the frequencies of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges induced by chemical mutagens in root tips of Vicia faba. *Hereditas* 88: 35-41.

- Kihlman, B.A. y Andersson, H. C. (1982). Sister chromatid exchanges in plants. En: Sister Chromatid Exchange. Wiley New York. pp. 261-263.
- Kuschner, M. y S. Laskin. (1971). Experimental modes in environmental carcinogenesis. Am. J. Pathol. 64: 183-191.
- Laskin, S., Kuschner, M. y Dreu R. T. (1970). Studies in pulmonary carcinogenesis. En: M. G. Hanna Jr. P. Nettekheim y J. R. Gilbert (Eds.) Inhalation Carcinogenesis, Oak Ridge AEC Symp. Ser. 18: 321-350.
- Latt, S. A. (1973). Microfluorometric detection of DNA replication in human metaphase chromosomes, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 70: 3395-3399.
- Latt, S. A. (1974). Sister chromatid exchanges, indices of human chromosomes damage and repair, detection by fluorescence and induction by mitomycin-C, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 71: 3162-3166.
- Latt, S. A., Wohleb, J. C., Loveday, K. S., Dougherty, C.P. y Shuler, C.F. (1980). Progress in Human Genetics (Symposium) Nueva York, pp. 267-331.
- Leonard, A. y Sawwerys R. R. ( 1980). Carcinogenicity and mutagenicity of chromium. Mutat. Res. 76: 227-239.
- Levan, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. Nature 156: 751-752.

- Levis, A. G., M. Buttignol y Vettorato L. (1977). Inhibition of DNA synthesis in BHK fibroblast treated in vitro with potassium dichromate. *Experientia* 33: 82-84.
- Levis, A. G., Bianchi, V. Tamino, G. y Pegoraro B. ( 1978a ). Cytotoxic effects of hexavalent and trivalent chromium on mammalian cells in vitro, *Pr. J. Cancer.* 37: 386-396.
- Levis, A. G. Bianchi, V. y Sponza, G. (1978b). Effects of potassium dicromate on nucleic acid and protein synthesis and on precursor uptake in BHK fibroblast. *Cancer Res.* 38: 110-116.
- Machle, W. y Gregorius, F. (1948). Cancer of the respiratory system in the U.S. chromate-producing industry. U.S. Public Health Rep. 63: 1114-1127.
- Majone, F. (1977). Effects of potassium dicromate on mitosis of cultured mammalian cells. *Caryologia* 30: 469-481.
- Majone, F. y Levis A. G. (1979). Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells treated in vitro with hexavalent chromium compounds. *Mutat. Res.* 67: 231-238.
- Mc Cann, J., Choi, E., Yamasaki, E. y Ames B.N. (1975). Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72: 5135-5139.
- Mertz, W. (1967). New views concerning the action of the trace elements chromium in carbohydrate metabolism. *Rorsch. Med.* 85: 739-741.
- Mertz, W. (1969). Chromium occurrence and function on biological systems. *Physiol. Rev.* 49: 163-239.

- Mertz, W. (1974). Biological function of chromium nicotinic acid-complexes. Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol. 33: 659-666.
- Mertz, W. Y Schwarz, K. (1955). Impaired intravenous glucose tolerance as an early sign of dietary necrotic liver degeneration. Arch. Biochem. Biophys. 58: 504-506.
- Mikosha, A. (1959). Trace elements in human embryos. Nauk. Zap. Stanilavs'K Med. Ins. 3: 35-89. Chem. Abstr. 57, 7969.
- Nakanishi, Y., Kram, D. y Schneider, E. L. (1979). Aging and sister chromatid exchange IV. Reduced frequencies of mutagen induced sister chromatid exchanges in vivo in mouse bone marrow cells with aging. Cytogener. Cell Genet. 24: 61-67.
- Natajaran, A. T. y Obe, G. (1978). Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations I. Utilization of Neurospora endonuclease for the study of aberration production in G<sub>2</sub> stage of the cell cycle. Mutat. Res. 52: 137-149.
- Natajaran, A. T., Kihlman, B. A. y Obe, G. (1980). Use of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. II. G<sub>1</sub> experiments with Chinese hamster ovary cells. Mutat. Res. 73: 137-149.
- Nakamuro, K., Yoshikawa, K., Sayato, Y. y Kurata, H. (1978). Comparative studies of chromosomal aberration and mutagenicity of trivalent and hexavalent chromium. Mutat. Res. 52: 137-149.

Nettesheim, P., Hanna Jr. M. G., Donerty, D. G. Newell, R. F. y Hellman, A. (1971). Effect of calcium chromate dust, influenza virus and R whole-body X-radiation on lung tumor incidence in mice. J. Nat. Cancer Inst. 47: 1129-1144.

Nishimura, M. y Umeda, M. (1978). Mutagenic effect of some metal compounds on cultured mammalian cells. Mutat. Res. 54: 246-247.

Nishioka, H. (1975). Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. Mutation Res. 31, 185-189.

Painter, R. B. (1980). A replication model for sister chromatid exchange. Mutat. Res. 70: 337-341.

Painter, R.B. (1982). Replication model for sister chromatid exchange. En: Sister Chromatid Exchange. Alan R. Ed: Nueva York. pp 115-121.

Payne, W.W. (1960). Production of cancer in mice and rats by chromium compounds. Arch. Industr. Health. 21: 530-535.

Perry, P. y Evans, H. J. (1975). Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. Nature 258: 121-125.

Perry, P. y Wolff, S. (1974). New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. Nature 251: 156-158.

Petrilli, F. L. y De Flora, S. (1977). Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on Salmonella typhimurium. Appl. Environ. Microbiol. 33: 805-809.

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

- Pribluda, L. A. (1963). The chromium content of hollow bones of the human fetus. Dokl. Akad. Nauk. Belorussk. SSR. 7: 135-136. Chem. Abstr. 50, 3142.
- Rao, B. y Gontcharoff, M. (1969). Functionality of newly synthesized DNA as related to RNA synthesis during mitotic cycle in Physarium polucephalum. Exp. Cell Res. 56: 269-274.
- Roe, F. J. y Carter, R. L. (1969). Chromium carcinogenesis: calcium chromate as a potent carcinogen for the subcutaneous tissues of the rat. Brit. J. Cancer 23: 172-176.
- Rendón, O. I. (1980). Alteraciones cromosómicas inducidas por algunas sales de cromo. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Robinson, W. O. (1914). Widespread occurrence of Cr in agricultural soils. US Dept. Agricult. Bull. No. 122 (Cit. por IARC, 1973).
- Rosas, P. I. (1984). Aspectos ecotoxicológicos del cromo en una zona industrial del Estado de México, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Rosas, P. I., Báez, A., Belmont, R. y Villalobos-Pietrini, R. (1977). Cuantificación de cromo en suelo y vegetales de una zona contaminada por cromo residual de origen industrial. An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. Méx. Ser. Bio. Exp. 1: 95-112.
- Romero, P. T. (1984). Intercambio de cromátidas hermanas inducido por tiner en Vicia faba. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM, México.



- Saint-Rat, L. D. (1948). The presence of chromium in vegetables  
Compt. Rend. Acad. Sci. Paris 277: 150-152.
- Salomon, E. y Bobrow, M. (1975). Sister chromatid exchange a sensitive  
assay of agents damaging human chromosomes. Mutat. Res 30: 121-131.
- SARH, (1976). Legislación Relativa al Agua y su Contaminación.  
México, D. F. pp. 143.
- Sassi, C. (1956). Occupational pathology in a chromate plant. Med.  
Lavoro 47: 314-327.
- Schoental, R. (1975). Chromium carcinogenesis, formation of  
epoxyaldehydes and tanning. Br. J. Cancer 32: 403-404.
- Schroeder, H. (1968). The role of chromium in mammalian nutrition.  
Am. J. Clin. Nutr. 21: 230-244.
- Schroeder, H. y Nason, A. (1969). Trace meta ls in human hair. J.  
Invest. Dermatol. 53: 71-78.
- Schubert, I., Sturelid, S. y Dobel, P. (1979). Intra-chromosomal  
distribution pattrons of mutagen induces sister chromatid  
exchanges and chromatid aberrations in reconstructed kariotypes  
of Vicia faba. Mutat. Res. 59: 27-38
- Schubert, I., Kunzel, G., Bertschneider, H. Reiger, R., y Nicoloff,  
H. (1980). Sister chromatid exchanges in barley. Theor. Appl. Genet.  
54: 1-4.
- Schvartzman, J. y Cortés, F. (1977). Sister chromatid exchanges in  
Allium cepa. Chromosoma 62: 119-131.

- Schwartzman, J. B., Cortés, F., González-Fernández, A., Gutiérrez, C. y López-Sáez J. F. (1979). On the nature of sister-chromatid exchanges in 5-Bromodeoxyuridine substituted chromosomes. *Genetics* 92: 1250-1264.
- Schweizer, D. (1973). Vergleichende Untersuchungen zur Langsdifferenzierung der Chromosomen von Vicia faba. L. Verhandl. Naturf. Ges. Basel 83: 1-75.
- Soane, B. D. y Saunder, D. H. (1959). Nickel and chromium toxicity of serpentine soils in southern Rhodesia. *Soil. Sci.* 88: 322-330.
- Spasskaya, M. G. y Blokhin, V. (1967). Pathomorphological changes in animals during chronic chromium poisoning. *Klin. Patog. Profzabol. Khim. Etiol. Predpr. Tsvet. Chern. Met.* 1: 156-161. *Chem. Abstr.* 74, 109829.
- Steffee, C. H. y Baetjer, A. M. (1965). Histopathologic effects of chromate chemicals. Report of studies in rabbits, guinea pigs, rats and mice. *Arch. Environ. Health* 11: 66-75.
- Stetka, D.G. y Wolff, S. (1976). Sister chromatid exchange as an assay for genetic damage induced by mutagen-carcinogens. II. In vitro test for compounds requiring metabolic activation. *Mutat. Res.* 41: 343-350.
- Sullivan, R. J. (1969). Preliminary air pollution survey of chromium and its compounds. A literature review. US Dept. of Health, Education and Welfare.
- Sunderman, F. W. Jr. (1976). A review of the carcinogenicities of nickel and arsenic compounds in man and animals. *Prev. Med.* 5: 279-294.

- Swaine, D. (1962). The trace element content of fertilizers. *Commonw. Bur. Soil Sci., Tech. Commun.* 52.
- Taylor, H. J., Woods, P. S. y Hughes, W. L. (1957). The organization and duplication of chromosome as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 43: 122-128.
- Taylor, H. J., (1958). Sister chromatid exchanges in tritium labeled chromosomes. *Genetics.* 43: 519-529.
- Taylor, F. G., Parr, Jr. P. D. y Dahlman, R. C. (1975). Distribution of chromium in vegetation and small mammals adjacent to cooling towers. *Nuclear Sci. Abstr.* 32: 331.
- Tempelaar, M. J., De Both, M. T. y Versteegh, J. E. (1982). Measurement of SCE frequencies in plants: a simple Feulgen-staining procedure for Vicia faba. *Mutat. Res.* 103: 321-326.
- Tsuda, H. y Kato, K. (1977). Chromosomal aberrations and morphological transformation in hamster embryonic cells treated with potassium dichromate in vitro. *Mutat. Res.* 46: 87-97.
- Umeda, M. y Nishimura, M. (1979). Inductibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* 67: 221-229.
- U. S. Public Health Service (1953). Health of workers in chromate producing industry. Publications No. 192. Washington USA.
- Venitt, S. y Levy, L. S. (1974). Mutagenicity of chromates in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis, *Nature (London)*, 250: 493-495.

- Villagómez, M. L. (1981). Efectos producidos por el trióxido de cromo sobre los cromosomas de las células meristemáticas de Vicia faba. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Villalobos-Pietrini, R. (1977). Efectos biológicos del cromo. An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx. Ser. Bio. Exp. 1: 115-162.
- Von Rosen, G. (1954). Breaking of chromosomes by the action of element of the periodical systems and by some other principles. Hereditas 40: 258-263.
- Wacker, W. E. C. y Vallee B. L. (1959). Chromium, manganese, nickel and other metals in RNA. Fed. Proc. 18: 345.
- Walsh, E. N. (1953). Chromate hazards in industry. JAMA 153: 1305-1308.
- Wallace, A., Soufi, J. Cha, Y. y Rommey, E. (1976). Some effects of chromium toxicity on bush bean plants in soil. Plant Soil 44: 471-473.
- WHO (World Health Organization) (1963). International standards for drinking water. 2a. ed. Genova.
- Winston, J. R. y Wash, E. N. (1951). Chromate dermatitis in railroad employees working with diesel locomotives. JAMA 147: 1133-1134.
- Wolff, S. y Perry, P. (1974). Differential Giemsa staining of sister chromatid and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography. Chromosoma 48: 341-353.
- Wolff, S. (1977). Sister Chromatid exchanges. Ann. Rev. Genet. 11: 183-201.

Wolff, S., Rodin, B. y Cleaver, J. E. (1977). Sister chromatid exchanges induced by mutagenic carcinogens in normal and Xeroderma pigmentosum cells. *Nature* 265: 347-349.

Zakharov, A. F. y Egolina, N. A. (1972). Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes. I. BrdU-reveales-differentiation in Chinese hamster chromosomes. *Chromosoma* 38: 341-365.

TABLA I

FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS  
INDUCIDOS POR DICROMATO DE POTASIO EN Vicia faba.

Concentración ( % )	ICH i $\bar{X} \pm E.E$	"t" de Student
0	30.31 $\pm$ 0.60	
0.005	40.72 $\pm$ 0.97	6.63 *
0.010	42.94 $\pm$ 1.19	7.06 *
0.025	46.65 $\pm$ 0.83	11.43 *

\*  $p < 0.001$

i n = 50 metafases

TABLA II

FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS  
INDUCIDOS POR CROMATO DE CALCIO EN Vicia faba.

Concentración ( % )	ICH <sub>i</sub> $\bar{X} \pm E.E$	"t" de Student
0	30.43 $\pm$ 0.86	
0.0050	32.02 $\pm$ 0.48	1.19 N.S
0.0075	DETERIORO DEL TEJIDO	
0.0100	" " "	
0.0250	" " "	

i n = 50 metafases

N.S = NO SIGNIFICATIVO

TABLA III

Equivalentes en ppm y molaridades de las concentraciones utilizadas.

DICROMATO DE POTASIO

Concentración ( % )	ppm	Molaridad
0.0050	50	0.00017
0.0100	100	0.00034
0.0250	250	0.00085

CROMATO DE CALCIO

Concentración ( % )	ppm	Molaridad
0.0050	50	0.00022
0.0075	75	0.00048
0.0100	100	0.00064
0.0250	250	0.00160



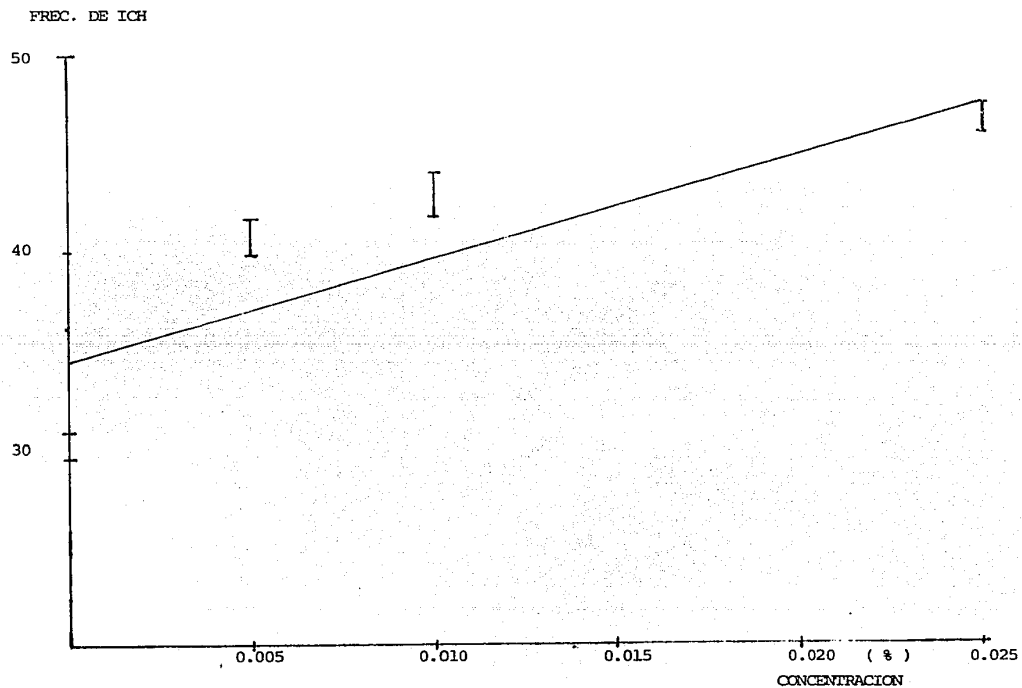


Fig. 1 Intercambios de cromátidas hermanas inducidos por dicromato de potasio en Vicia faba.

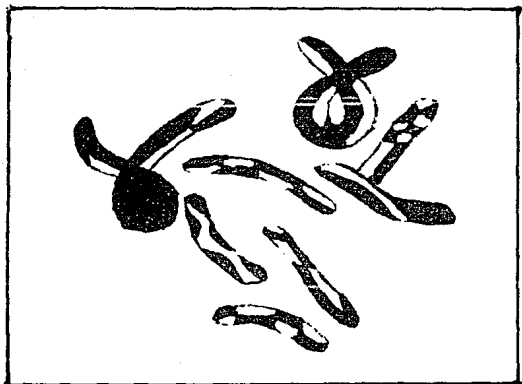
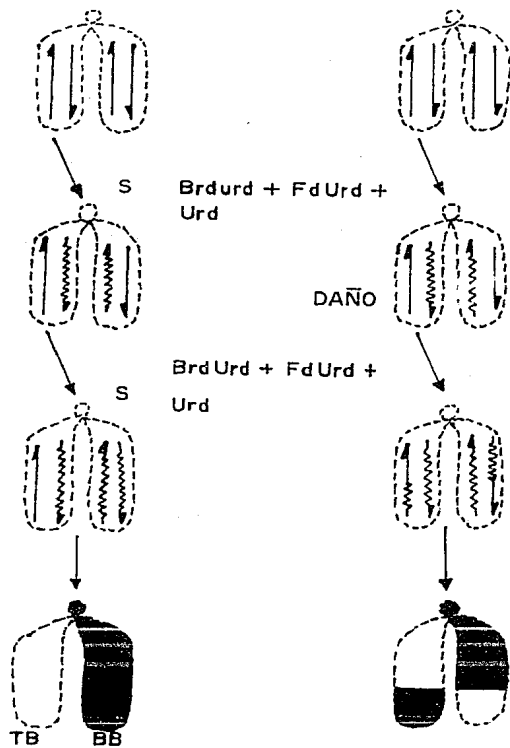


Fig. 2

Cromosomas metafásicos con intercambios  
de cromátidas hermanas.

INCORPORACION DE BROMODESOXIURIDINA.



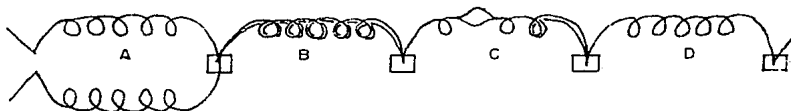
DIFERENCIACION ENTRE  
CROMATIDAS HERMANAS

INDUCCION DE ICH

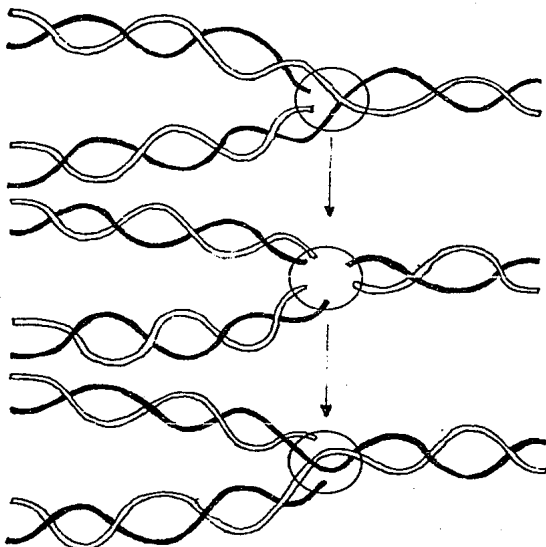
Fig. 3

Fig. 4 MODELO DE PAINTER PARA LA INDUCCION DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS ( 1982 ).

- I) Progresión de la duplicación del ADN entre los agrupamientos de replicones, en caso de que se presente algún daño puede persistir la condición del agrupamiento C en donde se inhibe la replicación y por lo tanto hay retardo de la misma.
  
- II) Ruptura de doble banda y reunión de la banda hija de la molécula replicada a la molécula no replica da dando lugar al intercambio de doble banda.



( I )



( II )

Fig. 4 ( I y II ) MODELO DE PAINTER ( 1982 ).