

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ABERRACIONES CROMOSÓMICAS PRODUCIDAS POR LAS
RADIACIONES IONIZANTES

ESTE LIBRO NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA
T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

GUADALUPE PALOMINO HASBACH

MEXICO, D. F.

- 1967 -



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

A MIS PADRES

A MI ABUELO

A CESAR



AL BIOL. RAFAEL VILLALOBOS-
PIETRINI

La presente tesis fue elaborada en el laboratorio de Citogenética y Radiogenética Vegetal de la Comisión Nacional de Energía Nuclear, gracias a una beca otorgada por las autoridades de dicha Institución.

El presente trabajo no hubiera sido posible sin las facilidades otorgadas por el Jefe del Departamento de Radioterapia, Dr. Rodolfo Díaz Perches, del Hospital General, S.S.A., para la irradiación del material biológico. Doy las gracias al Ing. Víctor Manuel Tovar y al físico Noé Gómez, por la resolución de los problemas prácticos que surgieron y por los cálculos de dosimetría y aspectos teóricos de la irradiación.

CONTENIDO

| | Página |
|--------------------------------|--------|
| INTRODUCCION | 1 |
| MATERIAL Y METODOS | 26 |
| RESULTADOS | 29 |
| DISCUSION Y CONCLUSIONES | 36 |
| BIBLIOGRAFIA | 49 |

ILUSTRACIONES

FIGURAS

| | |
|---------------|----|
| 1 | 6 |
| 2 y 3 | 8 |
| 4 y 5 | 10 |
| 6 y 7 | 11 |
| 8 y 9 | 13 |
| 10 y 11 | 14 |
| 12 y 13 | 16 |
| 14 y 15 | 17 |
| 16 | 31 |
| 17 | 33 |
| 18 | 34 |

CONTENIDO (Continuación)

| | Página |
|-------------------|---------------|
| FIGURAS | |
| 19 | 40 |
| 20 | 41 |
| 21 | 42 |
| 22 | 43 |
| 23 | 44 |
| TABLAS | |
| I y II | entre 11 y 12 |
| III | 29 |
| IV | 35 |
| V | 48 |

INTRODUCCION

Los primeros trabajos de radiogenética fueron llevados al cabo por Müller (20) y Stailer (35) al estudiar los efectos de las radiaciones en Drosophila melanogaster y Zea mays respectivamente, observando las mutaciones producidas por la radiación en las generaciones hijas. Este tipo de investigación ha ido tomando gran auge, debido a la necesidad que tiene el hombre de profundizar en el conocimiento de la interacción de las radiaciones con los organismos y sus consecuencias inmediatas y mediatas en el desarrollo de los fenómenos biológicos normales y anormales.

Varios investigadores han continuado con este tipo de trabajos, entre los que mencionaremos a Sax (26, 29, 30, 31), Revell (21, 22, 23, 24, 25), Villalobos-Pietrini (47, 48), Swanson (37, 38, 39, 40, 41, 42, 43), algunos de cuyos resultados se han concentrado en las revisiones de Hollaender (12), Lea (17), Back y Alexander (21) y Wolff (43). En esta forma la radiobiología y en particular la radiogenética han venido a ocupar un lugar preponderante entre las ciencias biológicas.

Fue Hollaender en 1954, quien se ocupó en clasificar las radiaciones capaces de producir efectos biológicos.

Ligeros.- Rayos catódicos (electrones) positrones.

A) Cargados electricamente

A) Radiación Corpuscular

Pesados.- Protones, deuterones y otros

B) Electricamente neutros

Neutrones

B) Radiación electromagnética

- 1.- Ondas de radio
- 2.- Luz infrarroja
- 3.- Luz visible
- 4.- Luz ultravioleta
- 5.- Rayos X o rayos Roentgen.

C) Radiaciones procedentes de núcleos atómicos.- Rayos Alfa, Beta y Gama.

Desde el punto de vista de su efecto, las radiaciones pueden clasificarse en ionizantes y no ionizantes: entre las primeras están Rayos X, Rayos Gama, partículas Alfa (núcleos de Helio), partículas Beta (electrones) protones y neutrones.

Las radiaciones ionizantes se caracterizan porque al interferir con la materia desplazan electrones de sus órbitas, los cuales a su vez ionizan otros átomos. Las ionizaciones no se distribuyen al azar

sino que están localizadas a lo largo de la trayectoria de los electrones primarios y secundarios. Después de varias colisiones, los electrones pierden su velocidad y su energía y son capturados por un átomo produciendo así un ion químicamente activo, o una molécula que se hace inestable y se descompone en fragmentos muy activos denominados radicales libres.

Entre las radiaciones no ionizantes se encuentra la radiación ultravioleta, la cual transfiere su energía produciendo excitación de átomos y moléculas, que alcanzan así niveles energéticos más altos; debido a su baja energía y escasa penetración, los rayos ultravioleta son de menor eficacia radiobiológica que las radiaciones ionizantes, aunque son absorbidas por las nucleoproteínas a longitudes de onda determinadas.

Los efectos producidos por las radiaciones ionizantes en el material biológico, según Sax (31) son los siguientes:

A. El efecto primario consiste en cambios fisiológicos generales:

- 1.- Cambios de tipo metabólico.
- 2.- Alteraciones en la viscosidad del citoplasma y en la permeabilidad de la membrana.
- 3.- Alteraciones de las enzimas.

B. El efecto secundario es el que sufren directamente los cromosomas.

Las células son más sensibles a las radiaciones en el período de división que en la interfase. La sensibilidad diferencial de las células en división y las células en interfase varía en los diversos organismos. Scott (32) señala por ejemplo que es de 8:1 en huevos de Ascaris y 6:1 en huevos de Rana.

Generalmente la sensibilidad de los tejidos a los Rayos X ha sido considerada como proporcional a su capacidad reproductora (Sax 31).

En las microsporas de Tradescantia, la sensibilidad es mayor en la segunda profase de meiosis, donde alcanza su máximo poco antes de la mitad de este período. Las microsporas haploides son dos veces más sensibles que las diploides. Las microsporas y las puntas de raíz en Allium son menos sensibles que en Tradescantia (Sax 31).

Los daños genéticos inducidos por las radiaciones ionizantes pueden clasificarse (Wolff 51) en intragénicos e intergénicos. Los cambios intragénicos son también llamados mutaciones de punto, que implican cambios en la secuencia de las bases nitrogenadas del DNA (ácido Desoxirribonucleico), aunque también pueden deberse a pequeñas deleciones.

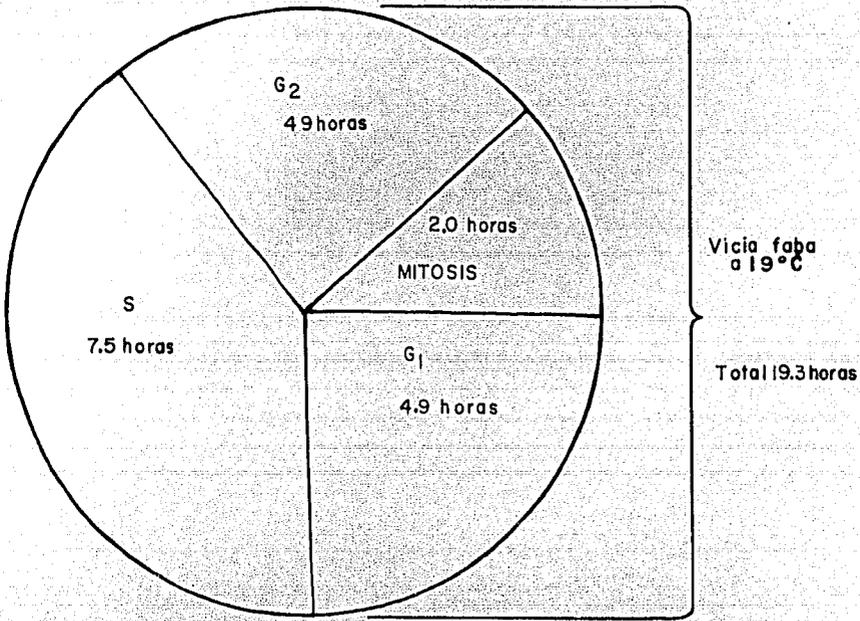
Los cambios intergénicos son alteraciones estructurales de los cromosomas denominadas también aberraciones cromosómicas, las cuales son detectables a nivel citológico y constituyen uno de los criterios

más adecuados para la determinación del efecto producido por las radiaciones.

Existen varias hipótesis que tratan de explicar el mecanismo de producción de las aberraciones cromosómicas inducidas por las radiaciones. Una de ellas es la Teoría del Blanco (Lea 17), que se basa en que el cromosoma se rompe al incidir la radiación directamente sobre él. Los trabajos de Thoday y Read (1947) ampliaron esta teoría considerando que la producción de aberraciones cromosómicas no sólo se verifican en forma directa, sino también de manera indirecta debido a la deposición de energía alrededor de los cromosomas. Esto se descubrió al observar un aumento del número de aberraciones cromosómicas producidas por los Rayos X y Gamma, cuando la irradiación se hizo en presencia de oxígeno, comparado con la frecuencia de aberraciones obtenidas al irradiar en anoxia.

En este trabajo establecemos que al ser irradiados los tejidos, los cromosomas se rompen y sus extremos libres pueden permanecer separados, restituirse a su posición original o reunirse de manera ilegítima con otros extremos rotos.

Las aberraciones observadas en los cromosomas pueden clasificarse en cromatídicas y cromosómicas: las primeras se realizan al ser expuestas a la irradiación las células con los cromosomas ya duplicados, o sea en los períodos S y G₂ (Fig. 1) que corresponden



(Evans y Scott, 1964)

Figura 1. - Tiempo de generación celular en células meristemáticas de *Vicia faba* usando timidina tritiada.

a la parte media y final de la interfase. Los rompimientos cromosómicos ocurren mientras las células están en el primer período de la interfase, o sea en G_1 (Fig. 1). Según Evans y Scott (1964) encontraron que el ciclo de generación total del haba, a 19°C , es de 19.3 horas; llegando a la conclusión que el período G_1 duraba 4.9 horas; el período S, 7.5 horas; el G_2 4.9 horas y la mitosis, 2.0 horas (Fig. 1).

El registro de las aberraciones se efectúa en general, en metafase, que es el estado en el cual los cromosomas se encuentran perfectamente individualizados; también se puede analizar en anafase, aunque la observación es menos precisa que en el estado antes mencionado. En interfase existe la posibilidad de detectar la presencia de micronúcleos (Fig. 3, p. 8).

Las alteraciones cromatídicas y cromosómicas conducen a la producción de las siguientes aberraciones:

a) DEFICIENCIAS O DELECCIONES. - Consisten en la pérdida de porciones del cromosoma y de los genes incluidos; éstas pueden ser intersticiales o distales. Si las pérdidas son sumamente pequeñas, no es posible evidenciarlas citológicamente y pueden confundirse con simples mutaciones de punto; si son más grandes, letales dominantes.

b) DUPLICACIONES. - Se deben a porciones cromosómicas repetidas más de una vez en la genoma; estas aberraciones son menos



Figura 2. - Metafase normal detenida con colchicina (c. metafase), de una célula meristemática de la raíz de Vicia faba; el complemento cromosómico $2n$ está constituido por un par de cromosomas con largo brazo, corto organizador nucleolar, centrómero y constricción secundaria. Además de 5 pares de cromosomas telocéntricos.

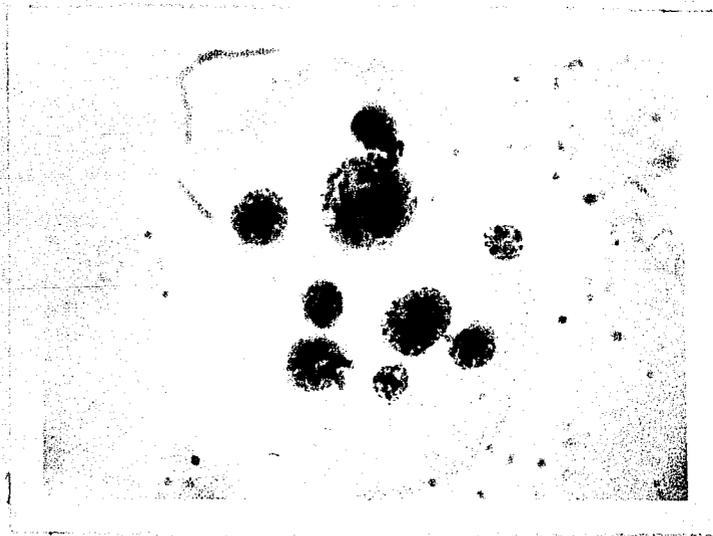


Figura 3. - Célula meristemática en interfase con micronúcleos debidos al tratamiento con Rayos X.

letales que las deficiencias y pueden tener efectos visibles sobre el genotipo.

c) INTRACAMBIOS. - Estos pueden verificarse dentro de una cromátida o entre cromátidas hermanas. El primero ocurre cuando se verifican dos rompimientos y el fragmento intersticial gira 180° para reunirse con los extremos rotos del cromosoma, legítimamente. Si estas inversiones involucran al centrómero, se denominan PÉRICEN-TRICAS, pero cuando el centrómero no interviene en la aberración se les llama PARACENTRICAS. En algunos casos el fragmento intersticial, producido, cierra sus extremos libres formando así un anillo acéntrico. (Fig. 4, p. 10).

Cuando los rompimientos se producen en las cromátidas hermanas, puede sucederse una reunión de tipo simétrico en la cual se producirán duplicaciones y deficiencias de genes (explicadas en párrafos anteriores). Si la reunión es de tipo asimétrico, se formarán los anillos con centrómero (Figs. 5 y 6, pp.10 y 11)(Tabla 1, II). Al duplicarse el centrómero existe la posibilidad de que cada uno de ellos vaya a una de las células hijas, dando lugar a la formación de puentes anafásicos (Fig. 7, p. 11). Otro tipo de anillo resultará al ocurrir dos impactos (en período G_1) en diferentes brazos del mismo cromosoma; los extremos proximales al centrómero se reúnen formando así dicho anillo, el cual, al pasar por la etapa S se duplicará.



Figura 4.- Anillo cromosómico acéntrico y en segundo plano el resto de los cromosomas agrupados.



Figura 5.- Anillo cromatídico (intracambio asimétrico) y un fragmento, marcados con flechas.



Figura 6.- Par de Anillos cromatídicos (reunión asimétrica entre las cromátidas) y dos fragmentos de unión asimétrica distal.



Figura 7.- Puente anafásico doble, debido a la formación de un cromosoma dicéntrico.

TABLA I - ABERRACIONES CROMATICAS

| CROMOSOMA CONFIJTO | ROMPIJIENTO | NEUTAJISE (Tipo de aberracion) | ANALJISE (Tipo de aberracion) | P. RECIBIDO | | | | |
|--------------------|-------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| X | X | X | ROMPIJIENTO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 1 IMPACTO | ROMPIJIENTO | |
| | | X | ROMPIJIENTO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO | |
| X | X | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 1 O 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 1 O 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 1 O 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | X | X | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| X | X | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |
| | | X | INTERCAMBIO CROMATJIDICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO | |

TABLA II - ABERRACIONES CROMOSOMICAS

| CROMOSOMA CONFIJTO | ROMPIJIENTO | NEUTAJISE (Tipo de aberracion) | ANALJISE (Tipo de aberracion) | P. RECIBIDO | | | |
|--------------------|-------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------|-----------------|------------|------------------------|
| I | I | X | ROMPIJIENTO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 1 IMPACTO | ROMPIJIENTO |
| | | X | ROMPIJIENTO CROMOSOMICO DOBLE | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO |
| I | I | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO | 1 IMPACTO | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| I | I | X | ROMPIJIENTO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| II | II | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |
| | | X | INTERCAMBIO CROMOSOMICO | < > | FRAGMENTO DOBLE | 2 IMPACTOS | ROMPIJIENTO Y RECIBIDO |

En metafase es posible detectar esta aberración como un anillo doble, al igual que en anafase (Figs. 8 y 9, p. 13).

d) INTERCAMBIOS. - Se presentan al ocurrir dos rompimientos en diferentes cromosomas. Si el intercambio es simétrico se formarán las translocaciones, que pueden ser recíprocas si el intercambio se verifica entre los dos cromosomas o sencillas cuando el extremo distal de un rompimiento en un cromosoma se reúne al extremo proximal del otro y queda un fragmento acéntrico. Si el intercambio es simétrico, se reduce la visibilidad del organismo, pero si es asimétrico resulta generalmente letal a las células (Fig. 10, p. 14).

En caso que el intercambio sea asimétrico se formarán los cromosomas denominados DICENTRICOS, los cuales poseen dos centros meros en lugar de uno (Fig. 11, p. 14).

Otro tipo de aberraciones cromosómicas, son los llamados HUECOS, que no se presentan como discontinuidades claras de los cromosomas, sino como pequeñas regiones no tenidas. Evans (3) las ha caracterizado como porciones Feulgen negativas, similares a las constricciones nucleares normales. Taylor (44) las considera como regiones desespirilizadas de la cromátida. Lo cierto es que son aberraciones cromosómicas inestables, que se observan en metafase y en anafase, pero desaparecen de la célula al pasar por la interfase siguiente.



Figura 8.- Anillo cromosómico con centrómero (intracambio asimétrico).

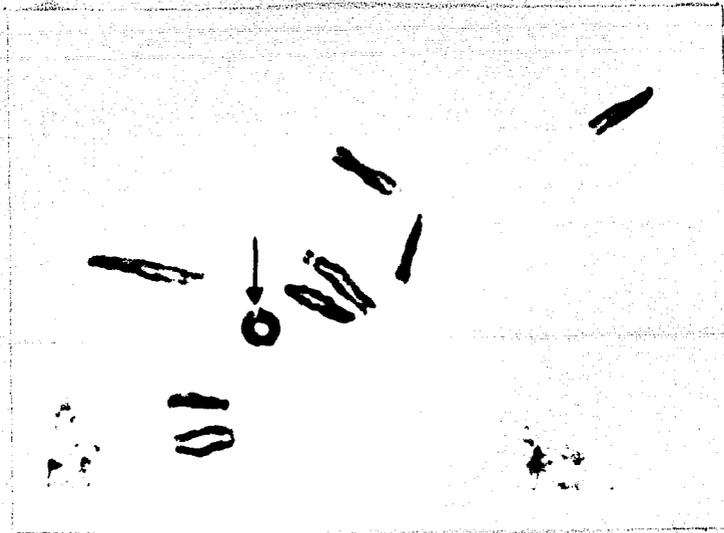


Figura 9.- Anillo cromosómico con centrómero.



Figura 10.- La flecha muestra un intercambio cromatídico simétrico entre las cromátidas de 2 cromosomas telocéntricos.

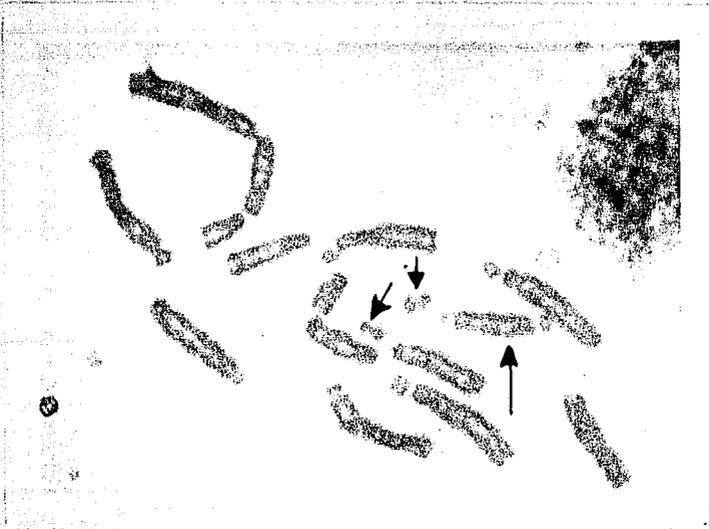


Figura 11.- Se observan 10 cromosomas normales, 1 dicéntrico marcado con una flecha y dos pares de fragmentos dobles, también marcados con flechas.

Los rompimientos cromatídicos y las pérdidas terminales (de lecciones) son aberraciones denominadas ('de un impacto') pues se supone que se forman por el paso de partículas ionizantes en un sitio dado del cromosoma Lea, (17) considera que un rompimiento se produce debido a un conjunto de ionizaciones. Las aberraciones de un impacto aumentan linealmente con la dosis de radiación (Figs. 12, 13, 14 y 15, p. 16 y 17).

Mediante algunos métodos ha sido posible aumentar o disminuir el daño causado por las radiaciones en los cromosomas: variación en la intensidad de la dosis, fraccionamiento de la dosis, centrifugación del material, irradiación en diferentes estados de la división celular, aplicación de la radiación ultravioleta en combinación con los Rayos X, cambios en el contenido de agua del material, acción de algunas sustancias químicas, cambios en la concentración del oxígeno intracelular, cambios de la temperatura, etc.

VARIACION EN LA INTENSIDAD DE LA DOSIS, FRACCIONAMIENTO DE LA MISMA. Sax (26) demostró que al administrar Rayos X a bajas intensidades, algunos rompimientos se restituían antes de que se produjeran otros, habiendo así menos rompimientos abiertos al mismo tiempo y en consecuencia, disminuyendo el número de intercambios producidos. El mismo autor (28) encontró que al fraccionar las dosis, el número de aberraciones de "dos impactos" era menor que el obtenido con



Figura 12.- Par de cromosomas, uno con un rompimiento cromatídico y el otro normal.

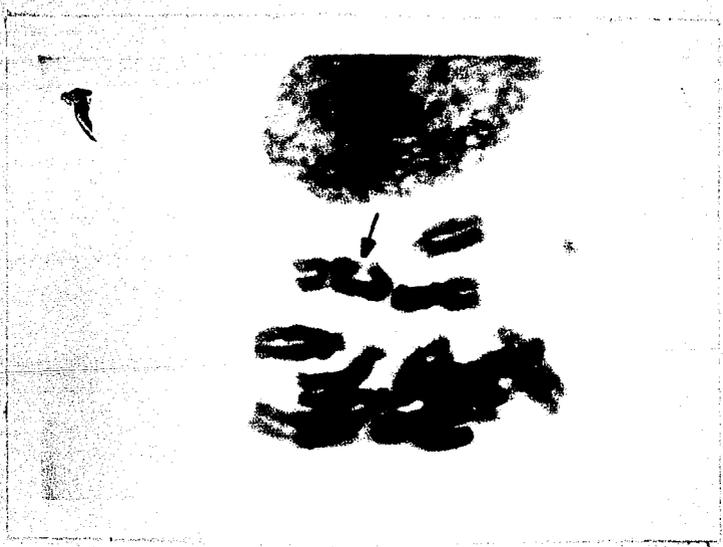


Figura 13.- Rompimiento cromatídico en el brazo corto de un cromosoma metacéntrico.

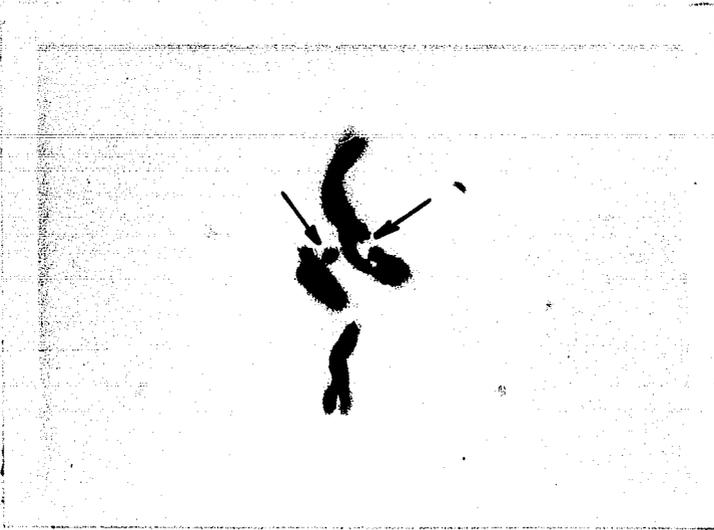


Figura 14. - Rompimiento cromatídico en el brazo corto de un cromosoma metacéntrico y fragmento (indicados con flechas).

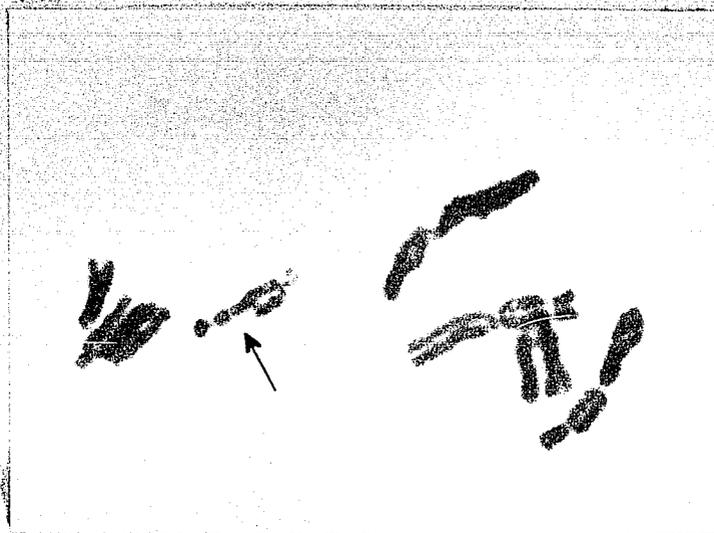


Figura 15. - Rompimiento, marcado con una flecha, en una cromátida de un cromosoma telocéntrico.

la misma dosis sin fraccionar, lo que no sucede para las aberraciones de "un impacto".

Fabergé (7) al obtener los mismos resultados, apoya las ideas de Sax. Ha sido reportado que el número de restituciones cromosómicas disminuye al centrifugar el material en el momento de la irradiación (Sax 29) y al aplicarlo como post-tratamiento (Wolff y Von Borstel 54). Los autores consideran que esto es debido a un disturbio mecánico que se traduce en una disminución de la frecuencia de restituciones y en el aumento de las aberraciones cromosómicas.

IRRADIACION EN DIFERENTES ESTADOS DE LA DIVISION CE-

LULAR. Sax y Swanson (31), observaron que la sensibilidad de las células a la irradiación fue mayor en la profase I temprana y media de la meiosis que en cualquier otro estado del ciclo celular de las microsporas de Tradescantia. Estos autores consideran que la meiosis es más sensible que la mitosis, debido a la diferencia en la espiralización de las cromátidas y cromosomas y a la estrecha asociación de las cuatro cromátidas en la meiosis, habiendo así mayores probabilidades de intercambio que en la mitosis.

Sparrow (35) encontró en Trillium erectum que las etapas de mayor sensibilidad en la meiosis, eran la profase I tardía (diploteno y diacinesis), la metafase I y la anafase I; además observó que las microsporas eran aproximadamente 50 veces más sensibles a la radiación en estas etapas que en interfase temprana.

APLICACION DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA EN COMBINACION CON LOS RAYOS X. Otro factor que modifica la respuesta de

los cromosomas a los Rayos X es la radiación ultravioleta. Swanson (37, 38, 39, 42) trató el polen de Tradescantia con rayos ultravioleta antes y después de la exposición a los Rayos X y en ambos casos se encontró una disminución en el número de aberraciones cromosómicas.

Kaufmann y Hollaender (15) reportaron también una disminución de los rearrreglos cromosómicos al someter a los espermatozoides de Drosophila melanogaster al tratamiento con luz ultravioleta de 2537 Å de longitud de onda, después de la irradiación con Rayos X.

Swanson (43) sugiere que la inhibición causada por los Rayos ultravioleta tienen un efecto directo de coagulación de la matriz de los cromosomas, favoreciendo en esta forma las restituciones.

CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE AGUA EN EL MATERIAL. Al irradiar semillas de cebada secas y húmedas, Gustaffson (14) observa en estas últimas mayor número de aberraciones; la explicación que da a este fenómeno es que al agregar agua a las semillas, éstas comienzan aumentando entonces su sensibilidad a la radiación.

A partir del descubrimiento de los efectos indirectos de la radiación causados por los productos de la ionización del agua, pareció razonable admitir que a mayor cantidad de agua, más daños se pro-

ducirían. Sin embargo, Ehrenberg, Nyvon y Caldecott (4) irradiando semillas con contenido de agua abajo de lo normal, encontraron más daños que cuando irradiaron en condiciones normales de humedad. Caldecott explica este fenómeno considerando que debe existir una cantidad de agua normal de hidratación en los sitios sensibles, probablemente DNA, lo que produce mayor estabilidad estructural y así mayor radioresistencia. Cabrero (1) concluye con respecto a este punto que deben existir cantidades críticas de agua, cuyo aumento o disminución incrementarán el efecto de la radiación.

ACCION DE ALGUNAS SUBSTANCIAS QUIMICAS. Existen algunas sustancias químicas como el KCN y el CO, cuya acción es inhibidora del metabolismo celular, ya que evita la formación del ATP. El uso experimental de estas sustancias en un tratamiento post-irradiación en semillas de Vicia faba, ha demostrado que el número de restituciones de los rompimientos cromosómicos disminuye, por lo que Wolff y Lulppold (55) creen que debe ser alta la cantidad de energía que se necesita para que la restitución se verifique.

También Wolff (49) al humedecer en 2-3 dimercaptopropanol (BAL) semillas de Vicia faba previamente a la irradiación, obtuvo una marcada disminución en el número de aberraciones de dos impactos, llegando a la conclusión que el efecto de anoxia producido por esta sustancia, se refleja también en el proceso de la restitución.

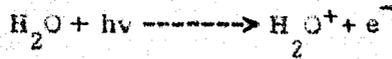
En trabajos posteriores Wolff y Luippold (55), Wolff y Atwood (53) y otros autores, han llegado a la conclusión que los enlaces fosfato de alta energía en el ATP, proporcionan la energía necesaria para la formación de uniones químicas fuertes indispensables para que se lleven a cabo los procesos de reunión y restitución en los cromosomas.

Marshak (18) observó al tratar raíces de Vicia faba con hidróxido de amonio, que la frecuencia de aberraciones cromosómicas, puede modificarse por diversos factores que tienen influencia en la frecuencia de los rompimientos, o en el proceso de la restitución. En el primer caso se encuentra el descubrimiento del efecto del oxígeno. En 1947, Thoday y Read publicaron un artículo mostrando que el daño de los Rayos X se reducía a un tercio cuando se verificaba anóxicamente. Posteriormente demostraron que no se producía este efecto si se usaban radiaciones de alto LET*, como las partículas alfa.

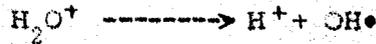
Estos resultados de acuerdo a lo obtenido en la radiólisis del agua, hacen pensar que tanto el peróxido de hidrógeno como los radicales libres producidos afectan a los cromosomas, aunque los mecanismos íntimos de acción no están completamente aclarados. Los

* LET energía lineal de transferencia, representa la cantidad de energía o el número de ionizaciones producidas por unidad lineal de trayectoria.

principales productos formados cuando las radiaciones inciden sobre el agua son bien conocidos. Esquemáticamente:



El ion H_2O^+ se disocia.



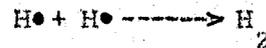
El electrón e^- puede ser capturado por otra molécula de agua.



que se disocia

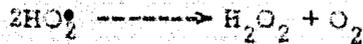
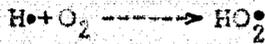


Las radiaciones de elevado LET (partícula alfa que forman 400 pares de iones por micrón) hacen posible que los radicales $\text{OH}\bullet - \text{OH}\bullet$ y $\text{H}\bullet - \text{H}\bullet$ estén más cercanos que los $\text{OH}\bullet - \text{H}\bullet$ favoreciendo con ello las siguientes reacciones:

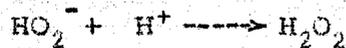
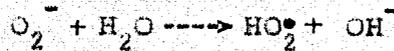
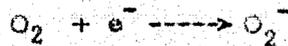


aquí la formación de H_2 y de H_2O_2 se realiza en la presencia de oxígeno o sin ella, mientras que la situación es diferente con las radiaciones X o Gamma (de bajo LET), pues al existir enormes espacios entre las ionizaciones, la formación de H_2O_2 se incrementa notablemente cuando hay oxígeno disuelto.

● Radical libre.



También es sabido que el oxígeno reacciona activamente con los electrones.



TEMPERATURA. El descubrimiento del efecto del oxígeno en el aumento de las aberraciones inducidas por Rayos X, hace pensar que la gran solubilidad de este gas a bajas temperaturas es la responsable de ese aumento, como lo comprobaron Giles, Beatty y Riley (13) en microsporas de Tradescantia. Este mismo material fue irradiado por Sax y Enzmann (30) a 30°C y reportan que el daño producido se redujo a la cuarta parte de lo obtenido a 3°C.

Caldecott y Smith (2) observaron que en semillas de cebada tratadas con calor, el daño disminuía notablemente, puesto que la frecuencia de puentes e intercambios cromatídicos era menor que a la temperatura ambiente.

Catcheside, Lea y Thoday (3) registraron la marcada dismi-

nución de los rompimientos isocromatídicos con el aumento de la temperatura.

Swanson y Yost (43) llegaron a la conclusión que tratando microsporas de Tradescantia con choques de temperatura de 46°C durante 30 segundos aplicados entre exposiciones de rayos infrarrojos y Rayos X, disminuía la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

Mickey (19) hacen notar que la frecuencia de intercambios cromosómicos al irradiar Drosophila a 4°C , es 2 veces mayor que cuando se irradia de 28° a 33°C . También pudo notar que la influencia de la baja temperatura aplicada a la espermia de Drosophila durante la irradiación, aumentaba la producción de translocaciones.

Fabergé (7, 8 y 9) reporta que al irradiar microsporas de Tradescantia a 30°C , el número de fragmentos es menor que a 15°C . Este mismo autor reportó que al irradiar el polen de Tradescantia a temperatura del aire líquido (-192°C), la sensibilidad de los cromosomas, medida por el número de rompimientos observados, es más o menos un quinto de lo obtenido a 25°C ; también supone que este método elimina el movimiento cromosómico y, por lo tanto, impide la reconstitución.

Villalobos-Pietrini (47, 48) al estudiar el efecto del post-tratamiento de diversas temperaturas (1° , 10° , 20° y 30°C) sobre la frecuencia de aberraciones cromatídicas, observa un aumento de

los rompimientos cromatídicos e isocromatídicos en el grupo de las temperaturas elevadas con lo cual demuestra la influencia de la temperatura en la producción de aberraciones en período G_2-S de la interfase (Fig. 19, 20) de las células de la raíz de Vicia faba bajo la acción de los Rayos X.

Esta tesis ha tomado como base el trabajo anterior y por ello se emplearon las mismas condiciones experimentales de irradiación, para conocer los efectos de la temperatura sobre la producción de aberraciones cromosómicas (fragmentos dobles, dicéntricos y anillos) producidas en el período G_1 del tiempo de generación celular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las semillas de Vicia faba L., variedad major, fueron colocadas para su germinación entre algodones húmedos en un cuarto a temperatura constante ($20^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Cuando aparecieron las raíces principales, al cabo de dos o tres días, las semillas en germinación, fueron transferidas a frascos con agua de la llave, en donde permanecieron hasta la aparición de cinco a diez raíces laterales que fueron utilizadas para la técnica citológica. Durante todo este tiempo se mantuvieron en la obscuridad para evitar la influencia del ritmo circadiano en la frecuencia de las mitosis.

Las semillas en germinación fueron irradiadas por pares sobre algodón húmedo con el objeto de mantenerlas en buen estado. Se utilizó como fuente de Rayos X un aparato Siemens Stabilipan que operó a 250 kv, 15 mA con filtro de 0.05 mm de cobre.

La dosis total fue de 150 R a una distancia de 50 cm de la fuente al haba. La intensidad de exposición fue de 60 R/minuto. Las dosis fueron controladas mediante un dosímetro Siemens Universal.

Después de la irradiación se aplicó el tratamiento de dos grupos de temperatura, bajas ($1^{\circ} - 10^{\circ}\text{C}$) y elevadas ($20^{\circ} - 30^{\circ}\text{C}$) las habas se mantuvieron en agua de la llave a esas temperaturas durante

una hora y fueron luego regresadas a los frascos con agua de la llave a 20°C, asegurándose su sitio en los mismos mediante un alambre con el que se traspasaron los cotiledones, permaneciendo en esta situación hasta el momento en que se les aplicó la técnica citológica. El agua de los frascos fue cambiada cada tercer día.

Las técnicas citológicas se verificaron a diversos tiempos de fijación después de la irradiación (de 4 a 72 horas, cada 4 horas, con algunas excepciones), siendo observado un mínimo de 200 células en metafase para cada uno de los puntos incluidos en cada grupo de temperatura (Figs. 16, 17, 18).

La técnica citológica utilizada para la observación de los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* fue la de Villalobos-Pietrini (46).

PROCEDIMIENTO

- 1.- Corte de 2 mm aproximadamente, de las puntas de las raíces laterales.
- 2.- Aplicación de colchicina al 0.1% por 4 horas.
- 3.- Hidrólisis con HCL N a la temperatura ambiente por 8 minutos.
- 4.- Inmersión en solución 1*, 10 minutos.
- 5.- Paso a solución 2**, 4 minutos.

6.- Presión (squash) en una gota de ácido acético al 45% sobre el cubreobjetos por medio de una goma de lápiz.

Después, las preparaciones se hicieron permanentes, colocándolas por algunos minutos en hielo seco (Conger y Fairchild) separando el cubreobjetos con un bisturí y sumergiéndolo en alcohol de 95%, alcohol absoluto y alcohol batífico y finalmente montando la preparación en bálsamo de Canadá.

Solución 1 * : Disolver 3 g de orceína sintética (G. T. Gurr) en 100 cc de ácido acético al 70%; calentar y filtrar.

Solución 2 ** : Disolver 2 g de orceína sintética (G. T. Gurr) en 100 cc de ácido acético al 60% y agregar 2.5 g de Verde Janus B (Matheson Coleman and Bell), calentar y filtrar.

RESULTADOS

En este trabajo se reportan las frecuencias de las aberraciones producidas en más de 2000 células para dos grupos de temperaturas, elevadas (20°-30°C) y bajas (1° - 10°C).

TABLA III

Total de aberraciones cromosómicas producidas por 150 R de Rayos X con post-tratamiento de una hora a temperaturas altas y bajas va lores de t para los dos grupos de temperaturas.

| Post. Trat. | Total de F D | Total de Dic | Total de A | FD en 100 cels. \pm E.S. | Dic en 100 cels \pm E.S. | A en 100 cels. \pm E.S. |
|-------------|---------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 1°-10° | $\frac{1112}{2254}$ | $\frac{72}{2254}$ | $\frac{21}{2254}$ | 48.44 \pm 1.46 | 3.19 \pm 0.38 | 0.93 \pm 0.20 |
| 20°-30° | $\frac{659}{2403}$ | $\frac{63}{2403}$ | $\frac{13}{2403}$ | 35.75 \pm 1.22 | 2.62 \pm 0.33 | 0.54 \pm 0.15 |

Grados de libertad ∞

Valores de t $1.38 < t < 0.05$ $0.25 < t < 0.05$ $0.35 < t < 0.05$

FD = Fragmentos dobles.

Dic = Dicéntricos

A = Anillos.

cels. = células.

La Tabla III muestra el total de las aberraciones producidas por el error "standard" (E. S.). El método estadístico utilizado para comparar el efecto de la temperatura en la frecuencia de las aberraciones fue el de t de Student, que permite establecer la significatividad de los valores promedio de los dos grupos analizados, el cual se calculó tomando en cuenta el grado de significatividad de 5%, ya que de esta manera se comprende al 95% de la población total, lo cual se adapta al tipo de experimentación que aquí verificamos:

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{X}_1}{E. S.}$$

donde \bar{X} es el promedio de las aberraciones observadas en un grupo.

\bar{X}_1 es el promedio de las aberraciones del segundo grupo.

E. S. es el error "standard" de la diferencia media, el cual se obtiene:

$$E. S. = \sqrt{\bar{X} + \bar{X}_1}$$

En la Tabla III y la Fig. 16, p. 31, se observa que no hay diferencia significativa en las frecuencias de fragmentos dobles de los datos obtenidos con el post-tratamiento a temperaturas bajas y elevadas.

En la Fig. 16, se distribuyen gráficamente los porcentajes acumulados de fragmentos dobles desde el momento de la irradiación

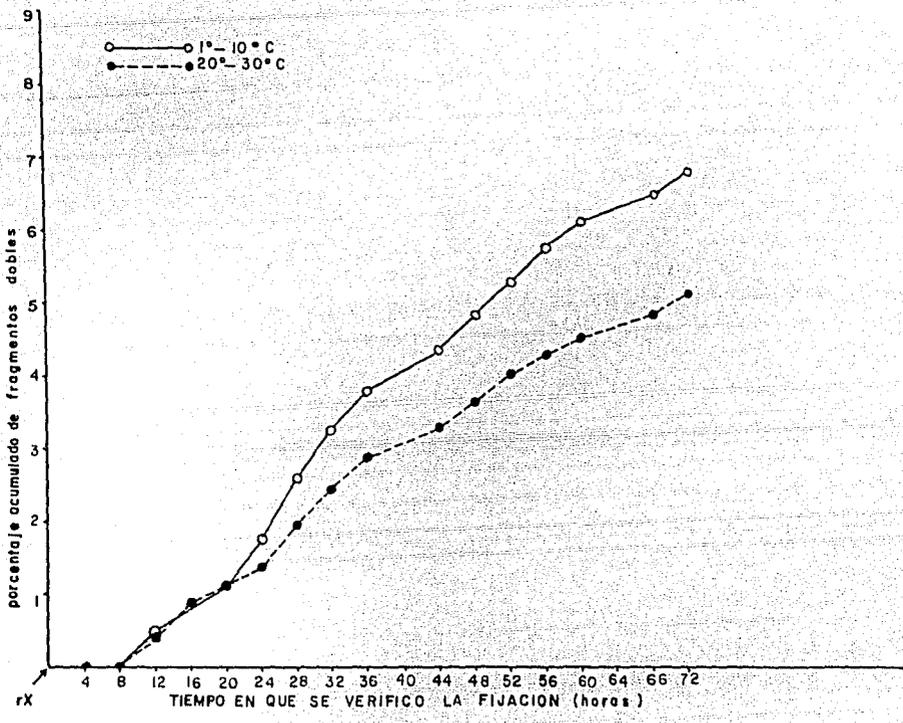


Figura 16.- Porcentaje acumulado de fragmentos dobles, en los dos grupos de temperaturas, rX aplicación de los Rayos X.

hasta las 72 horas. A los datos totales se les aplicó la prueba de t (Tabla III) considerándose las diferencias no significativas.

El mismo criterio fue aplicado para las aberraciones de doble impacto. En los dicéntricos cuya distribución acumulada se puede observar en la Fig. 17, p. 33, tampoco se encontraron diferencias significativas de t entre los dos grupos de post-tratamiento de temperatura. Los anillos que también son aberraciones de doble impacto, se presentan en la Fig. 18, p. 34, y al igual que en las demás aberraciones que aparecen en el perfil G_1 , el valor de t está incluido dentro del esquema de datos no significativos.

Además se analizaron las frecuencias de las aberraciones de dos impactos por célula, obteniéndose el número aproximado de SITIOS DE REUNION ILEGITIMA. Solamente se observan dos células con dos dicéntricos en las 4657 células analizadas, mientras que en registro de los anillos no se reportó más de un anillo por célula. De lo anterior podemos concluir que existen dos sitios de reunión ilegítima por célula como máximo. El número máximo de fragmentos dobles encontrados por célula fue de cinco (Tabla IV).

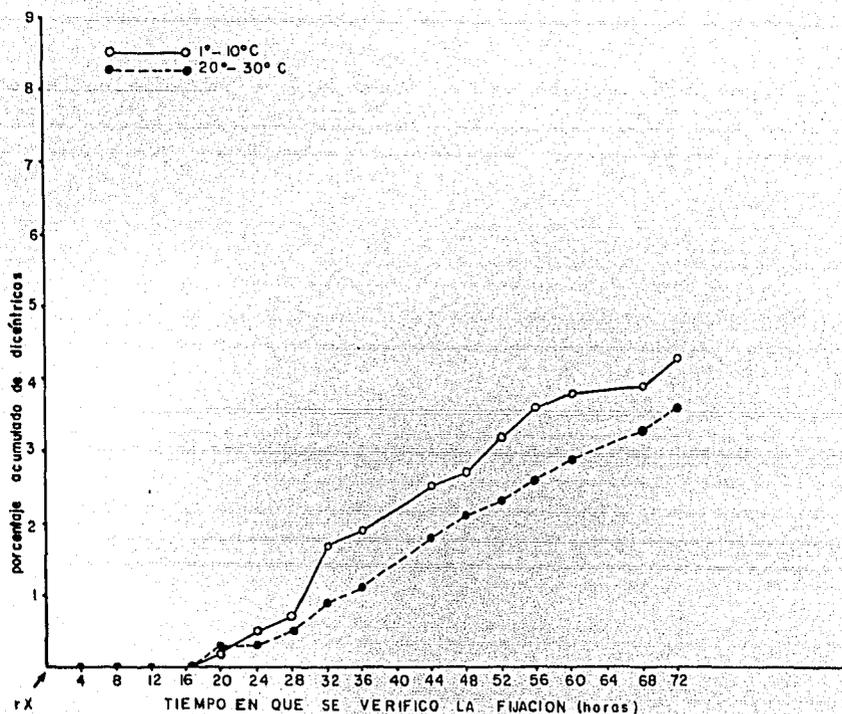


Figura 17.- Porcentaje acumulado de dicéntricos en las temperaturas bajas y elevadas. rX momento en que se aplicaron los Rayos X.

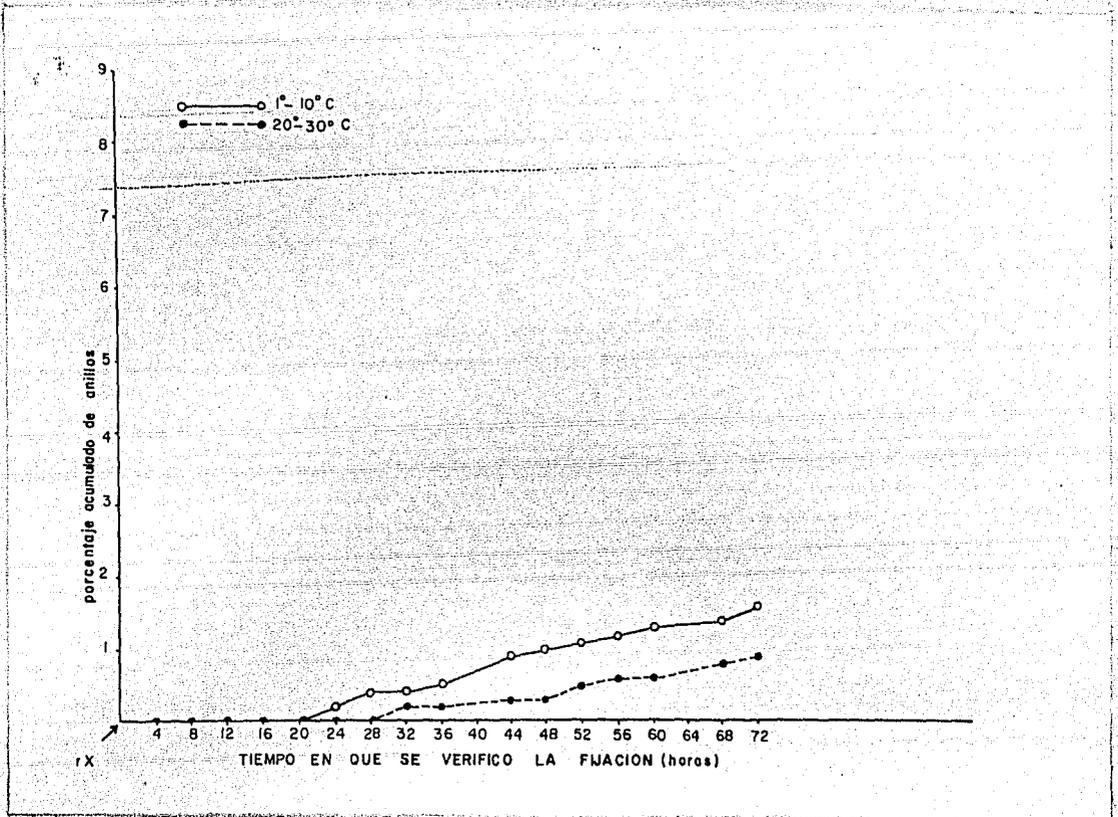


Figura 18.- Porcentaje acumulado de anillos para los dos grupos de temperaturas. rX aplicación de los Rayos X.

TABLA IV. FRECUENCIA DE ABERRACIONES POR CELULA

| Post-tratamiento de temperatura | Tipo de aberración | No. de céls. con 0 aberraciones | No. de céls. con 1 aberración | No. de céls. con 2 aberraciones | No. de céls. con 3 aberraciones | No. de céls. con 4 aberraciones | No. de céls. con 5 aberraciones |
|------------------------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 ^o -10 ^o C | F D | 668 | 185 | 131 | 25 | 5 | 1 |
| | Dic | 668 | 36 | - | - | - | - |
| | A | 668 | 24 | - | - | - | - |
| 20 ^o -30 ^o C | F D | 774 | 198 | 82 | 16 | 2 | 1 |
| | Dic | 774 | 31 | 1 | - | - | - |
| | A | 774 | 7 | - | - | - | - |

F D = Fragmentos dobles

Dic = Dicéntricos

A = Anillos

cel. = células.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el trabajo de Villalobos-Pietrini y colaboradores (48) se presentan evidencias de que las mayores frecuencias de aberraciones cromatídicas, aparecen a las 8 horas después de la irradiación, momento a partir del cual dichas frecuencias van siendo menores a medida que se alarga el período de tiempo comprendido entre la exposición a los Rayos X y la fijación del material para ser observados. Al acercarse las 48 horas tales aberraciones cromatídicas prácticamente han desaparecido. Evans y Scott (16), mediante el uso de timidina tritiuma en células meristemáticas de Vicia faba, logran determinar que el ciclo de generación celular a 19°C es de 19.3 horas; también registraron la duración de las diferentes etapas estableciendo que la mitosis dura 2.0 horas, el período G₁ 4.9 horas, el S, 7.5 horas y el G₂, 4.9 horas. Comparando esto con lo analizado en el trabajo de Villalobos-Pietrini, puede llegarse a la conclusión que efectivamente al aplicar 150 R de Rayos X se produce retardo mitótico. También es notable que aunque la temperatura no influye demasiado en el retardo, puesto que casi todos los máximos aparecen a las 8 horas, al comparar los grupos de temperaturas altas y bajas, se presenta más alargado el período de producción de aberraciones cromatídicas en el segundo grupo que en el primero. Esto se demuestra al observar los denominadores de los totales de las

diferentes aberraciones (Tabla V), la que indica que fue necesario extender el tiempo de análisis por un mayor número de horas. Savage y Evans (27) al estudiar el índice mitótico* de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba a 3°C, consideran que en las 4 primeras horas del tratamiento, no se producen variaciones importantes del mencionado índice con respecto a los controles. De lo anterior puede deducirse que en nuestro experimento el retardo mitótico se debe en su mayor parte a los efectos de la radiación y en una pequeña porción a las bajas temperaturas (Tabla V). El retardo mitótico también se manifiesta en las aberraciones cromosómicas producidas en el período G_1 , puesto que las frecuencias máximas se obtienen entre las 24 y las 26 horas posteriores a la irradiación. Como ya se indicó, el período G_1 en los meristemas normales es 4.9 horas y en nuestro estudio se extiende desde las 12 horas después de la irradiación hasta las 72 horas.

Con el objeto de obtener un índice de la sensibilidad diferencial de los períodos G_2 , S y G_1 , se hace la comparación de los promedios de las aberraciones producidas en cada uno de ellos (Tablas III y V). El porcentaje total de aberraciones para G_2 y S fue de 70%, mientras que para G_1 fue de 46%; así,

$$\frac{\text{aberraciones en S + } G_2}{\text{aberraciones en } G_1} = 1.42$$

* Índice mitótico es el porcentaje de células en mitosis en la población total.

Este cálculo nos permite concluir que el período $G_2 + S$ es más sensible a los 150 R de Rayos X que el G_1 por un factor de 1.42. Sax y Swanson (31) encuentran que los cromosomas mitóticos en Tradescantia son 2 veces más sensibles a la radiación que los de Allium; también reportan que en Tradescantia la profase I temprana y media de la meiosis, son los estados más sensibles a la radiación, en comparación con cualquier otro período del ciclo de generación celular.

Sparrow (35) observó en Trillium erectum que también la profase I temprana de la meiosis, era el estado más sensible a las radiaciones que cualesquiera otro del ciclo de generación celular. Reporta que la profase I temprana de la meiosis es 50 veces más sensible que las etapas tempranas de la interfase. También consideró que la sensibilidad de una célula a la radiación depende, en un momento dado, del grado de espiralización del DNA, del contenido de agua, de la tensión de oxígeno, etc.

De todo esto se puede concluir que los períodos más sensibles a la radiación son el G_2 en la mitosis y la profase temprana en la meiosis.

Catcheside, Lea y Thoday (3) han reportado un ligero aumento en la frecuencia de los rompimientos cromatídicos en las microsporas de Tradescantia, cuando se le aplican temperaturas de 1°C , en

el momento de la irradiación. Villalobos-Pietrini (48) obtiene resultados contrarios usando post-tratamiento de 1 hora de temperatura a 1° , 10° , 20° y 30°C , encontrando que tanto los rompimientos cromatídicos como los isocromatídicos, son más frecuentes a las temperaturas que a las bajas. Esto coincide con lo reportado por Sax y Enzmann (30) quienes al aplicar temperaturas de 30°C en el momento de la irradiación, también obtienen un aumento en los rompimientos cromatídicos en los cromosomas de las microsporas de Tradescantia. Al aplicar a nuestros datos sobre las aberraciones cromosómicas de un impacto denominadas fragmentos dobles, el método estadístico de la "t de Student", se concluye que la temperatura no tiene efecto sobre la producción de dichos rompimientos (Fig. 16, p. 31).

Como se ve en la Tabla V, en las aberraciones cromatídicas inducidas en los períodos G_2 y S, sólo en los casos de rompimientos cromatídicos e isocromatídicos, se pueden apreciar diferencias significativas. Para los huecos, intercambios cromatídicos e intercambios isocromatídicos (Tabla V, Figs. 19, 20, 21, 22 y 23, p. 40-44) no se encontraron diferencias significativas entre los promedios obtenidos a temperaturas altas y bajas, concluyéndose que el post-tratamiento de temperatura solamente tiene influencia en algunas de las aberraciones de tipo cromatídico formadas en el período $G_2 + S$.

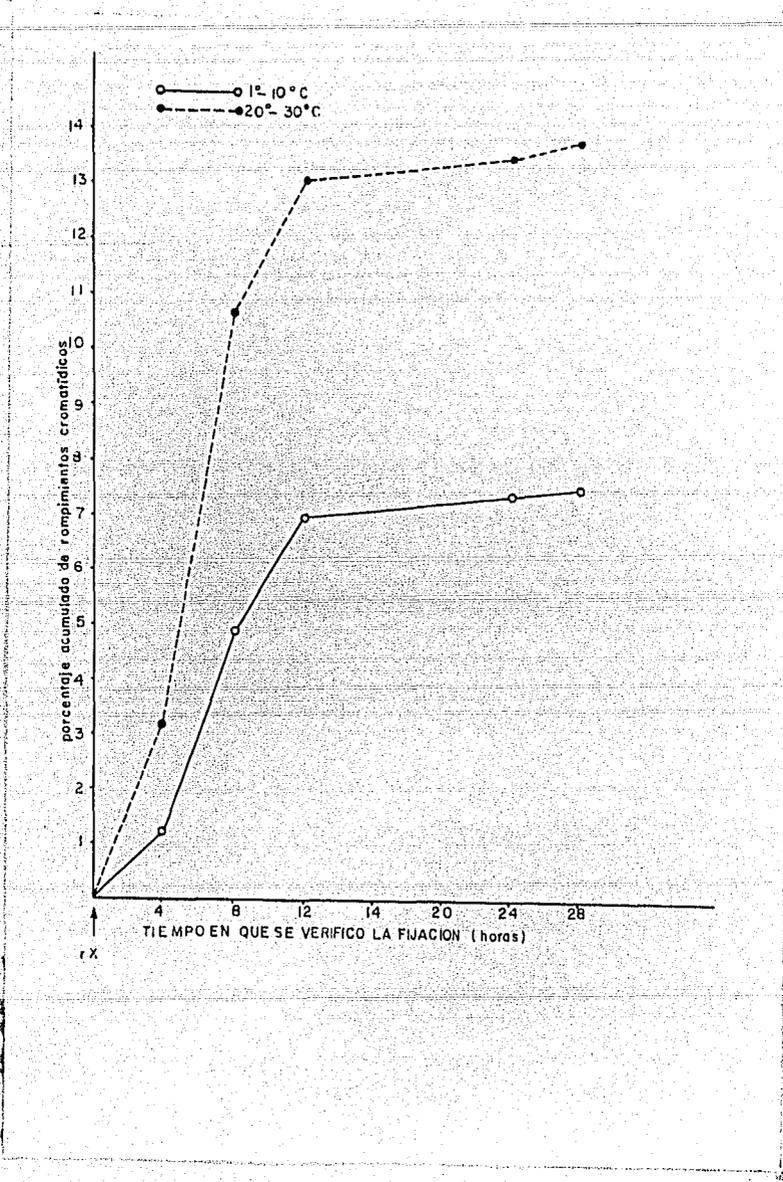


Figura 19. - Porcentaje acumulado de rompimientos cromatográficos en los dos grupos de temperaturas (bajas y elevadas). X momento de aplicación de los Rayos X.



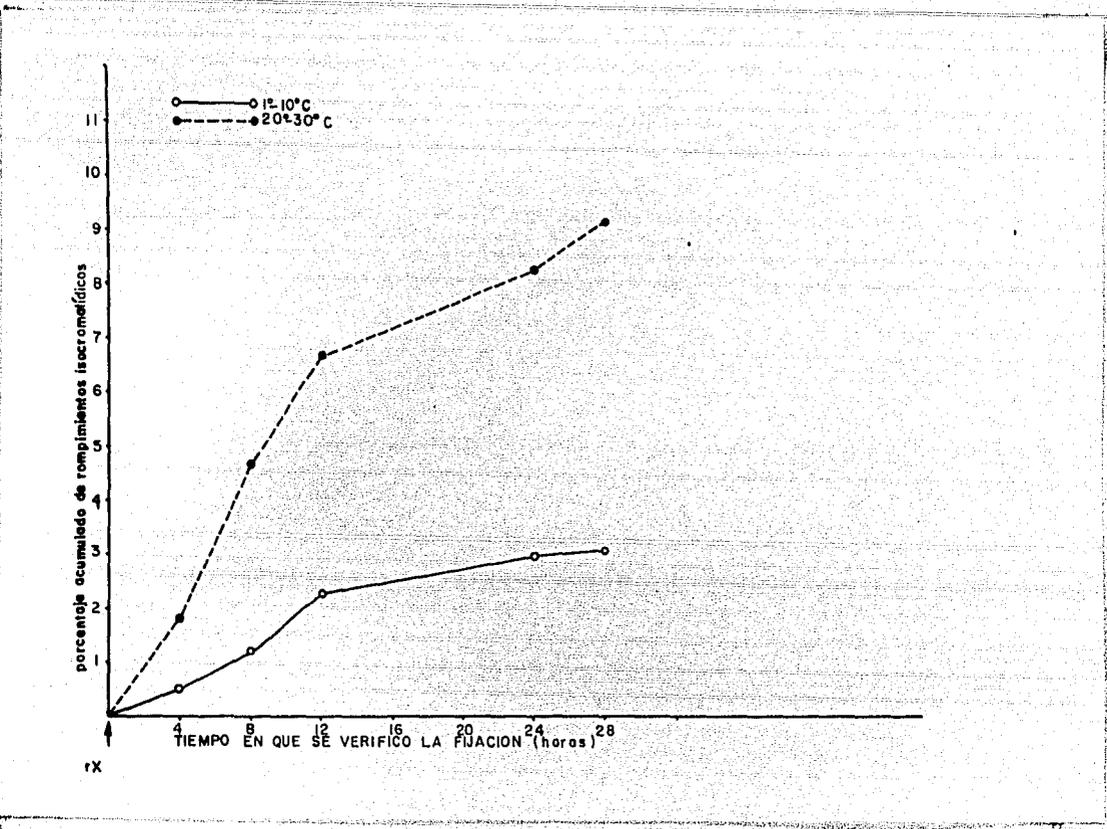


Figura 20.- Porcentaje acumulado de rompimientos isocromáticos en los dos grupos de temperaturas. rX aplicación de los Rayos X.

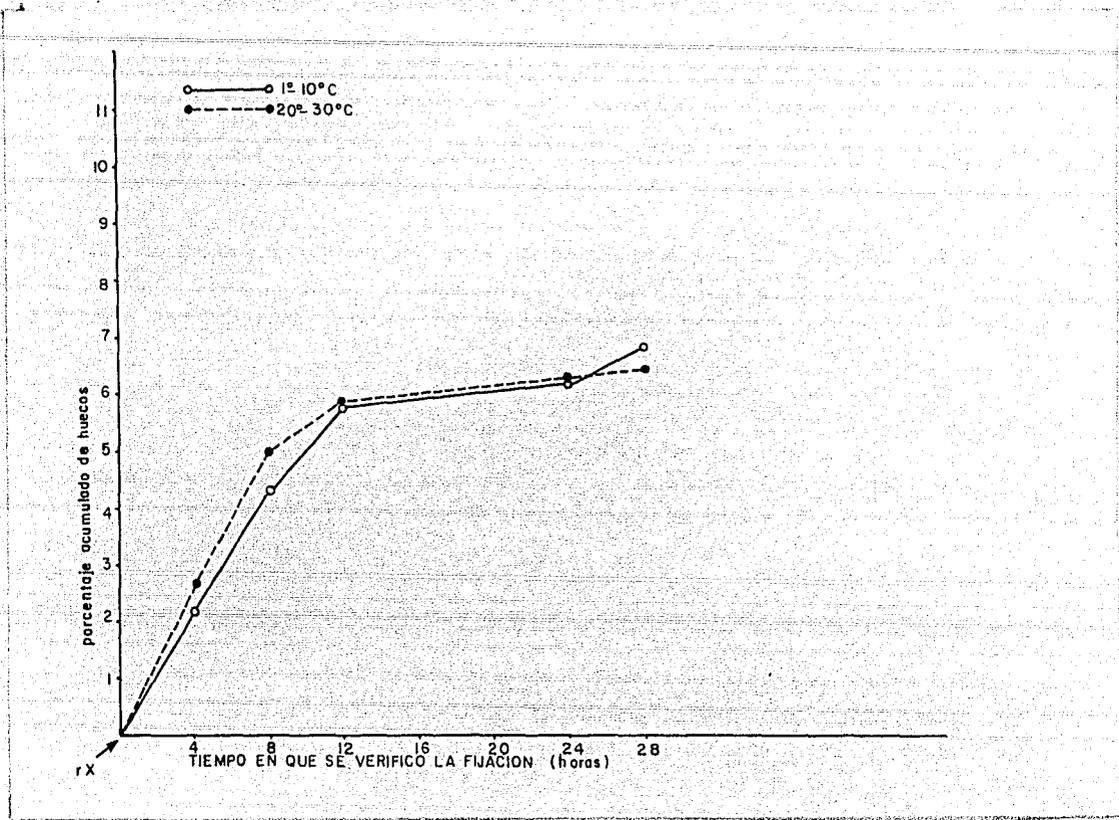


Figura 21.- Porcentaje acumulado de huecos para temperaturas bajas y elevadas. rX aplicación de los Rayos X.

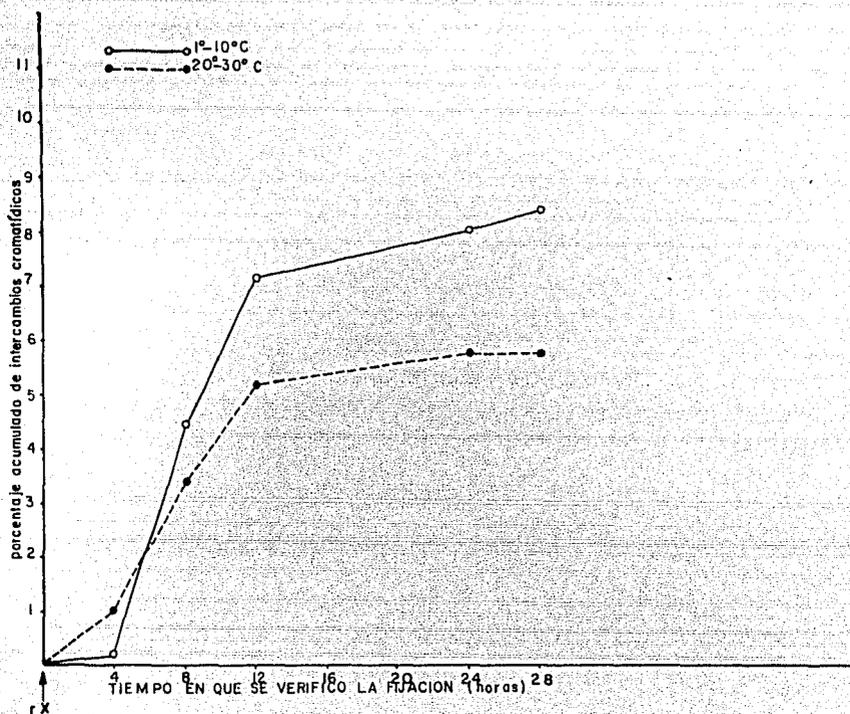


Figura 22.- Porcentaje acumulado de intercambios cromatográficos para los dos grupos de temperaturas (bajas y elevadas). rX aplicación de los Rayos X.

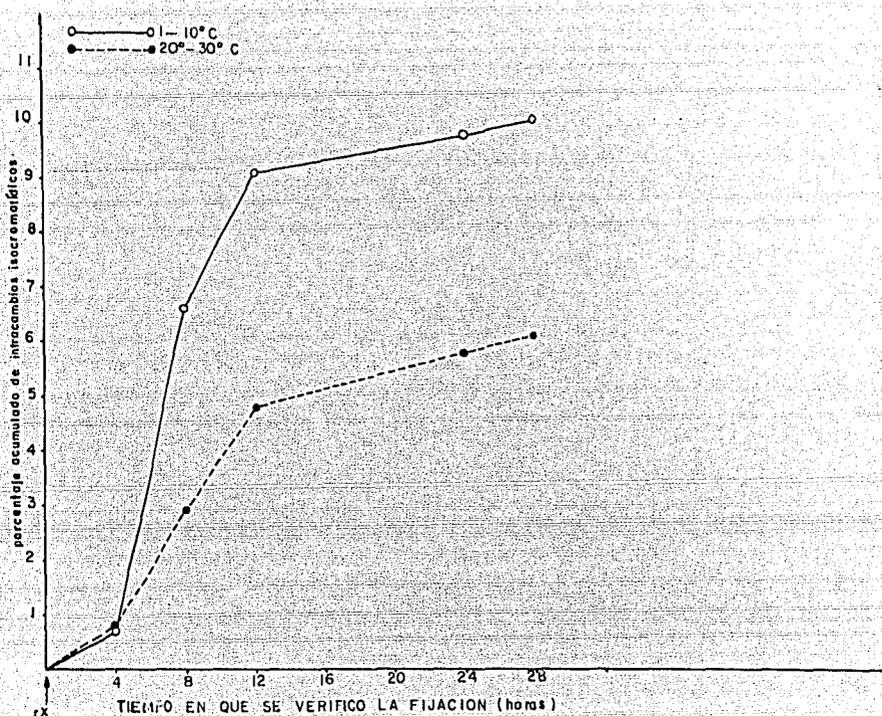


Figura 23.- Porcentaje acumulado de intercambios isocromatíacos para los dos grupos de temperaturas. rX aplicación de los Rayos X.

Los fenómenos descritos son sumamente difíciles de explicar, pero creemos que los únicos resultados significativos sugieren que la disminución del movimiento molecular permite una mayor restitución a bajas temperaturas. Además, el aumento del movimiento molecular disminuye las restituciones debido a su influencia sobre los enlaces de tipo iónico que Wolff (50) consideró de actividad inmediata, mientras que no puede tener ningún efecto en los que ha considerado de mayor latencia (enlaces de tipo covalente, que necesitan mayores energías para reunirse). Esta podría ser una explicación al aumento de rompimientos cromosómicos e isocromosómicos encontrado. Las diferencias de comportamiento entre las aberraciones de un impacto de los períodos G_1 y $G_2 + S$ (fragmentos dobles y rompimientos cromosómicos e isocromosómicos respectivamente) pudieron deberse a la mayor sensibilidad del período $G_2 + S$ sobre la etapa de G_1 como se demostró en el índice de sensibilidad. Esto, en parte, pudiera estar incluido por las diferentes condiciones encontradas en dichos períodos, como son el contenido de agua, el grado de espiralización del DNA, las diferencias en el metabolismo celular, etc.

En lo referente a las aberraciones de dos impactos, como los dicéntricos (intercambios asimétricos) y los anillos (intracambios asimétricos), se comprobó también mediante el mismo método estadístico que los datos obtenidos reflejan la no influencia de la temperatura sobre

la frecuencia de dichas aberraciones. Al hacer comparaciones de estos datos con los reportados por Villalobos-Pietrini (48), notamos que en las frecuencias de las aberraciones de dos impactos (intracambios isocromatídicos e intercambios cromatídicos) del período $G_2 + S$, tampoco influye el post-tratamiento de la temperatura. Con lo anteriormente expuesto se puede asegurar que prácticamente el post-tratamiento de 1 hora con temperaturas diversas, no surte efectos significativos en las frecuencias de las aberraciones inducidas en el período G_1 . Es notable que excepto para los rompimientos cromatídicos e isocromatídicos, en todas las demás aberraciones se observa que aunque no son significativas las diferencias, son mayores las frecuencias de ellas a temperaturas bajas ($1^{\circ} - 10^{\circ}C$) que a altas ($20^{\circ} - 30^{\circ}C$), Figs. 19, 20, 21, 22 y 23, p. 40-44.

En cuanto a huecos (Fig. 21), al igual que en los fragmentos dobles, no se observan diferencias significativas en los resultados. Su distribución es distinta a la de los rompimientos cromatídicos (Fig. 19), lo que apoya el criterio de Revell (21, 22) que hace la separación de los rompimientos cromatídicos y los huecos en base a su distribución de acuerdo a la relación dosis-frecuencia (se sabe que los huecos aumentan linealmente con el incremento de la dosis de radiación, no así los rompimientos cromatídicos que la aumentan casi al cuadrado del valor de la dosis).

Con los primeros trabajos sobre la frecuencia de las aberraciones de dos impactos, se había llegado a la conclusión que estas aberraciones se incrementaban con el cuadrado de la dosis. En trabajos más recientes de Revell (25), Wolff (52), Evans (6), Savage (26) y otros autores, comprobaron en microsporas de Tradescantia y en meristemos de Vicia faba, que dichas aberraciones no aumentan con el cuadrado de la dosis, como se esperaba en la teoría del Blanco, sino que lo hacen al 1.5, 1.7 y 1.8 según la intensidad de la dosis usada. Revell (25) encuentra valores de 1.7 para los rompimientos cromatídicos simples, 1.5 para los rompimientos isocromatídicos, 1.07 para huecos y 2.0 para intercambios cromatídicos.

Considerando como SITIO, los lugares dentro del núcleo donde los hilos cromosómicos están dentro de la distancia de reunión (Savage , 26), encontramos que por célula, la mayor frecuencia de los sitios es de 1 y de 2 como máximo (Tabla IV). Esto concuerda con el análisis de Atwood y Wolff (53) y de García Benítez y Wolff (11) de que existen como máximo dos sitios de reunión ilegítima.

TABLA V

Total de aberraciones cromatídicas producidas por 150 R de Rayos X con post-tratamiento de 1 hora a temperaturas bajas y altas. Valores de t para los dos grupos de temperatura.

| Post-tratamiento | Total | | Total | | Total | | Total | | Total | |
|------------------|-------|------|-------|---------|---------|------|-----------|------|-----------|---------|
| | R C | H | R I | Intra I | Inter C | R C | H | R I | Intra I | Inter C |
| | 1000 | | 900 | | 1000 | | 100 cels. | | 100 cels. | |
| | | | | | | | E. S. | | E. S. | |
| 10°-10° | 147 | 177 | 61 | 199 | 171 | 14.7 | 16.1 | 6.8 | 19.9 | 14.3 |
| | 1000 | 1000 | 900 | 1000 | 1200 | 1.18 | 1.21 | 0.82 | 1.41 | 1.09 |
| 20°-30° | 274 | 133 | 181 | 120 | 114 | 30.5 | 14.8 | 20.1 | 13.3 | 14.3 |
| | 900 | 900 | 900 | 900 | 800 | 1.82 | 1.28 | 1.47 | 1.23 | 1.37 |

Grados de libertad

Valores de 2.34

0.23

2.6

1.1

$\bar{X} - \bar{X}_1$

t

$t_{0.05}$

$t_{0.05}$

$t_{0.05}$

$t_{0.05}$

R C = rompimientos cromatídicos

H = huecos.

R I = rompimientos isocromatídicos.

Intra I = intercambios isocromatídicos

Inter C = Intercambios cromatídicos.

cels. = células.

BIBLIOGRAFIA

1. - CABRERO, L. M., 1966. Estudio de la radiosensibilidad de tres especies de trigo. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U.N.A.M.
2. - CALDECOTT, R. S. and SMITH, L. W., 1952. The influence of heat treatment on the injury and cytogenetics effects of X-rays on barley. *Genetics* 37 136-157.
3. - CATCHESIDE, D. C., LEA, D. E. and THODAY, J. M. 1946. The production of chromosome structural changes in *Triticum aestivum* microsporas in relation to dosage, intensity and temperature. *J. Genetics* 47: 137-149.
4. - EHRENBERG, L., and NYBOM, N., 1954. Ion density and biological effectiveness of radiation. *Acta. Agr. Scand.*, 4: 396-410.
5. - EVANS, H. J. 1963. Chromosome aberrations and target theory. En radiation induced chromosome aberrations (Edit. S. Woff) pp. 8-40.
6. - ----- 1966. Repair and recovery from chromosome damage after fractionated X-Ray dosage. En *Genetical aspects of radiosensitivity: Mechanism of repair*, pp. 31-48. I.A.E.A., Vienna.

- 7.- FABERGÉ, A. C., 1940. An experiment on chromosome fragmentation in Tradescantia by X-rays. J. Genetics 39: 229-248.
- 8.- ----- 1946. Chromosome aberrations in Tradescantia produced by X-ray treatment at liquid air temperature. Genetics 33: 609.
- 9.- ----- 1950. Chromosome breakage by X-ray at low temperature and the radiosensitivity of water. 35: 104-105.
- 10.- FISHER, R. A. and YATES, F., 1963. Statistical tables for biological agricultural and Medical Research. Sixth Edition. Oliver and Boyd. London.
- 11.- GARCIA BENITEZ, C. and WOLFF, S., 1962. On the increase of sites for chromosome exchange formation after chromosome duplication. Science 135: 438-439.
- 12.- GILES, N. H., 1954. Radiation induced chromosome aberrations in Tradescantia. In Radiation Biology. Vol. 1, pp. 713-761 (Edit. A. Hollaender). McGraw-Hill, New York.
- 13.- GILES, N. H., BEATTY, A. V. and RILEY, H. P., 1951. The relation between the effects of temperature and oxygen on the frequency of X-Ray induced chromosome aberrations on Tradescantia microspores, Genetics 36: 552-553.
- 14.- GUSTAFSSON, A., 1937. The different stability of chromosome and the nature of mitosis. Hereditas, 22: 281-335.

- 15.- KAUFMANN, B. P. and HOLLAENDER, A., 1946. Modification of chromosomal rearrangements induced by X-Ray in Drosophila. - II. Use of the ultraviolet radiation. Genetics 31: 368-376.
- 16.- KIHLMAN, B. A., 1966. Action of chemicals on dividing cells. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.
- 17.- LEA, D. E., 1946. Actions of radiations on living cells. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- 18.- MARSHAK, A., 1938. Alteration of chromosome sensitivity to X-Rays with NH_4OH Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 38: 705-713.
- 19.- MICKEY, G. H., 1939. The influence of low temperature on the frequency of translocations produced by X-Rays in Drosophila melanogaster. Genetica 21: 386-407.
- 20.- MÜLLER, N. J., 1930. Radiation and Genetics. Amer. Nat. 64: 220-251.
- 21.- REVELL, S. H., 1955. A new hypothesis for chromatid changes. Proc. of Radiobiology Symposium (Liege, 1954) (Edit. Z. M. Back and Alexander P.), pp. 243-256. Butterworths Sci. Pub.
- 22.- ----- 1958. A new hypothesis for the interpretations of chromatid aberrations, and its relevance to theories for the mode of chemical agents. Ann. N. Y. Acad. Sci. 68: 802-807.
- 23.- ----- 1959. The accurate estimation of chromatid breakage and its relevance to a new interpretations induced by ionizing radiations. Proc. Roy. Soc. B. 150: 563-589.

- 24.- REVELL, S. H., 1963. Chromatid aberrations. The generalized theory in radiation induced chromosome aberrations. pp. 41-72 (Edit. Wolff.).
- 25.- ----- 1966. An admonition on chromosome aberrations induction and the question of repair. En Genetical aspects of radiosensitivity; Mechanism of repair, pp. 25-29. I.A.E.A. Vienna.
- 26.- SAVAGE, J. R. K. 1966. Repair at chromosome exchange sites in Tradescantia paludosa microspores. En Genetical aspects of radiosensitivity Mechanism of repair. pp. 11-23. I.A.E.A. Vienna.
- 27.- SAVAGE, J.R.K. and EVANS H. J. 1959. The effects of low temperature on the mitotic cycle of root meristem cells of Vicia faba. J. Exp. Cell. Research. 16: 346-378.
- 28.- SAX, K. 1938. Chromosomal aberrations induced by X-Rays. Genetics 23: 494-516.
- 29.- ----- 1943. The effect of centrifugation upon the production of X-Rays induced chromosomal aberrations. Proc. Nat. Acad. Sci. 29: 18-21.
- 30.- SAX, K. and ENZMANN, E. V., 1939. The effect of temperature on the frequency of X-Rays induced chromosome aberrations. Proc. Nat. Acad. Sci. 25: 397-405.

- 31.- SAX, K. and SWANSON, C. P. 1940. Differential Sensitivity of cells to X-Rays. Arnold Arboretum. Harvard, University. Cambridge, Massachusetts. pp. 52-59.
- 32.- SCOTT, C. M. 1937. Some quantitative aspects of the Biological studies of X and Y rays. Spec. Rep. Ser. Med. London. No. 223. pp. 99.
- 33.- SMITH, L. and CALDECOTT, R. S. 1948. Modification of X-Rays on Barley seeds by pre and post treatment with heat. J. Hered. 34: 173-176.
- 34.- SNEDECOR, G. W. 1965. Statistical Methods. Fifth Edition. The Iowa University, Press Ames, Iowa, U.S.A.
- 35.- SPARROW, A. H. 1951. Radiation sensitivity of cells during mitotic and meiotic cycles with emphasis on possible cytochemical changes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 51: 1508-1540.
- 36.- STADLER, L. J. 1930. Some genetic effects of X-Rays in plants. J. Hered. 21: 3-19.
- 37.- SWANSON, C. P. 1940. A comparison of chromosomal aberrations induced by X-Rays and ultraviolet radiation. Proc. Nat. Acad. Sci. 26: 366-373.
- 38.- ----- 1942. The effects of ultraviolet and X-Rays treatment on the pollen tube chromosome of Tradescantia. Genetics. 27: 491-593.

- 39.- SWANSON, C. P. 1944. X-Ray and ultraviolet studies on pollen tube chromosomes. I. The effect of ultraviolet (2537 \AA) X-Ray induced chromosomal aberrations. *Genetics* 29: 61-68.
- 40.- ----- 1955. Effects of oxygen tension on the production of chromosome breakage by ionizing radiations: an interpretation. *Proc. of Radiobiology symposium (Liege, 1954)* (Edit. Z. M. Back and P. Alexander), pp. 245-261. Butterworths Sci. Pub.
- 41.- SWANSON, C. P. and SCHWARTZ, D., 1953. Effects of X-Rays on Chromatid aberrations in air and in nitrogen. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 39: 1241-1250.
- 42.- SWANSON, C. P. and STADLER, L. J. 1955. The effect of ultraviolet radiation on the genes and chromosomes of higher organisms *En radiation Biology* (Edit. A. Hollaender) vol. II, pp. 249-284. McGraw-Hill, New York.
- 43.- SWANSON, C. P. and YOST, H. T., 1951. The induction of activated, stable sites in the chromosomes of Tradescantia by infrared and X-Rays. *Proc. Nat. Sci.* 37: 796-802.
- 44.- TAYLOR, J. H. 1963. Chromosome aberrations and target theory. *En radiation induced chromosome aberrations*, pp. 6-40. (Edit. S. Wolff).
- 45.- THODAY, J. M. and READ, J. 1947. Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-Rays. *Nature* 160: 606-619.

- 46.- VILLALOBOS-PIETRINI, R. 1965. Alteraciones inducidas por los Rayos X en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de la Vicia faba. I. Aspectos técnicos. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 29: 178-183.
- 47.- ----- 1966. La Radiobiología y las aberraciones cromosómicas. An. Soc. Mex. Genet. En prensa.
- 48.- VILLALOBOS PIETRINI, R. CRUZ, T. ALMANZA R., 1965. Alteraciones inducidas por los Rayos X en los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de la Vicia faba. II. Influencia de la temperatura en la frecuencia de las aberraciones cromatídicas. pp. 137-143. The proceedings of the fifth inter-american symposium on the peaceful application of nuclear energy Pan American Union. Washington, D. C. U. S. A.
- 49.- WOLFF, S., 1954. Delay of chromosome rejoining in Vicia faba induced by irradiation. Nature. 173: 501-502.
- 50.- ----- 1957. Recent studies on chromosome breakage and rejoining. En advances in radiobiology. (Edit. G. C. de Hevesy, W. S. Forssberg and J. D. Abatt), pp. 463-470. Oliver and Boyd, London.
- 51.- ----- 1960. Chromosome aberrations. In Radiation protection and recovery, pp. 157-174, Pergamon Press.

- 52.- WOLFF, S. 1966. Repair of chromosomal damage. In *Genetical aspects of radiosensitivity: Mechanism of repair*, pp. 1-9 I.A.E.A., Vienna.
- 53.- WOLFF, S., ATWOOD, K. C., RANDOLPH, M. L., LUIPPOLD, H., 1958. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4, pp. 365.
- 54.- WOLFF, S. and VON BORSTEL, R. C., 1954. The effects of pre-and-post-treatment centrifugation on the chromosomes of Tradescantia and Vicia. *Proc. Nat. Acad.* 40: 1138-1141.
- 55.- WOLFF, S. and LUIPPOLD, H. E., 1955. Metabolism and chromosome break rejoining. *Science*, 122: 231-232.

JANUARY 1967
LIBRARY
ESTE LIBRO NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA