

03466

6
Lej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE LOS INSECTICIDAS CARBAMICOS
METOMIL Y OXAMIL
SOBRE LOS CROMOSOMAS
DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS
DE LA RAIZ DE
Vicia faba

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS
(BIOLOGIA CELULAR)

PRESENTA

PEDRO RAFAEL VALENCIA-QUINTANA

REALIZADA BAJO LA DIRECCION DE LA

DRA. SANDRA GOMEZ-ARROYO

EN EL LABORATORIO DE CITOGENETICA Y
MUTAGENESIS AMBIENTALES
DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMOSFERA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
MATERIALES Y METODOS	27
RESULTADOS	31
DISCUSION Y CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS	61
TABLAS	97
FIGURAS	107
ANEXOS	123

RESUMEN

Las alteraciones cromosómicas que se originan en células en anafase constituyen un modelo adecuado para evaluar el daño cromosómico provocado por los contaminantes ambientales. Asimismo, el haba (*Vicia faba*), ha mostrado ser un material útil para estudios citogenéticos, por tal razón empleando este vegetal se realizaron tratamientos con los insecticidas Metomil y Oxamil a concentraciones de 500, 1000, 2000 y 3000 ppm, con un tratamiento corto de 3 horas sin recuperación y otro de 4 con tiempos de recuperación de 18 y 44 horas. Con el primero se trata de verificar la aparición inmediata de aberraciones cromosómicas, lo que implica efecto "no retardado" y con el segundo tipo de exposición es posible detectar el efecto "retardado".

Los datos obtenidos evidenciaron que el Metomil indujo aberraciones (fragmentos y puentes cromatídicos), alteraciones a nivel centromérico (cromosomas con el centrómero inactivado e isocromosomas) y sobre el huso acromático (anafases multipolares); también se observó la

presencia de micronúcleos en células en interfase.

En los tratamientos de 3 horas sin recuperación no se produjeron aberraciones lo que implicó que el Metomil provocó efecto retardado en la aparición de las aberraciones y cuando estas surgen (después de 18 y 44 horas de recuperación), son de tipo cromatídico. Estos hechos permiten considerar al Metomil como un agente S-dependiente, mecanismo congruente con la actividad alquilante de este insecticida.

Las frecuencias de micronúcleos, cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas, así como de las anafases multipolares, no presentaron consistencia con las diferentes concentraciones utilizadas.

Cuando se comparó su acción, con respecto a los tiempos de recuperación, se notó la disminución en la frecuencia de las alteraciones en el mayor de ellos para todos los casos y para todas las concentraciones.

El Metomil resultó tóxico a las células meristemáticas de la raíz de *V. faba*. Al incrementarse la concentración, la mitosis fue inhibida, ya que se observó un marcado decremento tanto en la cantidad total de anafases como en el índice mitótico.

Por otra parte, el Oxamil fue incapaz de inducir alteraciones cromosómicas e incidir sobre el índice mitótico en las mismas condiciones de estudio.

INTRODUCCION

La aplicación principal de los compuestos agroquímicos se hace con el fin de incrementar la productividad agrícola y preservar en buenas condiciones la siembra. A grandes rasgos la industria química elabora dos tipos de agentes: los fertilizantes y los pesticidas. El lapso de uso de estos últimos es generalmente corto, debido a que la investigación continua ocasiona la elaboración constante de nuevos compuestos. Existen además dos elementos importantes que ejercen presión sobre la industria y son, la salud de los consumidores de insumos agrícolas y la conservación del ambiente, que limitan la utilización de los plaguicidas (ANIQ 1973), lo que ha suscitado una gran labor de investigación.

Desde el comienzo de la civilización el hombre ha procurado continuamente mejorar sus condiciones de vida. En su esfuerzo por lograr un abastecimiento adecuado de alimentos, ha luchado en contra de la intensa destrucción de las cosechas por plagas y enfermedades (Hassall 1969, Cremlyn 1978_a)

A nivel mundial las plagas destruyen alrededor de una tercera parte de la producción anual durante el crecimiento, la cosecha y el almacenamiento de los insumos agrícolas y forestales, pudiendo alcanzar hasta el 40 % de reducción (Walker 1970, Pimentel 1973). En el caso de la agricultura mexicana, la disminución es equivalente al promedio mundial (Narro 1981).

Se considera como plaguicidas a todas aquellas substancias o mezclas de estas que se destinan a destruir, controlar, prevenir o repeler la acción de cualquier forma de vida, animal o vegetal, perjudicial, que afecte la productividad agrícola y se pueden ubicar dentro de tres categorías principales: insecticidas, herbicidas y fungicidas (ANIQ 1973, 1985, Cremlyn 1978_a).

Los intentos para elevar la producción de alimentos incluyen el incremento en la aplicación de pesticidas los cuales han aumentado tanto en número como en variedad. Se espera que a fines de este siglo se triplique la cantidad de alimentos para satisfacer las necesidades de la población humana en expansión y probablemente se requiera cinco veces más pesticidas (Kohn 1974).

No obstante, su empleo ha contribuido al incremento de la contaminación de los ecosistemas, debido principalmente a la persistencia de residuos en alimentos, agua, aire y suelos (García 1973), pudiendo representar un riesgo para los animales y para el hombre (Usha-Rani et al. 1980, Dulout et al. 1982, Moutschen-Dahmen et al. 1984).

La Organización Mundial de la Salud ha publicado una clasificación de pesticidas, de acuerdo con el riesgo general que representan para la especie humana (World

Health Organization 1975, 1984-1985). Mientras que los herbicidas y fungicidas usualmente muestran muy baja toxicidad, los insecticidas tienen un rango desde virtualmente inocuos hasta altamente tóxicos (Brown 1978).

La investigación actual sobre plaguicidas agrícolas esta principalmente conducida hacia el descubrimiento de agentes químicos que combinan baja toxicidad para mamíferos con una actividad específica contra la plaga a la que han sido dirigidos (World Health Organization 1975, 1984-1985, Cremlyn 1978_b); aunque las instrucciones para el uso seguro de pesticidas tienden a eliminar los riesgos de los insecticidas peligrosos para fumigadores, campesinos y público en general, en el presente, la toxicidad de los plaguicidas constituye un asunto serio en el mundo (Brown 1978).

Algunos genetistas se han interesado en los plaguicidas debido a su ubicua presencia en el ambiente (Durham y Williams 1972, Brown et al. 1976, Brown 1978, Cremlyn 1978_a, Moutschen-Dahmen et al. 1984). Se considera que existen casi 1000 productos que son clasificados como pesticidas (Woodruff et al. 1983).

El continuo y cada vez mayor uso de compuestos agrícolas, puede causar un efecto deletéreo no intencional sobre el ambiente (Pandita 1983).

Aunque el valor de los pesticidas para el control de organismos no deseados es de importancia económica incuestionable, es evidente que su utilización tiene muchas consecuencias secundarias (Grant 1973_a, 1982_a, Ahmed et al. 1977, Tezuka et al. 1980, Moutschen-Dahmen et al. 1984, Dulout et al. 1985, Pashin y Bakintova 1985).

Los insecticidas representan un riesgo ocupacional para dos grupos de trabajadores, aquellos que los elaboran en las fabricas y los expuestos en las areas agricolas. Existe la posibilidad de accidentes que llevan a intoxicaciones agudas. Para la poblacion en general son un riesgo menor a través de las cadenas tróficas (Coutts 1980, Tordoir 1980, Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Evidencias acumuladas en las últimas dos décadas indican que un incontable número de plaguicidas son capaces de inducir dano genético (Badr e Ibrahim 1987).

Se ha descrito que los plaguicidas tienen actividades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas, lo cual justifica un intenso estudio genético (Wuu y Grant 1966, Dean 1972, Durham y Williams 1972, Grant 1973_a, 1982_a, Bridges et al. 1973, Axelson y Sundel 1974, Fahrig 1974, Wild 1975, Shirasu et al. 1976, Panda y Sharma 1979, Ngatia y Mgeni 1980, Singh et al. 1980, Tezuka et al. 1980, Usha-Rani et al. 1980, Waters et al. 1982, Woo 1983, Moutschen-Dahmen et al. 1984, Gómez-Arroyo et al. 1985, Badr e Ibrahim 1987) aunque ninguno de los que actualmente se usan ha mostrado ser mutagénico, carcinogénico o teratogénico, en todos los sistemas de prueba disponibles (Waters et al. 1982, Woo 1983, Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Desde el punto de vista químico los insecticidas se dividen en clorados, fosforados y carbámicos (ANIQ 1985).

El esqueleto de los carbamatos es el ácido carbámico (Fig. 1). Este no existe en forma libre, y se estabiliza por la adición de un grupo alquilo (Barbera 1976, Moutschen-Dahmen et al. 1984). La fórmula general de los insecticidas carbámicos y especialmente las de los

empleados en la agricultura se muestran en las figuras 2 y 3.

Los carbamatos pueden ser obtenidos como sólidos cristalinos puros, lo que facilita las investigaciones químicas y biológicas. Estos son ligeramente solubles en agua, pero pueden ser diluidos en una gran variedad de disolventes. La mayoría de ellos son sensibles a la luz, al calor y a la oxidación, por ello no representan mucho riesgo para el ambiente (Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Las vías metabólicas para los insecticidas carbámicos parecen ser las mismas en hígados de rata y de humanos, pero difieren con las de los insectos, donde estos son transformados a través de rutas no hidrolíticas. Los metil carbámicos son convertidos en moléculas solubles en agua. En algunas especies de insectos resistentes o tolerantes hay mayor absorción, mas excreción y un metabolismo mas rápido, debido a un nivel mayor de enzimas oxidantes dependientes de NADPH (Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Existe mucha similitud entre el modo de acción de compuestos organofosforados y carbamatos en todas las clases de animales. La toxicidad es debida a la inhibición de la acetil-colinesterasa en el sistema nervioso central, que produce parálisis. A diferencia de los insecticidas organofosforados, los carbamatos no requieren de conversión metabólica para manifestar efectos tóxicos. Además la supresión puede ser reversible y la actividad enzimática algunas veces regenerada.

La cinética del bloqueo ha sido investigada cuidadosamente e involucra la carbamilación de la enzima (unión covalente de los grupos electrofilicos carbamoil a

sitios estéricos de las enzimas). Los carbamatos transfieren un grupo ácido a este sitio formando un complejo enzimático acetilado (Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Estos compuestos presentan gran actividad biológica y se distinguen por su carácter de selectividad. Las pequeñas modificaciones en su estructura hacen que el producto sea activo contra unas especies de insectos e inactivo sobre otras (Barberá 1976).

Los insecticidas organofosforados y metilcarbámicos, inhibidores de la acetil-colinesterasa, han reemplazado gradualmente a los clorados, en el control de insectos y por ello son más frecuentemente utilizados y en grandes cantidades (Proctor y Casida 1975).

El hecho de que los carbámicos se hayan desarrollado más recientemente, hace que los estudios acerca de su acción, selectividad, metabolismo y relaciones entre estos factores aún no alcance la importancia que se observa para los insecticidas fosfóricos.

Es así importante precisar la existencia de efectos deletéreos de dichos compuestos no atribuibles a alteraciones en el sistema colinérgico (Proctor y Casida 1975) (Anexo 1).

Los plaguicidas carbámicos han sido ampliamente utilizados debido, como ya se mencionó, a su baja toxicidad para los mamíferos y a su degradación relativamente rápida en el suelo (Dulout et al. 1982). Se les señala como inhibidores enzimáticos mediante mecanismos de alquilación (Ngatia y Mgeni 1980).

Durante los últimos años las propiedades mutagénicas carcinogénicas y teratogénicas de algunos carbámicos han sido investigadas.

En cuanto a su mutagenicidad se describen los siguientes datos:

El Aldicarb ha sido estudiado en el sistema de Ames con *Salmonella typhimurium* (Dunkel y Simmon 1980), en la prueba de micronúcleos en células de ratón (Seiler 1977_b) y a través del daño producido en el ADN de fibroblastos de piel humana (Blevins et al. 1977_b), siendo los resultados negativos.

Se ha mencionado que el Aldicarb puede ser transformado en una sustancia genotóxica cuando forma N-Nitroso-Aldicarb en presencia de nitritos (Elespuru et al. 1973, Blevins et al. 1977_{a, b}, Seiler 1977_b, González-Cid y Matos 1984). Este derivado es mutagénico en *S. typhimurium* (Seiler 1977_b) y capaz de producir numerosas rupturas en una sola hebra del ADN de células normales de piel humana (Blevins et al. 1977_b).

El Aldicarb produce incremento significativo de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) (Debuyst y Larebeke 1983, González-Cid y Matos 1984) y de aberraciones cromosómicas (AC) (González-Cid y Matos 1987), en ausencia o en presencia de la mezcla S9 y en este último caso decrece la progresión sucesiva de la mitosis de células en cultivo (González-Cid y Matos 1984).

Este insecticida se ha descrito como veneno altamente tóxico en mamíferos sin efectos carcinogénicos, neurotóxicos o reproductores (Marshall 1985).

El Carbaryl es otro insecticida de este grupo, cuya actividad mutagénica ha sido investigada en gran variedad de organismos. En bacterias, los resultados fueron generalmente negativos. Este es el caso en *Escherichia coli* (Ashwood-Smith et al. 1972, Brusick et al. 1980), *S. typhimurium* (McCann et al. 1975, Marshall et al. 1976, Blevins et al. 1977_a) y *Bacillus subtilis* (Shirasu et al. 1976). En un ensayo mediado por hospedero con *S. typhimurium* como indicador, los resultados también fueron negativos (Usha-Rani et al. 1980).

En *Saccharomyces cerevisiae*, se describieron datos contradictorios con relación a la conversión génica mitótica (Siebert y Eisenbrand 1974, Siebert y Lamperle 1974).

En *Hordeum vulgare*, Wu y Grant (1966, 1967_a), observaron aumento en el número de rupturas cromosómicas en mitosis y un ligero efecto en meiosis, mientras que en *Nigella damascena*, no lo hubo (Moutschen-Dahmen et al. 1976).

Se observó una débil tendencia mutagénica en *Drosophila melanogaster* (Hoque 1972). En una línea celular de fibroblastos de criceto causó rupturas, intercambios y huecos (Ishidate y Odashima 1977).

El Carbaryl fue capaz de inducir desórdenes en la síntesis de ADN *in vitro*, en cultivos de fibroblastos humanos (Ahmed et al. 1977). En células de piel humana normales y de *Xeroderma pigmentosum* no se presentaron rupturas aparentes en el ADN (Regan et al. 1976). Tampoco provocó inhibición de la síntesis de ADN testicular en ratones (Seiler 1977_b).

La prueba de micronúcleos dió resultados negativos después de tratamientos orales (Degraeve et al. 1976, Seiler 1977_b, Usha-Rani et al. 1980). No se observaron aberraciones cromosómicas en células de médula ósea de ratones expuestos (Degraeve et al. 1976).

En la prueba de letales dominantes en ratones, el Carbaryl causó muerte fetal temprana y pérdidas de preimplantaciones (Epstein et al. 1972). En el mismo ensayo, con dosis aplicadas en la dieta o por entubación se obtuvieron resultados negativos (Weil et al. 1973).

El derivado nitroso del Carbaryl (N-nitroso Carbaryl) también ha sido investigado. Fue mutagénico en *E. coli* (Elespuru et al. 1973, 1974, Egert y Greim 1976), *S. typhimurium* (Egert y Greim 1976, Blevins et al. 1977_b) y *Haemophilus influenzae* (Elespuru et al. 1973, 1974, Beattie y Kimball 1974, Beattie 1975). En *S. cerevisiae*, Siebert y Eisenbrand (1974) también encontraron resultados positivos. Numerosas rupturas de una sola hebra fueron provocadas en el ADN de células humanas (Regan et al. 1976, Blevins et al. 1977_b).

El Propineb no fue mutagénico para *S. typhimurium* (Chii-Ling y Gwo-Chen 1980). En la prueba morfológica de esperma en ratones no produjo incremento significativo en el porcentaje de anormalidades (Quinto y De Marinis 1983). La actividad clastogénica de este compuesto así como de la Propilentiourea, se evaluó por el ensayo de micronúcleos en ratones, siendo este negativo (Rolandi et al. 1984).

El Thiram provocó un ligero aumento en la inducción del fago lambda en *E. coli*, en presencia de activación metabólica (Zdzienicka et al. 1981) y tuvo efecto mutagénico en *S. typhimurium* (Zdzienicka et al. 1979,

1981). En *Aspergillus nidulans*, causó mutaciones en ausencia de activación metabólica (Zdzienicka et al. 1981) y fue capaz de producir segregación cromosómica anormal, detectada por la recuperación de colonias hiperhaploides e hiperdiploides (Upshal y Johnson 1981).

La frecuencia de micronúcleos, puentes cromatídicos y mitosis multipolares se incrementó significativamente en ratones tratados con Thiram, disminuyendo la cantidad de anafases (Dulout et al. 1982).

Los insecticidas Nitroso-NAC, Nitroso-NTMC y Nitroso-MTMC, son mutágenos potentes que produjeron reversión en *E. coli* (Uchiyama et al. 1975, Yoshikawa et al. 1978), así como letalidad (Yoshikawa et al. 1978) y en *S. cerevisiae* conversiones génicas mitóticas (Siebert y Eisenbrand 1974). Provocaron aberraciones cromosómicas en células de criceto en cultivo (Ishidate y Odashima 1977).

Existe poca información acerca de los efectos mutagénicos de otros insecticidas carbámicos.

El Aminocar, el Baygón (Propoxur), el BUX-Ten, el Dimetilan y el Landrin, fueron negativos en *Salmonella* (Blevins et al. 1977_a, Quinto et al. 1981) y los herbicidas Diallato, Triallato y Sulfallato fueron positivos en el mismo ensayo (De Lorenzo et al. 1978).

El Carbofuran dió resultados contradictorios en el sistema de Ames (Gentile et al. 1982, Shirasu et al. 1982).

Se obtuvieron datos negativos con la prueba de

conversión génica mitótica en *S. cerevisiae*, para Propoxur (Siebert y Eisenbrand 1974, Siebert y Lamperle 1974) y Carbofuran (Gentile et al. 1982).

El Baygón, el BUX-Ten, el Carbofuran y el Landrin, no causaron rupturas de una sola hebra del ADN de células de piel humana (Blevins et al. 1977_b).

El Carbofuran (Seiler 1977_a) y el Propoxur (Seiler 1977_b, Tyrkiel 1977), no aumentaron la frecuencia de micronúcleos y no presentaron respuestas positivas en la prueba de letales dominantes en ratones, con las mismas concentraciones (Seiler 1977_{a, b}, Tyrkiel 1977).

El Thiofanox fue capaz de inducir ICH en linfocitos humanos en ausencia de activación metabólica (Debuyst y Larebeke 1983).

El Propoxur provocó muerte temprana en embriones (Tyrkiel 1977).

Aunque la mayoría de los resultados obtenidos con insecticidas carbámicos fueron negativos, sus derivados nitrosos parecen tener actividad mutagénica, tal es el caso del Propoxur, del BUX-Ten y del Landrin en *S. typhimurium* (Blevins et al. 1977_a) y de Propoxur en *S. cerevisiae* (Siebert y Eisenbrand 1974).

Sin embargo, tratamientos *in vivo* con carbamatos y NaNO₂, fueron negativos en la prueba de micronúcleos en ratones para Propoxur y Carbofuran (Seiler 1977_b).

Numerosas rupturas de una sola hebra fueron aparentes en el ADN de células humanas de piel, después del tratamiento con los derivados nitrosos de Baygón, BUX-Ten, Carbofuran y Landrin (Blevins et al. 1977_b).

La carcinogenicidad de los carbamatos también ha sido investigada. El derivado nitroso del Carbaryl fue dado por entubación a ratas (Eisenbrand et al. 1975, 1976) y se observaron carcinomas en la parte anterior del estómago. En la misma especie, Nitroso-Carbaryl (Lijinsky y Taylor 1976) provocó el mismo tipo de tumores, pero el Carbaryl solo, no lo hizo (Lijinsky y Taylor 1977).

Estos experimentos fueron extendidos a otros derivados nitrosos de metilcarbámicos, No-Carbofuran, No-Baygón, No-Landrin, No-BUX-Ten y No-Aldicarb, en la misma línea de rata (Lijinsky y Schmähl 1978). A gran escala, los nitroso metilcarbámicos produjeron pocos tumores, los mas efectivos fueron No-Carbofuran, No-Baygón y No-Landrin (Moutschen-Dahmen et al. 1984).

La actividad teratogénica también ha sido demostrada en diferentes organismos (aves, peces, ratones, ratas, cobayos, cricetos, conejos, cerdos, perros y monos), en el caso del Carbaryl, se han encontrado anomalías tales como embriotoxicidad, decremento en el tamaño de la camada, esterilidad, aumento en el número de individuos nacidos muertos, malformaciones de las vértebras, reabsorciones, fisuras torácico-abdominales, falta de formación del esqueleto, entre otras, causadas por diferentes concentraciones y vías de administración (Moutschen-Dahmen et al. 1984).

Muy pocos datos hay disponibles sobre la actividad teratogénica de otros insecticidas carbámicos.

Resultados negativos han sido obtenidos para Propoxur en ratas (Vettorazzi 1976) y Carbofuran en perros, ratas albinas y conejos albinos (McCarthy et al. 1971).

El Propineb presentó actividad teratogénica en ratas (Larsson et al. 1976), al igual que la Propilentiourea, su principal metabolito y producto de degradación (Bleyl y Lewerenz 1978).

La acción sobre los niveles de NAD y senales teratogénicas en pollos fue comparada en 12 compuestos metilcarbámicos después de la inyección de 1 mg por huevo. La potencia decrece con relación a su efecto sobre estos parámetros en el siguiente orden: Eserine, Carbaryl, Carbofuran, Meobal, Metalkamate, Aldicarb, Dimetilan, Isolan, Metomil, Mexacarbate, Propoxur y Pyramat (Proctor y Casida 1975, Proctor et al. 1976).

La mayoría de los resultados de estos experimentos fueron contradictorios, no obstante, son importantes, ya que indican claramente que el uso excesivo de insecticidas, o pesticidas en general, puede modificar la estructura genética en una manera impredecible (Moutschen-Dahmen et al. 1984). En suma, existen muy pocos estudios para el grupo de los carbámicos con excepción del Carbaryl.

En el grupo de los insecticidas carbámicos se encuentran el Lannate (Metomil) y el Vydate (Oxamil).

El Lannate, a base de Metomil, ha sido usado para el control de plagas de tabaco, algodón y gran variedad de frutas y vegetales (ver anexo 2) (Hemavathy y Krishnamurthy 1987₃, b, Du Pont 1990₃). También se utiliza

en el tratamiento de suelos y es muy tóxico (Barberá 1976).

Sus propiedades físicas y químicas aparecen en el anexo 3. Ha sido considerado como "altamente riesgoso" (clase 1b), en la guía de clasificación presentada por la OMS (World Health Organization 1984-1985). Su efecto tóxico se muestra en el anexo 4.

El producto se utiliza para controlar un amplio espectro de insectos que atacan el follaje y a los frutos de las plantas cultivadas; posee un magnífico poder ovicida en ciertos lepidópteros y controla también a varios tipos de nemátodos y ácaros. Esta sustancia se puede utilizar en las etapas cercanas a la cosecha sin interferir con los depredadores y parásitos naturales de la plaga.

Los estudios a nivel mundial han demostrado que el Metomil, ingrediente activo de Lannate, se degrada en compuestos que se encuentran comúnmente en la naturaleza, por lo que sus residuos no afectan el ambiente (Du Pont 1990_a).

El Lannate es tóxico por contacto y por vía estomacal y tiene un marcado poder sistémico. El efecto de contacto de este producto es sumamente rápido; además, posee muy buena penetración en los tejidos vegetales, por lo que proporciona a éstos una magnífica protección contra el ataque de insectos; su poder sistémico se hace evidente al comprobarse que se mueve dentro de los tejidos de las hojas en forma transversal (del haz hacia el envés y viceversa) y distalmente (del punto de penetración a los extremos de la hoja); aplicado al suelo presenta acción sistémica y se mueve de la raíz al follaje; sin embargo, este método de control es poco recomendable por la gran cantidad que es

este método de control es poco recomendable por la gran cantidad que es necesario utilizar (Du Pont 1990₃).

Agentes humectantes como los esparcidores adherentes y surfactantes ayudan a que tenga mejor distribución y mayor recubrimiento en la superficie de la planta, ayudando a la penetración del insecticida tanto en los tejidos de la planta como en la superficie cerosa de muchas larvas de lepidópteros en sus etados tardíos.

Una vez que ha sido aplicado al follaje, su degradación ocurre después de 48 horas; el Metomil se descompone en amoniaco, gas carbónico y agua; con respecto al Metomil que penetra en los tejidos del vegetal, este empieza a metabolizarse de las 48 a las 72 horas; en este caso, parte del producto se convierte en gas carbónico y acetonitrilos, por otra parte es asimilado por la planta en forma de lípidos (palmitatos, estearatos, etc.), de ésteres del ácido tartárico, glicólico y otros ácidos orgánicos naturales. No se acumula en la carne, grasa o leche, por lo que se puede usar pocos días antes de la cosecha (Anexo 5). Cuando el Lannate se asperja en el suelo sufre una pérdida del 50 al 75 % del Metomil en un lapso de 30 días, a los 90 solo quedan trazas. Asimismo ha demostrado ser un arma excelente del agricultor mexicano en la batalla contra el gusano cogollero, soldado, celama y mosca Midge (Du Pont 1990_{a, b}).

En México el Lannate se presenta en las formas granulada al 90 % de ingrediente activo y líquida al 24 %.

Con relación a la actividad mutagénica del Metomil, se ha descrito que en *Salmonella* con la prueba de Ames da resultados negativos (Blevins et al. 1977_a, Quinto et al. 1981). Blevins et al. (1977_a), encuentran que solo su

derivado nitroso (N-Nitroso-Metomil) incrementa el número de revertantes.

La genotoxicidad del Lannate 20, ha sido evaluada sobre las células germinales de ratones, mediante el ensayo de morfología del esperma y preparaciones cromosómicas en meiosis. Resultados significativos son obtenidos con tres concentraciones subletales de 20, 40 y 60 mg/kg, indicando que éste es mutagénico para estos organismos (Hemavathy y Krishnamurthy 1987_a).

No se observan rupturas de una sola hebra del ADN de células humanas de piel después del tratamiento con Metomil (10^{-5} M), pero su derivado nitroso en la misma concentración produce numerosos rompimientos (Blevins et al. 1977_b).

El Metomil que sin activación metabólica no aumenta el número de ICH, si lo hace significativamente en presencia de la mezcla S9 en linfocitos humanos *in vitro* (Debuyt y Larebeke 1983).

El Lannate 20 incrementó significativamente la frecuencia de letales recesivos en *Drosophila melanogaster*, sin embargo, no produjo translocaciones (Hemavathy y Krishnamurthy 1987_b).

Por otro lado, el Vydate es un insecticida/nematicida/acaricida del tipo carbámico que elimina a las plagas por contacto y por vía estomacal. El producto muestra un marcado poder sistémico dentro de los vegetales (Du Pont 1990_c) y está indicado para gran cantidad de plagas (Anexo 6) en diversos cultivos (Anexo 7).

Cuando es aplicado al suelo, una parte se queda en el terreno matando y paralizando a los nemátodos ectoparásitos, otra parte, es absorbida por el sistema radicular en donde controla a los nemátodos endoparásitos de ahí, es translocado por el xilema hacia las partes aéreas del vegetal en donde extermina insectos y nemátodos del follaje.

Si es asperjado sobre las plantas, parte del producto se queda en las hojas y actúa contra insectos y ácaros, otra porción es absorbida y transportada por medio del floema hacia las raíces, donde nuevamente afecta a los nemátodos.

El Vydate se presenta en las formas líquida al 24 % de ingrediente activo y granulada al 10 % ; su principio activo el Oxamil, se degrada en el suelo o dentro de las plantas en compuestos que se encuentran comunmente en la naturaleza (Du Pont 1990_c). Controla plagas que han desarrollado resistencia a los plaguicidas organofosforados.

Sus propiedades físicas y químicas se describen en el anexo 8. El Oxamil ha sido clasificado como "altamente riesgoso", en una guía de clasificación presentada por la OMS (World Health Organization 1984-1985).

El Vydate es tóxico para peces, pájaros y otros animales de vida silvestre. También lo es para las abejas cuando reciben directamente la aspersión y en otros organismos (Anexo 9).

El Oxamil es un plaguicida que actúa como tóxico por contacto directo y por ingestión. El control se logra a

través de la inhibición de la acetil-colinesterasa del insecto. Cuando el producto se mezcla con el suelo, es absorbido por las raíces y se distribuye sistémicamente dentro del vegetal; debido a esta propiedad, ciertos insectos que se alimentan del follaje mueren. Las concentraciones de tolerancia en los residuos de algunos cultivos se muestran en el anexo 10.

Las aplicaciones de Oxamil no son muy efectivas contra ciertas plagas del suelo como la "gallina ciega" (*Phyllophaga spp.*), el "gusano de alambre" (*Elateridae*), y el "gusano alfilerillo" (*Diabrotica spp.*), entre otras.

Las cantidades altas aplicadas a huevecillos de la "arana roja" (*Tetranychus spp.*) matan a los embriones antes de que estos eclosionen y también extermina a las larvas recién salidas; sin embargo, estudios de campo indican que varias especies de ácaros no son controladas (Du Pont 1990_c).

El Oxamil mata nemátodos por contacto y por acción sistémica, impidiendo la formación de la acetil-colinesterasa. Dosis de 5 ppm en el suelo, los matan directamente por contacto en poco tiempo. Las raíces de las plantas, quedan protegidas del ataque de estos animales con menos de 5 ppm, ya sea que el producto provenga de aplicaciones en el suelo o foliares.

Las administraciones bajas de Oxamil en el suelo, a razón de 0.5 a 2.0 ppm, inactivan a los nemátodos fitoparásitos e inhiben su necesidad de alimentarse mientras estén en contacto con el plaguicida. Las concentraciones menores no afectan a nemátodos saprófitos. Las aspersiones foliares también controlan a ciertos nemátodos del follaje (Du Pont 1990_c).

Aplicado al suelo lo absorben las raíces de las plantas y es translocado por el xilema a las hojas. Cuando se coloca en el suelo cerca de la base de la planta, controla los nemátodos que atacan a las raíces que se desarrollan en los extremos del área tratada.

Al asperjarse sobre las hojas, una parte del compuesto queda en la superficie, otra es absorbida y el resto, es translocado por el floema a las raíces de la planta tratada. Se ha demostrado que en las plantas de plátano, el Oxamil se mueve en mayor proporción a las raíces nuevas que a las viejas. Este tiende a acumularse en las puntas, la zona de elongación y los puntos de formación radicular lateral.

Al aplicar el Oxamil marcado con C^{14} en suelos, se determinó que se degrada completamente con pérdida de CO_2 , su "vida promedio" es de dos semanas cuando se aplica a la tierra bajo condiciones de uso y concentraciones de campo normales. No tiene efecto negativo sobre las bacterias nitrificantes.

El tiempo requerido para la pérdida o degradación del 50 % del Oxamil aplicado en cantidades adecuadas a las plantas de cultivo, varía de menos de siete días en el campo a tres semanas en invernadero. La principal forma de degradación es la hidrólisis, transformándose en oxiamino, que no es tóxico ni tiene poder insecticida. En algunas especies ocurre una descomposición mas avanzada por pérdida de uno de los grupos metilo, en la función dimetilamina.

El pH del agua influye marcadamente en su degradación. Pruebas con el plaguicida marcado con C^{14} indicaron que a pH de 4.7 es estable, mientras que a 9.1,

nubo pérdida del 30 % durante las primeras seis horas y del 60 % a las 72 horas. En agua de río, se desintegra completamente durante las primeras 12 horas bajo condiciones de luz solar.

No existe información disponible sobre la posible genotoxicidad del Oxamil. Los escasos o nulos reportes sobre los efectos genéticos revelan la necesidad de realizar mayor investigación sobre la actividad genética de estos compuestos. Aunque estos insecticidas son desdoblados rápidamente y sus residuos son de un nivel de riesgo bajo, la exposición a largo plazo por parte del hombre a estos agentes químicos en los sitios de producción y uso, demanda un cuidadoso monitoreo (Hemavathy y Krishnamurthy 1987_{a, b}).

Los bioensayos de pesticidas a largo plazo con animales son considerados como los procedimientos más satisfactorios para valorar la genotoxicidad (de Kergammeaux et al. 1983). Tales pruebas, sin embargo, son muy caras y ocupan mucho espacio. La utilidad de las plantas como sistemas eucarióticos superiores de evaluación de daño por agentes químicos ambientales está siendo reconocida ampliamente (de Serres y Shelby 1978, Nilan 1978, Constantin et al. 1981). El bioensayo *in vivo* con plantas, usando los meristemas de las raíces, ofrece un sistema eucariótico de organismo completo, de corta duración y barato, para los casos más apremiantes (Ma 1982, de Kergammeaux et al. 1983).

Históricamente las plantas han sido escogidas para investigaciones que han servido (1) para establecer los principios de la genética y la citogenética, (2) demostrar el incremento en la frecuencia de mutaciones y aberraciones cromosómicas inducidas por radiaciones ionizantes, (3) determinar la mutagenicidad de agentes

químicos. Estudios de mutagenicidad y clastogenicidad que emplean plantas superiores, ofrecen ventajas en comparación con otros ensayos usados para la detección y/o monitoreo de agentes genotóxicos en el ambiente (Kihlman 1971, 1975, Constantin y Owens 1982).

Un sistema adecuado para evaluar el dano citogenético, lo constituyen las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, ya que pueden ser consideradas como el tejido ideal para estudiarlo, puesto que son fácilmente manejables y tienen gran número de células en división. Además las células de las puntas de las raíces son directamente expuestas a la substancia en cuestión y pueden ser analizados los efectos de concentraciones conocidas. Por otra parte, este material combina la ventaja de que está disponible todo el año y es poco costoso (Kihlman 1971, 1975).

Esta planta se ha utilizado ampliamente para detectar el dano cromosómico producido tanto por las radiaciones, como por una amplia variedad de mutágenos químicos (Bell et al. 1976, Ma 1982). El sistema ha sido establecido sobre el principio de que los agentes solubles en agua pueden ser fácilmente absorbidos dentro de los tejidos meristemáticos (Ma 1982).

La respuesta de las raíces de *V. faba* como bioensayo para determinar la genotoxicidad de pesticidas, ha presentado buena correlación con los sistemas de bacterias y de mamíferos (de Kergameaux et al. 1983).

El complemento cromosómico de *V. faba* consiste de 5 pares de cromosomas de igual longitud con centrómeros subterminales (S-cromosomas) y un par con centrómeros medios (M-cromosomas), su número cromosómico diploide es

de 12. Los cromosomas metacéntricos contienen una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar que separa un gran satélite del resto del cromosoma (Kihlman 1971, 1975).

En los exámenes citogenéticos en *Vicia*, el sistema mitótico de las puntas de las raíces es ampliamente usado y mejor validado cuando las aberraciones son utilizadas como indicadores de mutagenicidad. Este tipo de ensayo es suficiente en la elección preliminar de los mutágenos químicos además de ser confiable como indica la experiencia (Ma 1982).

El promedio de la duración del ciclo celular de la raíz principal de *V. faba* es de 19.3 horas a 19 °C y sus periodos presintético (G₁) de 4.9 horas, sintético (S) de 7.5 horas, postsintético (G₂) de 4.9 horas y la mitosis de 2 horas (Evans y Scott 1964).

En el caso de las células cuyo ciclo celular tiene una duración entre 16 y 20 horas, se pueden distinguir dos tipos de efectos producidos por diversos agentes. Uno de ellos es el obtenido de 0 a 8 horas después de 1 a 4 horas de exposición al agente químico y se conoce como efecto "no retardado" (Kihlman 1966), induciéndose aberraciones cromatídicas al menos 3 horas después de iniciado el tratamiento y teniendo su máxima frecuencia entre las 4 y las 10 horas siguientes, en este caso, los agentes provocan aberraciones en células que han completado su síntesis de ADN (que se encuentran al final de S ó en G₂). Si las anomalías se presentan entre las 8 y 48 horas después del tratamiento, se considera que hay un efecto "retardado" y presumiblemente actúan en la fase G₁ del ciclo celular, por lo que las frecuencias pico se manifiestan entre las 24 y 48 horas posteriores (Kihlman 1963, 1966). El retardo en la aparición de las

aberraciones está relacionado con el tiempo de tratamiento y no como resultado del alargamiento del ciclo celular (Kihlman 1966).

Se han descrito dos tipos de agentes físicos y químicos que danan a los cromosomas produciendo aberraciones (Kihlman 1963, Bender et al. 1974, Kihlman et al. 1978, Natarajan y Obe 1978). En el primero se encuentran los agentes que al inducir lesiones en los cromosomas, en cualquiera de las etapas del ciclo celular, es necesaria la síntesis de ADN para que dichas lesiones se transformen en aberraciones como resultado de errores en la replicación ("mis-replication") (Evans 1966), por ello se les considera S-dependientes. Estas aberraciones son únicamente del tipo cromatídico. A este grupo pertenecen los agentes alquilantes y las radiaciones ultravioleta (Bender et al. 1973). Las alteraciones producidas por estos agentes son rompimientos de banda sencilla y daño a las bases del ADN (Kihlman et al. 1978). En el segundo grupo se encuentran los agentes cuyos efectos no requieren de la síntesis de ADN para ser expresados como aberraciones, es decir, que son S-independientes. Las alteraciones provocadas son del tipo subcromatídico, cromatídico y cromosómico. En este caso los cambios que se causan dependen del estado del ciclo celular en el que están las células que son afectadas. Las lesiones inducidas por estos agentes se desarrollan produciendo alteraciones en los cromosomas como resultado de errores en la reparación ("mis-repair") (Evans 1977), las cuales se originan al danarse las bases y por rompimientos de banda sencilla o doble en el ADN (Kihlman et al. 1978), aquí se incluyen los rayos-X, antibióticos como bleomicina y pleomicina así como algunas oxipurinas metiladas (Kihlman 1977).

En vista de que los insecticidas carbámicos Lannate y Vydate, son ampliamente utilizados en la agricultura

mexicana y dado que la poca información que existe sobre sus efectos en el material genético es contradictoria, se pretende en este trabajo, evaluar el dano citogenético inducido por éstos pesticidas mediante el análisis de las alteraciones cromosómicas y de los micronúcleos así como de su acción sobre la división celular, empleando como sistema de prueba los meristemas radiculares de *Vicia faba*.

MATERIALES Y METODOS

Las semillas de *Vicia faba* variedad *minor*, se lavaron en agua corriente durante dos horas. Posteriormente se embebieron en agua de la llave durante 24 horas. Después se pusieron a germinar en la oscuridad entre dos capas de algodón humedo, a 20 °C.

Cuando apareció la radícula, se removi6 la testa y al medir la raíz principal de 4.5 a 5.5 cm, previamente a los tratamientos, se elimin6 la cofia.

Se prepararon soluciones frescas de los insecticidas con diversas concentraciones, las cuales fueron elegidas como resultado de experimentos preliminares. Para el caso del Metomil, fueron de 500, 1000, 2000 y 3000 ppm y con el propósito de hacer un análisis comparativo, se utilizaron las mismas para el Oxamil.

Se dieron dos tratamientos, uno de 3 horas sin recuperación y otro de 4 con 18 y 44 horas de

recuperación, con el propósito de verificar el comportamiento de estos insecticidas acerca de los efectos "retardado" ó "no-retardado" y S-dependiente ó S-independiente (Kihlman 1966, Kihlman et al. 1978), llevándose a cabo con aireación y temperatura (20°C) constantes, en la oscuridad.

Se formaron varios grupos, cada uno de ellos con 15 plántulas, para ser sometidos a las diferentes concentraciones de los insecticidas, de las cuales correspondieron 5 para el tratamiento corto de 3 horas y 5 para cada tiempo de recuperación en las exposiciones de 4 horas.

Los lotes testigo uno por cada tiempo de tratamiento y/o de recuperación, se mantuvieron bajo las mismas condiciones experimentales con la excepción de que fueron sumergidos en agua destilada.

Transcurridos los tiempos de tratamiento y de recuperación, las raíces se sacaron y se lavaron con agua corriente.

En seguida se cortaron 2 mm de las puntas de las raíces. Se hidrolizaron con HCl 5N a 28 °C durante 20 min en baño María y posteriormente se enjuagaron con agua destilada. Se tineron con el reactivo de Schiff en la oscuridad durante 15 min.

A continuación se trasladaron las puntas de las raíces a portaobjetos que contenían unas gotas de ácido acético al 45 % . Rápidamente se colocaron los cubreobjetos y se hizo presión sobre ellos con la goma de un lápiz para llevar a cabo el aplastamiento del tejido en

monocapa ("squash") y se metieron al congelador.

Para hacer las preparaciones permanentes se utilizó la técnica de Conger y Fairchild (1953), acomodándolas sobre hielo seco o con aire líquido empleando el sistema de Meneses et al. (1991), hasta que estuvieran completamente congeladas. Posteriormente se desprendieron los cubreobjetos con un bisturí y se deshidrataron con dos cambios rápidos de alcohol butílico absoluto; se secó el exceso de éste y se montaron en bálsamo de Canadá (Gómez-Arroyo 1980).

Las preparaciones se manejaron con clave antes de los análisis, con el objeto de evitar prejuicios en el observador.

La identificación de las alteraciones cromosómicas se realizó en anafase, registrando fragmentos y puentes, al igual que cromosomas con el centrómero inactivado e isocromosomas. En campos al azar se observaron 1000 células en interfase para determinar la incidencia de micronúcleos, así como el índice mitótico que se obtuvo de la siguiente manera:

$$IM = \frac{\text{NUMERO DE CELULAS EN DIVISION}}{\text{NUMERO TOTAL DE CELULAS}}$$

El análisis estadístico de los resultados se llevo a cabo mediante la prueba de diferencia de proporciones (Spiegel 1970).

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

$$q = 1 - p$$

$$\sigma (P_1 - P_2) = \sqrt{P \cdot q \left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}$$

$$Z = \frac{P_1 - P_2}{\sigma (P_1 - P_2)}$$

donde:

- N_1 = total de células analizadas en el testigo
- N_2 = total de células analizadas en cada concentración
- P_1 = índice mitótico del testigo expresado en porcentaje
- P_2 = índice mitótico en cada concentración expresado en porcentaje
- $\sigma (P_1 - P_2)$ = desviación estándar de los índices mitóticos
- Z = valor crítico
- p = probabilidad de encontrar células en mitosis
- q = probabilidad de encontrar células en interfase

Para cada una de las concentraciones se hizo un experimento y su repetición

RESULTADOS

Los resultados se muestran en las tablas I-VIII y en las figuras 3-15. A las frecuencias se les ha restado previamente el valor del testigo, por lo que éstas son las frecuencias relativas del efecto.

Los datos representan los promedios de un experimento y su repetición para todos los casos.

Las alteraciones cromosómicas se caracterizaron principalmente por la presencia de aberraciones de tipo cromatídico, la ocurrencia de cromosomas con centrómero inactivado, isocromosomas, así como anafases multipolares (Tablas I-II y figuras 6-7). Los micronúcleos se observaron en células en interfase (Tablas I-II y figuras 6-7). En general se encuentra una alteración por anafase, pero en ocasiones hay más de una. El índice mitótico fue otro criterio usado para evaluar el daño causado por estos insecticidas; con el Metomil, este presenta un marcado decremento al aumentar la concentración (Tablas III-IV y

figuras 10-11).

El Metomil es mas efectivo en la inducción de aberraciones (Tablas I-II y figuras 5-7), cuando se le compara con el Oxamil (Tablas V y VI), a las mismas concentraciones.

Las frecuencias de alteraciones causadas por 500, 1000, 2000 y 3000 ppm de Metomil, muestran de forma general que solo las aberraciones presentan una respuesta consistente con las concentraciones usadas, ya que se incrementan positivamente con relación a éstas, tanto para las 18 (Tabla I y figura 6) como para las 44 horas de recuperación (Tabla II y figura 7), no así los demás eventos registrados.

En estudios preliminares (datos no presentados), con un período corto de tratamiento (3 horas) sin recuperación, el Metomil no induce efecto, por lo que se dió un tratamiento largo de 4 horas de exposición con 18 y 44 horas de recuperación para ambos insecticidas, produciéndose principalmente aberraciones de tipo cromatídico tales como fragmentos y puentes sencillos en las concentraciones de 500, 1000, 2000 y 3000 ppm, en ambos tiempos de recuperación (Tablas I-II y figuras 6-7).

Al ir incrementando la concentración de Metomil, se nota un marcado decremento en el número total de anafases (Tablas I-II y figuras 8-9) y en el índice mitótico (Tablas III y IV, figuras 10-11). Al aplicar la prueba de diferencia de proporciones se observa que este último en todos los casos fue inhibido por el insecticida.

También es evidente el dano centromérico en todos los

tratamientos y periodos de recuperación, produciéndose cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas. (Tablas I-II y figuras 6-7).

Las anafases multipolares, se observan en la mayoría de los tratamientos y tiempos de recuperación (Tablas I-II y figuras 6-7).

Los micronúcleos también se manifiestan en todas las concentraciones y tiempos de recuperación (Tablas I-II y figuras 6-7).

En todas las concentraciones de Metomil utilizadas y en ambos tiempos de recuperación, las alteraciones mas comunes son las aberraciones cromatídicas, principalmente fragmentos y puentes (Tablas I-II y figuras 6-7). No se registran fragmentos ni puentes de tipo cromosómico y los valores indicados en estas columnas solamente corresponden al tipo cromatídico. Otras anomalías tales como cromosomas con centrómero inactivado, isocromosomas, anafases multipolares y micronúcleos se evidencian con menor frecuencia (Tablas I-II y figuras 6-7).

Ni los micronúcleos ni los cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas así como las anafases multipolares, presentan una respuesta consistente con las diferentes concentraciones utilizadas (Tablas I-II y figuras 6-7).

Quando se comparan los efectos de los tiempos de recuperación en los tratamientos con Metomil (Tablas I-II y figuras 4-5), se nota una disminución en la frecuencia de las alteraciones en el tiempo mayor para todos los eventos registrados y todas las concentraciones.

En el caso del Oxamil no se encuentran alteraciones después de 4 horas de tratamiento y 18 (Tabla V) ó 44 horas de recuperación (Tabla VI).

Con el Oxamil, a las mismas concentraciones utilizadas para el Metomil, no se observan aberraciones ni alteraciones tales como cromosomas con el centrómero inactivado, isocromosomas, anafases multipolares ó micronúcleos (Tablas V y VI).

Tampoco se manifiesta dano sobre la cantidad de anafases (Figuras 12 y 13) e índice mitótico (Tablas VII-VIII y figuras 14-15) con las diferentes concentraciones de Oxamil cuando se comparan con el testigo.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Es ampliamente reconocido que los contaminantes químicos representan un riesgo genético para el hombre, por lo que se requiere una investigación intensa y aunque los datos sobre su toxicidad, carcinogenicidad y teratogenicidad son necesarios antes de la comercialización de nuevos compuestos, no son solicitadas las pruebas para determinar su mutagenicidad (Grant 1973_b).

Las sociedades tecnológicas implican la exposición a muchas sustancias naturales y sintéticas, algunas han mostrado efecto mutagénico en diversos sistemas de prueba (Benigni et al. 1982) y, por lo tanto, pueden potencialmente aumentar el daño genético en la población humana. Estas sustancias, con actividad clastogénica, se han encontrado distribuidas en alimentos, tabaco, fármacos, aditivos alimenticios, cosméticos, compuestos industriales y plaguicidas (p.e. insecticidas) (Fishbein 1973, EPA 1986) y por razones obvias es prudente limitar en humanos las exposiciones a mutágenos ambientales.

Los pesticidas están entre los compuestos mas ampliamente usados en la agricultura (Durham y Williams 1972). Han sido empleados para el control de hierbas, hongos y principalmente insectos, en un gran rango de aplicaciones. Tales substancias han sido de importancia económica incuestionable, sin embargo, se ha descrito que la constitución hereditaria de los organismos expuestos puede ser alterada (Wuu y Grant 1967_b, Grant 1970, 1973_b, 1985, Pool et al. 1976), como se evidencia en los resultados de este estudio, con Metomil sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de *V. faba* (Tablas I-IV y figuras 4-11).

Algunos de estos agentes químicos, no tienen un efecto inmediato, tal vez como ocurre con el Oxamil en el presente trabajo (Tablas V y VI), pero pueden constituir un riesgo genético a largo plazo para el hombre (Ahmed et al. 1977).

Para prevenir el peligro y determinar el potencial mutagénico de un compuesto, se recomienda utilizar sistemas biológicos de prueba cuyos resultados se obtengan a corto plazo, sean de manejo sencillo y de fácil repetibilidad, aporten datos sencillos de interpretar y que además sean confiables (Dabney, 1981).

A pesar de las diferencias de metabolismo y de los mecanismos de reparación del ADN entre las especies, así como de otros procesos fisiológicos, que transforman a los mutágenos químicos, la virtual universalidad del ADN como material genético, proporciona una base justificable en el uso de diferentes sistemas de prueba no humanos para predecir la clastogenicidad de diversos compuestos (EPA 1986).

En contraste con las mas de 500 especies que han sido empleadas en estudios mutagenicos, relativamente pocas de ellas son usadas para determinar si un agente quimico en particular es un clastogeno, capaz de romper cromosomas (Shaw 1970) o un turbageno, que puede causar disturbios mitoticos tales como C-mitosis (Brogger 1978).

Las plantas superiores se han usado ampliamente en el analisis de los efectos geneticos de gran variedad de mutagenos, tanto quimicos como fisicos. Estos organismos ofrecen muchas ventajas para evaluar y monitorear a los contaminantes ambientales, determinando si un agente quimico puede causar cambios bruscos en el material genetico (Nilan y Vig 1976, Grant 1978, 1985, 1986, 1991, Grant et al. 1981, Grant y Zura 1982) ya que estos experimentos son poco costosos y de facil manejo (Grant 1982_b, Sandhu et al. 1991).

Las células meristemáticas de la raíz son frecuentemente utilizadas para el estudio de las aberraciones cromosómicas (Ma 1982) y *V. faba* ha sido mas empleada que cualquier otra especie (Grant 1982_b).

En un examen de la literatura citado por Shelby (1976), en el que se presentan las principales plantas usadas en estudios de las aberraciones cromosómicas en células de las raíces, en 538 referencias solo se describen 8 especies (Tabla IX). Como puede ser notado en dicha tabla, *Vicia faba* representa casi el 40 % de las investigaciones (Grant 1982_b).

Los ensayos llevados a cabo con mamiferos, filogenéticamente cercanos al humano, tienen mayor atención y credibilidad comparados con otros sistemas de prueba con no mamiferos y plantas (Grover et al. 1990).

No obstante, los datos de aberraciones cromosómicas en plantas superiores son comparables con aquellos para el mismo compuesto en células de mamífero (Grant 1982_{b, c}, Grover et al. 1990) o con otros organismos (Kihlman 1966, Clive y Spector 1978, Grant 1978, Sharma 1982, Moriya et al. 1983, Grover et al. 1985, 1990, EPA 1986).

Los ensayos en las raíces principales de *V. faba* han demostrado que es un sistema muy sensible y sencillo para detectar la inducción de aberraciones cromosómicas por varios agentes químicos (Grant 1982_{b, c}, Grover et al. 1990).

Las observaciones realizadas en este trabajo, después del tratamiento de las células meristemáticas de la raíz de *V. faba* con el insecticida carbámico Metomil, sugieren que éste, efectivamente interrumpe la integridad cromosómica de este organismo, no así el Oxamil.

Los registros en metafase y anafase, cuando los cromosomas se encuentran más contraídos e identificables (Conger 1965, Kihlman 1975, Savage 1975), son los más comúnmente utilizados para el análisis de alteraciones cromosómicas inducidas. Las aberraciones que aparecen en anafase pueden ser más fácilmente registradas que aquellas en metafase (Nicoloff y Gecheff 1976) y así proveen un medio rápido para estimar el daño cromosómico. Por el contrario el análisis en metafase da mayor información sobre los tipos de aberraciones que un agente químico puede producir (Grant 1982_b).

En este estudio se realizaron los registros en anafase porque permite, además de detectar las aberraciones cromosómicas como son puentes y fragmentos acéntricos (Kihlman 1975), observar otro tipo de

alteraciones como son los cromosomas con centrómero inactivado y los isocromosomas, que se producen al afectarse la región centromérica (Ramanna y Natarajan 1966, Tomkins y Grant 1972, Nicoloff y Gecheff 1976, Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1983), así como también los disturbios sobre el huso mitótico a través de las anafases multipolares (Gómez-Arroyo et al. 1986).

Después de tratamientos con un agente químico clastogénico, se espera evidenciar rupturas, intercambios y huecos ("gaps"), que pueden involucrar aberraciones, así como rearreglos. En el caso del Metomil, al realizar los registros solo en anafase, únicamente se encontraron aberraciones (rupturas y puentes) del tipo cromatídico, mientras que con el Oxamil a las mismas concentraciones no se produjo ninguna alteración.

La aplicación de los distintos tiempos de recuperación se hizo con el propósito de establecer la sensibilidad de las diferentes etapas del ciclo celular y determinar el comportamiento del Metomil y del Oxamil con respecto a la aparición de las aberraciones, en cuanto a efecto "retardado" o "no retardado" y si son S-dependientes o S-independientes (Gómez-Arroyo 1980, Valencia-Quintana 1987).

Gran cantidad de agentes físicos y químicos han sido descritos con capacidad para inducir aberraciones cromosómicas (Fishbein et al 1970, 1973, Grant 1970, 1973, 1982, Gómez-Arroyo et al. 1986), pero frecuentemente han existido contradicciones en las publicaciones que se refieren a los efectos de diferentes compuestos y no ha surgido una teoría general que explique su producción (Revell 1955, 1958, 1963, Wolff 1961_a, _b, Evans 1962, Kihlman 1966, Bender et al. 1974).

Un problema importante en la mutagénesis provocada por agentes químicos es la serie de eventos entre el tiempo de tratamiento con un agente y la expresión final de la alteración (Beattie y Kimball 1974).

En una revisión sobre el tema, Kihlman (1966) ha establecido que los agentes químicos pueden ser clasificados dentro de 2 grupos, según el momento del ciclo celular en el que se indujeron y el tiempo en el que las alteraciones comienzan a aparecer. Uno de ellos produce aberraciones en células que se evidencian en la mitosis poco después de la exposición y otro cuyos efectos se presentan únicamente al cabo de varias horas de terminado el tratamiento (como ocurre con el Metomil). A los compuestos del primer grupo, Kihlman los llama de efecto "no retardado", que ocasionan alteraciones en células que se encuentran al final de la fase S ó en G₂. Mientras aquellos que tienen una acción "retardada" se considera que actúan en la fase G₁ ó al principio de la fase S. La inducción de las aberraciones por compuestos que provocan sólo un efecto "retardado" pueden a priori manifestarse después de que la síntesis de ADN ha ocurrido (Bender et al. 1974).

Kihlman (1966) también destaca que la mayoría de los agentes químicos producen aberraciones cromatídicas, independientemente del estado del ciclo celular en el cual se encuentren al iniciarse el tratamiento y caen dentro de lo que él llama del tipo retardado.

En este trabajo, en los estudios preliminares (datos no presentados) al aplicar un tratamiento corto de 3 horas con Metomil sin recuperación, se observa que no causa efecto en los cromosomas de *V. faba*. Solo 18 y 44 horas después de la aplicación de 4 horas con este insecticida, se manifiesta su clastogenicidad. Este hecho permite

clasificar al Metomil como un agente que provoca retardo en la aparición de las aberraciones, de acuerdo con los criterios de Kihlman (1966) y Kihlman *et al.* (1978).

Los agentes físicos y químicos inducen dos tipos de dano, uno de ellos depende del periodo del ciclo celular que es afectado, induciendo aberraciones subcromatídicas, cromatídicas y cromosómicas; el otro únicamente origina aberraciones cromatídicas no importando la etapa del ciclo celular en la cual se encuentran las células al momento de la exposición. El primer grupo se considera como agentes S-independientes y el segundo como S-dependientes (Kihlman 1966, Bender *et al.* 1974, Kihlman *et al.* 1978, Natarajan y Obe 1978).

Con el Metomil, se observa que solo induce fragmentos y puentes cromatídicos, como una expresión del dano provocado en G_1 (18 horas de recuperación) y en G_2 (44 horas de recuperación), que se manifiesta únicamente después de que se realiza la replicación. Ya que como se menciona anteriormente, un tratamiento corto sin recuperación no causa alteraciones cromosómicas en el sistema de ensayo.

En vista de que el Metomil origina "retardo" en la aparición de las aberraciones y requiere de la síntesis de ADN para que la aberración se manifieste y estas son siempre del tipo cromatídico, se le puede incluir en el grupo de los agentes S-dependientes.

Como el Metomil, la gran mayoría de los compuestos descritos como capaces de inducir efectos clastogénicos, principalmente aberraciones, caen en la clase de agentes que producen aberraciones cromatídicas, pero únicamente en células tratadas en G_1 ó al principio de S, ó sea, que son

agentes S-dependientes, ya que como se menciona, las alteraciones sobre los cromosomas se expresan como una aberración, después de la síntesis del ADN (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1983). Los agentes alquilantes, los compuestos nitrosos y algunos antibióticos son ejemplos de ellos (Bender et al. 1974). La aparición de aberraciones es del tipo "retardado".

Evans y Scott (1964, 1969), establecen claramente que tanto la hidrazida maléica como el gas mostaza, ejemplos de esta clase de compuestos, inducen solo aberraciones del tipo cromatídico y además que la producción de aberraciones fue dependiente de la replicación (Brookes y Lawley 1964). Esto ha sido posteriormente descrito para otros compuestos de esta clase, como ocurre en este estudio.

Kimball y Setlow (1972, 1974), demuestran que después del tratamiento de *Haemophilus influenzae* con la N-metil-N-nitroso-N-guanidina, la cinética de la "fijación de mutaciones", medida como un incremento en la capacidad del ADN de células lisadas para originar mutantes resistentes a la novomicina, por transformación, corresponde estrechamente a la cinética de la síntesis de ADN. Además bajo condiciones de reducción de la síntesis de ADN la cantidad de fijación de mutaciones se disminuye. Resultados similares se obtienen con el N-Nitroso-Carbaryl, lo que sugiere que la fijación de la mutación depende de la replicación del ADN (Beattie y Kimball 1974).

Este es el patrón de producción de aberraciones encontrado por la inducción de dímeros de pirimidina-ciclobutano con luz ultravioleta. Por analogía se puede asumir que los compuestos de esta clase, también provocan una alteración química en la cadena de ADN (pero no una

ruptura), que si aún persiste cuando las células alcanzan la fase S impide la terminación de la síntesis de la nueva cadena. Si el modelo de aberraciones cromosómicas es correcto, este tipo de agentes químicos actúa solo durante la fase S simplemente debido a que causan estos huecos ("gaps") que son dejados en la hebra recién sintetizada, opuestos a las lesiones que ellos inducen en el ADN progenitor. Ya que la molécula de ADN es de una sola hebra en este punto, es susceptible del ataque por nucleasas de una sola hebra, provocando así rupturas de doble cadena. Estas escisiones presentes después de que la replicación se ha completado, constituyen las rupturas cromatídicas, a menos que sean reparadas (Bender et al. 1974).

Bender (1980), propone un modelo explicando la formación de aberraciones de tipo cromatídico. De acuerdo con él, las rupturas se originan de rompimientos de la doble cadena de ADN y éstos últimos a su vez de fracturas en una sola hebra después de la acción de endonucleasas específicas (Cieminiś et al. 1987).

Se considera que por su comportamiento y por el tipo de aberraciones producidas, el Metomil podría ser, o presentar en su molécula, alguna porción alquilante, susceptible de actuar como agente S-dependiente y de producir efectos clastogénicos

Gran cantidad de sustancias con acción clastogénica son clasificadas como agentes S-dependientes. Algunos de los mejor conocidos son los alquilantes (Evans y Scott 1969, Bender et al. 1973, 1974).

Dentro de los productos celulares de reacción de estas sustancias, las alquilaciones al ADN son de gran

importancia para la toxicología genética (Brendel y Ruhland 1984)

Este tipo de agentes inducen una amplia variedad de efectos biológicos con importancia desde el punto de vista genético (Natarajan et al. 1984), que van desde simples sustituciones de pares de bases en el ADN hasta cambios en el número cromosómico (Brendel y Ruhland 1984, Schmähl 1986, Bonatti et al. 1990), incluyendo la producción de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y muerte celular (Natarajan et al. 1984).

Mientras que los "huecos" ("gaps") en el ADN que resultan de errores en la replicación ("mis-replication") de la hebra patrón alquilada, se considera que son los causantes de la formación de aberraciones, las lesiones específicas de alquilación que producen estos "huecos" no son bien conocidas (Schwartz 1989).

Han sido establecidos los efectos mutagénicos y carcinogénicos de los agentes alquilantes mediante sus interacciones covalentes (enlaces) con el ADN celular (Ferguson et al. 1989).

Aunque las propiedades biológicas (citotoxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad) de los agentes alquilantes resultan de sus uniones con el ADN, tales compuestos generalmente no presentan afinidad especial de enlace (Brendel y Ruhland 1984, Ferguson et al. 1989). Su ocurrencia en el ambiente es amplia y la exposición humana a fuentes naturales y de contaminación es universal (Beranek 1990).

Desde los primeros reportes de mutaciones inducidas

por el gas mostaza en los 40's (Auerbach 1967), los científicos han tratado de determinar el riesgo que implica la exposición a estos agentes químicos.

Los agentes alquilantes son mutagénicos y carcinogénicos en una gran variedad de organismos (Beranek 1990), provocan un amplio espectro de alteraciones en las células expuestas, incluyendo alquilaciones en sitios específicos del ADN (Lawley y Thatcher 1970, Beranek et al. 1980).

Ha sido establecida la correlación entre estas alquilaciones específicas y diferentes marcadores biológicos, su cinética y acción mutagénica (Vogel y Natarajan 1979, 1982), la estabilidad de los aductos ADN-grupo alquilo (Den Engelse et al. 1986) y la reparación de aductos *in vivo* e *in vitro* (Saffhill et al. 1985, Singer 1985). También son utilizados en estudios de dosimetría, determinando aductos en la hemoglobina para predecir riesgo mutagénico (Osterman-Golkar et al. 1976, Segerback et al. 1978, Tannenbaum y Skipper 1984, Osterman-Golkar y Bergmark 1988, Perera 1988), pero aquellas lesiones involucradas en la producción de aberraciones cromosómicas, han sido ambigüamente identificadas (Connell y Medcalf 1982, Bonatti y Abbondandolo 1969) y se conoce poco sobre los mecanismos que causan este tipo de alteraciones por este grupo de sustancias (Bonatti et al. 1990).

Se sospecha que lesiones en el ADN son precursoras necesarias para la formación de aberraciones cromosómicas (Kihlman 1977, Natarajan y Obe 1978, 1984, Natarajan et al. 1980, Makedonov y Tarasov 1982).

Diferentes tipos de dano son inducidos en el ADN

dependiendo del agente mutagénico empleado (Darroudi et al. 1989). Los alquilantes reaccionan con una variedad de sitios nucleofílicos en el ADN y proteínas formando diversas clases de aductos (Natarajan et al. 1984)

Como consecuencia del ataque por agentes metilantes resultan sitios apurínicos debido a una despurinación espontánea y/o por escisión enzimática de N³- y N⁷-metilpurinas, lo que provoca un bloqueo en la síntesis del ADN que origina regiones sin replicar ("gaps"), que pueden persistir en la mitosis y producir aberraciones (Schwartz 1989).

La principal lesión alquilante que se conoce que impide la replicación es el aducto 3-metil adenina (Larson et al. 1985). Es así probable que al menos una proporción de las rupturas del ADN sean los huecos dejados por una replicación incompleta debido a la incapacidad para replicar al paso de 3-metil adenina *in vivo*. Es posible que existan endonucleasas que puedan actuar en los sitios de alquilación para causar rupturas en la hebra hija (Schwartz 1989).

Asimismo se podrían esperar rupturas de doble hebra en el caso de que se formaran "huecos" opuestos a los sitios apurínicos. Schwartz (1989) encuentra que este tipo de alteraciones no es una lesión importante involucrada en la ruptura del ADN dependiente de la fase S para la N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) y el metil metano sulfonato (MMS).

Otra alteración inducida por los agentes alquilantes es la lesión O⁶-metil guanina. El mecanismo por el cual ésta es letal y clastogénica se desconoce. El aducto no bloquea la síntesis del ADN, de tal manera que no genera

de manera directa algún "hueco" (Larson et al. 1985).

Errores en la reparación podrían remover la base que incorrectamente ha sido recién incorporada, opuesta a la alteración, produciendo una ruptura en la hebra del ADN. Si esta no es reparada, posiblemente persistiría y provocaría aberraciones y letalidad (Bonatti et al. 1985), aunque no existen evidencias directas que apoyen esta hipótesis (Schwartz 1989, Bonatti et al. 1990).

Como se observa con el Metomil, (Tablas I-II y figuras 4-5), se presenta un decremento en las frecuencias de alteraciones cromosómicas cuando se aumenta el tiempo de recuperación.

La explicación de este comportamiento puede ser muy variada. De acuerdo con esto, Schwartz (1989), en un estudio con células en G₁, marcadas con ¹⁴C, tratadas con MNNG y cultivadas por 16 horas, encuentra una reducción aproximadamente del 65 % del daño por alquilación, con respecto a experimentos realizados en células expuestas e inmediatamente analizadas; estableciendo la posibilidad de que esto sea debido a que ocurre reparación durante el tiempo de cultivo.

Por otra parte, Kaina et al. (1990), proponen que esto es causado por algún mecanismo de remoción de los productos de alquilación, ya que demuestran en células de la línea 27-1 de cricetos, que la frecuencia de 3 tipos de purinas metiladas declinan durante las 24 horas de incubación posteriores a la exposición de MNNG.

Aunque los sistemas empleados por Schwartz (1989) y Kaina et al. (1990) son diferentes, algo similar

posiblemente ocurre con el Metomil, ya que de alguna manera las lesiones pueden estar siendo reparadas.

La remoción enzimática del daño inducido por alquilación en células vivas se realiza principalmente a 3 niveles: (1) des- o trans-alkilación del grupo alquilo por la enzima de reparación; (2) la remoción de la base modificada por una glicosilasa (específica) dejando un sitio apurínico o apirimídico y bases alquiladas libres, seguida por inserción de purinas/pirimidinas o reemplazamientos por endonucleasas AP y (3) escisión de nucleótidos, resultando en la liberación de una cadena de nucleótidos conteniendo el sitio dañado (Brendel y Ruhland 1984). Los dos últimos de acuerdo con Beranek (1990) pueden agruparse como procesos de reparación por escisión.

Por otra parte, los datos de alquilación obtenidos de varias etapas de desarrollo, indican que la formación de aductos es dependiente del estado del ciclo celular al momento del tratamiento y que los niveles de aducción pueden reflejar la capacidad de reparación del periodo en particular estudiado (Beranek 1990).

De acuerdo con esto, las diferencias observadas con Metomil en los diversos tiempos de recuperación dados (Figuras 4-5), pueden estar reflejando la distinta sensibilidad de las células al ser tratadas en G₁ (18 horas de recuperación) y G₂ (44 horas de recuperación).

Schwartz (1989), al estudiar los efectos de la MNNG, en un análisis de las rupturas de la cadena de ADN no alquilada (hebra hija), encuentra una mayor frecuencia de rupturas, lo que sugiere que esta hebra tiene más fracturas y/o lesiones alcali-lábiles que su hebra patrón.

Tratamientos de células de ovario de cricetos con MNNG y MMS, después de 1 hora, revelan la presencia de rompimientos en la hebra de ADN alquilada (hebra patrón). Sin embargo, estas son reparadas rápidamente ya que 18 horas después de la alquilación muy pocas son detectadas. En contraste, la hebra hija en este último tiempo presenta un número significativo de rupturas (Schwartz 1989). Estos resultados pueden explicar las diferencias en las frecuencias de alteraciones observadas en los distintos tiempos de recuperación después de 4 horas de tratamiento con Metomil, lo cual posiblemente implica que al alargarse el tiempo de recuperación, puede aumentar la capacidad de reparación, o probablemente la sensibilidad de G_1 sea mayor con respecto a G_2 para este agente.

Otro criterio para estimar el daño genético provocado tanto por agentes físicos como químicos es la prueba de micronúcleos (Heddle 1973, 1990, Schmid 1973, Von Ledeber y Schmid 1973, Mattern y Grauwiler 1974). Ma et al. (1978) y Ma (1979), recomiendan el uso de la prueba de micronúcleos como un indicador de daño cromosómico producido por mutágenos ambientales. Esta prueba identifica agentes que son clastogénicos y/o capaces de inducir aneuploidias por la no disyunción cromosómica durante la división celular (Rolandi et al. 1984). Los micronúcleos son usualmente observados en interfase (Ma 1979) y generalmente la mayor contribución en su formación depende de los fragmentos acéntricos (Read 1959), los cuales no son transportados por el huso a los polos durante la anafase (Schmid 1975) y no se incorporan a los núcleos hijos quedando en el citoplasma constituyendo estas alteraciones. Otro elemento que origina micronúcleos son los cromosomas con centrómero inactivado y los isocromosomas que se han quedado fuera de la cinética normal de la anafase debido a disturbios en el centrómero (Ramanna y Natarajan 1966, Tomkins y Grant 1972, Schmid 1973, 1975, Mattern y Grauwiler 1974, Nicoloff y Gecheff 1976).

El uso de la prueba de micronúcleos en eritrocitos policromáticos *in vivo* en el ratón, es ahora reconocido y está estandarizado como un indicador de dano (Mattern y Schmid 1971, Schmid 1975, Jensen y Ramel 1980). Además debido a su elevada factibilidad, junto con una mayor simplicidad y rapidez de registro con respecto a las otras pruebas citogenéticas, el uso de este tipo de ensayo está siendo extendido a otros organismos (Heddle 1973, 1990, Countryman y Heddle 1976, Ma 1979, Tates et al. 1980). En particular, la posibilidad de inducir micronúcleos con mutágenos en *V. faba* ha sido conocida hace ya algún tiempo (Read y Kihlman 1956) y recientemente este análisis ha sido usado como una prueba de mutagénesis (Turchi et al. 1980, Rolandi et al. 1984).

Este evento registrado en células en interfase, provee un método sencillo para detectar la presencia de dano cromosómico (Read 1959, Heddle 1973, Schmid 1973, Von Ledebur y Schmid 1973).

Con el Metomil los micronúcleos aparecen en todas las concentraciones y tiempos de recuperación. Sin embargo, los resultados no presentan una relación entre la producción de micronúcleos y las diversas concentraciones ensayadas, por el contrario fue encontrada una distribución irregular (Tablas I-II y figuras 6-7), haciendo de esta prueba únicamente un monitor cualitativo mas que cuantitativo para determinar el dano causado por los insecticidas al menos en este caso particular. No obstante, es posible usarlos como sensores para establecer, de una manera rápida, si un compuesto induce dano cromosómico (Baiza 1980, Gómez-Arroyo 1980, Valencia-Quintana 1987).

El centrómero también fue afectado por el Metomil. Su inactivación (Tomkins y Grant 1972) fue detectada en

todas las concentraciones y tiempos de recuperación dando origen a los cromosomas con centrómero inactivado (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1983, Gómez-Arroyo et al. 1986) o al rompimiento anormal en sentido transversal, en vez de longitudinal de la región centromérica constituyendo isocromosomas (Ramanna y Natarajan 1966, Nicoloff y Gecheff 1976, Gómez-Arroyo et al. 1986). En ambos casos los cromosomas afectados quedan fuera de la cinética normal de la anafase ya que no se integran a los núcleos hijos y pueden provocar micronúcleos y aneuploidias (Ramanna y Natarajan 1966, Gómez-Arroyo 1980, Gómez-Arroyo et al. 1986).

Se han considerado otros posibles mecanismos por los cuales los cromosomas pueden quedar fuera de la cinética de la anafase. Barthelmess (1957), atribuye este fenómeno a que en la prometafase, durante la mitosis, hay un impedimento del movimiento de éstos hacia la placa ecuatorial debido a la adhesión de los centrómeros de uno o mas cromosomas a la membrana nuclear o a la capa externa del plasma. Por otro lado, Schmid (1973, 1975), así como Mattern y Grauwiler (1974), señalan que el dano parcial o los disturbios en el huso mitótico pueden dar como resultado cromosomas con centrómero inactivado.

En este trabajo los isocromosomas y los cromosomas con centrómero inactivado, no muestran dependencia con las diferentes concentraciones de Metomil usadas, siendo este dano el que, en forma general, presenta las frecuencias mas bajas de incidencia (Tablas V y VI, figuras 7-10).

Algunos agentes químicos provocan un efecto C-mitótico (Levan 1938, Levan y Ostergren 1943) solo o en adición a las aberraciones cromosómicas. Tales sustancias causan una inactivación del mecanismo del huso, llevando a la restitución de núcleos con el número doble de

cromosomas (efecto no presentado por los insecticidas estudiados). Una inactivación parcial del huso puede llevar a un movimiento irregular de los cromosomas en anafase, produciéndose en este caso anafases multipolares (Wuu y Grant 1966).

Además del daño cromosómico inducido por el Metomil, y del producido en el centrómero, se observan disturbios en el huso acromático. Esta estructura está formada por fibras de dos tipos: cromosómicas, que están unidas a los centrómeros y continuas, que corren de uno a otro polo de la célula (Bajer 1961), constituidas por microtúbulos, que son el resultado de la polimerización lineal de las moléculas de tubulina, unidas mediante enlaces -S-S- (disulfuro). Los microtúbulos están agrupados paralelamente entre sí por puentes de hidrógeno (Brachet 1975). Además de las proteínas, otros de sus constituyentes son los polisacáridos, los lípidos y el ARN (Mazia 1961).

La alteración en la formación y el funcionamiento del huso pueden traer como consecuencia la producción de anafases multipolares, integrándose más de los dos grupos normales de cromosomas, que en telofase se presentan como núcleos separados, los cuales pueden ser divididos por paredes celulares individuales, originándose células con números cromosómicos menores de $2n$ (Baiza 1980, Gómez-Arroyo 1980).

En el presente estudio las alteraciones en el huso mitótico no tienen una clara dependencia con las concentraciones para el Metomil al igual que con los efectos mencionados sobre el centrómero (Tablas V y VI, figuras 7-10).

Se ha descrito que las alteraciones cromosómicas provocan directamente la muerte celular (Heddle y Salomone 1981), por lo que los cambios en el número total de anafases y/o principalmente en el índice mitótico pueden ser considerados como indicadores de daño.

Bloqueos en la síntesis de ADN inducen regiones sin replicación, "huecos", que pueden persistir en mitosis y provocar la formación de aberraciones cromosómicas. Debido a que las aberraciones cromosómicas se correlacionan estrechamente con la muerte celular, es probable que las lesiones que bloquean la síntesis de ADN, sean citotóxicas (Schwartz 1989).

Ambas situaciones se encuentran con el Metomil. Se observa un aumento en la inducción de alteraciones cromosómicas con el incremento de las concentraciones y por otro lado un decremento en la división celular (Tablas III-IV y figuras 8-11).

De acuerdo con esto, Darroudi et al. (1989), hacen una comparación entre sobrevivencia, aberraciones e intercambios de cromátidas hermanas, encontrando que en las líneas celulares CHO-9 y 43-3B de cricetos, se encuentra una relación positiva entre muerte celular y frecuencia inducida de aberraciones después de tratamientos con 4NQO, MMC ó DEB.

El índice mitótico constituye un criterio para evaluar el daño fisiológico que provocan los diversos agentes. Se ha demostrado que tanto las radiaciones (Davidson 1959, 1960, Haber y Foard 1964, Burholt y Van't Hof 1972), así como algunas sustancias tales como los nucleosidos de adenina, la azaserina, el bromuro de etilo y la cicloeximida, entre otras (Kihlman 1966, Bruchovsky

1967, Kovacs y Van't Hof 1971, Webster 1973, Mc Gill et al. 1974), producen inhibición de la división celular.

Estos agentes pueden influir principalmente en ciertas fases del ciclo celular, como evitar la entrada de las células en la mitosis, la formación del huso funcional y la citocinesis (Kihlman 1966), suprimiendo la división de la célula, del núcleo, de los cromosomas (cuando actúan en G_1 ó S), así como la separación de las cromátidas (actúan en G_2), pero no necesariamente la replicación cromosómica (Kihlman 1966).

Generalmente el estado afectado de la célula es la interfase y en ocasiones la profase temprana, cuando esto último sucede es posible la reversión de las células a interfase (D'Amato 1949).

Edmunds (1964), ha demostrado que si se impide la síntesis de ADN no hay división celular. Dentro de los agentes que afectan al ADN y su metabolismo se encuentran los inhibidores de la síntesis y de los precursores del ADN y aquellos que modifican su estructura, como los agentes alquilantes (Kihlman 1966).

Para agentes metilantes, tanto los sitiosapurínicos como la N^3 -metiladenina intacta, son capaces de suprimir la replicación del ADN *in vitro* (Sagher y Strauss 1983, Larson et al. 1985). Posiblemente en el caso del Metomil un mecanismo similar ocurre por su parte alquilante.

La principal lesión alquilante que bloquea la replicación es el aducto N^3 -metil adenina (Larson et al. 1985).

La inhibición de la formación (Mueller 1969) y de la función del huso mitótico impiden las divisiones celulares (Kihlman 1966, George et al. 1970) y nucleares (Kihlman 1966).

Por otra parte, se ha demostrado que la supresión de los procesos necesarios para que se lleven a cabo tanto el ciclo celular como la síntesis de ARN y de proteínas, reprimen la proliferación de las células (Donnelly y Siskin 1967, Mueller 1969, Webster y Van't Hof 1970).

En este modelo experimental se observa que solo el Metomil resulta tóxico para las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, ya que presenta un efecto inhibidor sobre la división celular. La cantidad de anafases observadas (Tablas I-II y figuras 8-9), así como el índice mitótico (Tablas III-IV y figuras 10-11) presentan un marcado decremento al aumentar la concentración. Por medio de la prueba de diferencia de proporciones (Spiegel 1970), se encuentra que las variaciones en los índices mitóticos son significativas cuando se comparan con el testigo (Tablas III-IV)

Si se considera que la probable vía de acción del Metomil es debido a alguna parte alquilante de su molécula, se ha encontrado que en adición o como consecuencia de cambios estructurales provocados por este tipo de compuestos, se inducen alteraciones funcionales en varias partes del metabolismo celular (Fleer y Brendel 1979). Se asume que la inhibición de la replicación es la más significativa (Colvin 1981), pero la síntesis de ARN y proteínas son también suprimidas. De ahí su efecto sobre el número total de anafases (Tablas I-II y figuras 8-9) y el índice mitótico (Tablas III-IV y figuras 10-11).

Existen diferencias entre los agentes alquilantes y sus efectos sobre el material genético. Situación evidenciada en el presente trabajo con dos agentes químicos similares, siendo uno clastogénico (Metomil) y otro no (Oxamil), en las mismas condiciones de estudio.

Los agentes etilantes son generalmente mejores mutágenos y carcinógenos que sus contrapartes metilantes (Den Engelse et al. 1986, Singer 1985).

Los metilantes aunque de 10 a 20 veces mas reactivos que los etilantes inducen aductos que son reparados mas efectivamente, siendo asi menos mutagénicos (Singer 1985).

Se ha concluido en otros trabajos, que la estrecha similitud de dos agentes químicos, no siempre conduce a una actividad biológica similar, aunque esto usualmente ocurre (Ashby 1991).

Por ejemplo, el carbamato de metilo da resultados negativos en la prueba de micronúcleos en médula ósea de ratón (Shelby y Tice 1991), mientras que el carbamato de etilo es capaz de inducir micronúcleos en el mismo sistema de prueba (Holmstrom 1990).

La misma situación se encuentra en este trabajo, dos insecticidas carbámicos similares dan respuestas contrarias en la inducción de alteraciones cromosómicas (Tablas V-VI y XI-XII) así como en su efecto sobre el índice mitótico (Tablas VII-X y XII-XVI), en las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, en las mismas condiciones, a pesar de su gran similitud estructural (Anexos 3 y 8).

Al analizar la actividad mutagénica de tres compuestos N-metil-N-nitrosos, se nota que la diferencia en su potencia puede deberse a la formación diferencial de metabolitos intermedios dentro de la célula (Elespuru et al. 1974, Ashby 1991), o a una asimilación diferente de los compuestos, gobernada por la estructura de la molécula, asimismo la solubilidad en lípidos parece ser otro factor que influye en su actividad biológica (Elespuru et al. 1974).

Los agentes alquilantes pueden penetrar las células con o sin la ayuda de mecanismos de transporte específicos (Byfiel y Calabro-Jones 1981, Colvin 1981), lo que refleja las diferentes características fisicoquímicas de esta clase heterogénea de compuestos. En adición a su "funcionalidad" las propiedades químicas o las transformaciones metabólicas pueden influir en los productos celulares de reacción en cuanto a tipos y frecuencias relativas y por lo tanto sobre sus efectos biológicos (Lawley 1976).

Por otra parte, tanto la formación, como la persistencia de las lesiones en el ADN, son el resultado de varios procesos sobrelapados tales como la activación y la degradación de las moléculas de mutágeno, su transferencia a los blancos biológicos, las propiedades fisicoquímicas (influidas por la temperatura, el pH, etc.), así como la pérdida espontánea o enzimática de lesiones por los procesos de reparación (Brendel y Ruhland 1984).

Una característica general de los agentes alquilantes es la falta de estabilidad tanto de ellos mismos como de las lesiones que inducen. La pérdida de potencia alquilante en soluciones acuosas (hidrólisis) puede ocurrir en minutos (p.e. sulfuro de mostaza) o durante la

incubación prolongada (vidas medias mayores de 10 horas, p.e. metanosulfonatos) (Lawley 1976, Brendel y Ruhland 1984).

Las respuestas a la diferencia en la capacidad genotóxica del Metomil y Oxamil puede ser muy variada.

Si se analizan las estructuras de sus respectivas moléculas, la única diferencia que se encuentra entre estas son los radicales CH_3- en el Metomil y $(\text{CH}_3)_2\text{NC}-$ en el Oxamil.

De alguna manera, puede ser que estos radicales influyan en la capacidad clastogénica de estos compuestos y de ahí sus efectos distintos.

El Metomil es eficaz en la inducción de aberraciones cromátidicas y en la inhibición del índice mitótico. Basados en estas observaciones este plaguicida puede ser clasificado como mutagénico y altamente tóxico. Como este pesticida es ampliamente utilizado en la agricultura puede representar un riesgo genético potencial para las personas expuestas.

El Oxamil a las concentraciones empleadas en este trabajo es incapaz de inducir aberraciones y de incidir sobre el índice mitótico (Tablas V-VI y figuras 12-15), lo cual puede ser debido al hecho de que las concentraciones empleadas fueron insuficientes o a que el producto en sí puede no ser clastogénico. Sin embargo, mayores estudios tanto a nivel bioquímico como citológico son necesarios para establecer la mutagenicidad o la no clastogenicidad de los pesticidas bajo estudio.

Esto permitirá contribuir a la categorización de este grupo de insecticidas de acuerdo a su potencia mutagenica, de tal manera que se podrá recomendar el uso de agroquímicos que representen un menor riesgo genético para la población en general.

REFERENCIAS

- Ahmed F.E., Hart. R.W. y Lewis N.J. 1977. Pesticide induced DNA damage and its repair in cultured human cells. *Mutat. Res.* 42: 161-174.
- ANIQ (Anuario de la Industria Química Mexicana) 1973. La Industria Agroquímica. Capítulo VIII. Asociación Nacional de la Industria Química, México, pp. 103-107.
- ANIQ (Anuario de la Industria Química Mexicana) 1985. La industria Agroquímica. Capítulo IX. Asociación Nacional de la Industria Química, México, pp. 359-383.
- Ashby J. 1991. Genotoxicity data supporting the proposed metabolic activation of ethyl carbamate (urethane) to a carcinogen: the problem now posed by methyl carbamate. Series: 'Current Issues in

Mutagenesis and Carcinogenesis', No. 26. *Mutat. Res.*
260: 307-308.

Ashwood-Smith M.J., Trevino J. y Ring R. 1972.
Mutagenicity of dichlorvos. *Nature* 240: 418-420.

Auerbach C. 1967. The chemical production of mutations.
Science 158: 1141-1147.

Axelson O. y Sundell L. 1974. Herbicide exposure
mortality and tumor incidence, an epidemiological
investigation on swedish railroad workers. *Work*
Environ. Health 11: 21-82.

Badr A. e Ibrahim A.G. 1987. Effect of herbicide glean on
mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Allium*
cepa and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia* 52:
293-302.

Saiza A. 1980. Efectos producidos por el malation en los
cromosomas de las células meristemáticas de la raíz
de *Vicia faba*. Tesis de Licenciatura, Facultad de
Ciencias, UNAM, México.

Bajer A. 1961. A note on the behaviour of spindle fibers
at mitosis. *Chromosoma* 12: 64-71.

Barberá C. 1976. *Pesticidas Agrícolas* 3ª edición. Omega,
Barcelona, pp. 201-219.

Barthelmess A. 1957. Chemisch induzierte multipolare

mitosen. *Protoplasma* 48: 546-561.

Beattie K.L. 1975. N-nitrosocarbaryl-induced mutagenesis in *Haemophilus influenzae* strains deficient in repair and recombination. *Mutat. Res.* 27: 201-217.

Beattie K.L. y Kimball R. 1974. Involvement of DNA replication and repair in mutagenesis of *Haemophilus influenzae* induced by N-nitrosocarbaryl. *Mutat. Res.* 24: 105-115.

Bell S.L., Schwarz O.J. y Hughes K.W. 1976. Studies of the herbicide paraquat. I. Effects on the cell cycle and DNA synthesis in *Vicia faba*. *Can. J. Genet. Cytol.* 18: 93-99.

Bender M.A. 1980. Relationship of DNA lesions and their repair to chromosomal aberration production. En: W.M. Generoso, M.D. Shelby y F.J. de Serres (Eds.). *DNA Repair and Mutagenesis in Eucaryotes*. Plenum, Nueva York. pp. 245-266.

Bender M.A., Griggs H.G. y Walker P.L. 1973. Mechanisms of chromosomal aberrations production. I. Aberrations inductions by ultraviolet light. *Mutat. Res.* 20: 387-402.

Bender M.A., Griggs H.G. y Bedford J.S. 1974. Mechanisms of chromosomal aberration production. III. Chemicals and ionizing radiation. *Mutat. Res.* 23: 197-212.

- Benigni R., Dogliotti E., Falcone E. y Calcagnile A.** 1982. DNA repair studies on diallate, triallate and sulfallate in human cell cultures. *Mutat. Res.* 103: 385-390.
- Beranek D.T.** 1990. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents. *Mutat. Res.* 231: 11-30.
- Beranek D.T., Weiss C.C. y Swenson D.H.** 1980. A comprehensive quantitative analysis of methylated and ethylated DNA using high pressure liquid chromatography. *Carcinogenesis* 1: 595-606.
- Blevins R.D., Lee M. y Regan J.D.** 1977_a. Mutagenicity screening of five methyl carbamate insecticides and their nitroso derivatives using mutants of *Salmonella typhimurium* LT₂. *Mutat. Res.* 56: 1-6.
- Blevins R.D., Lijinski W. y Regan J.D.** 1977_b. Nitrosated methylcarbamate insecticides: effect on the DNA of human cells. *Mutat. Res.* 44: 1-7.
- Bleyl D.W.R. y Lewerenz H.J.** 1978. Zur teratogen Wirkung von Propylenthioharnstoff bei Ratten. *Monatshefte Veterinarmed.* 33: 137-139.
- Bonatti S. y Abbondandolo A.** 1989. The search for the molecular lesion responsible for the induction of chromosomal damage by alkylating agents. *Ann. Inst. Super. Sanita* 25: 205-212.

- Bonatti S., Simi L. y Abbondandolo A. 1985. The effect of thymidine on the induction of micronuclei by alkylating agents in V79 Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 150: 347-353.
- Bonatti S., Cercignani G., Rocco M. y Abbondandolo A. 1990. Aneuploidy induction by alkylated bases and nucleosides in mammalian cells. En: M.L. Mendelsohn y R.J. Albertini (Eds.). *Mutation and the Environment. Parte B. Metabolism, Testing Methods, and Chromosomes.* *Prog. Clin. Biol. Res.* 340B: 237-246.
- Brachet J. 1975. *Introducción a la Biología Molecular.* H. Blume, Madrid. pp. 125-128.
- Brendel M. y Ruhland A. 1984. Relationships between functionality and genetic toxicology of selected DNA-damaging agents. *Mutat. Res.* 133: 51-85.
- Bridges B.A., Mottershead R.P., Green M.H.L. y Gray W.J.H. 1973. Mutagenicity of dichlorvos and methyl methanesulphonate for *Escherichia coli* WP₂ and some derivatives deficient in DNA repair. *Mutat. Res.* 19: 295-303.
- Brogger A. 1978. Chromosome damage in human mitotic cells after *in vivo* and *in vitro* exposure to mutagens. En: *Expert Conference on Genetic Damage in Man Caused by Environmental Agents.* Academic Press, Nueva York.
- Brookes P. y Lawley P.D. 1964. Alkylating agents. *Brit.*

Med. Bull. 20: 91-95.

Brown A.W.A. 1978. *Ecology of Pesticides*. Cap. 1. Introduction to Insecticides, Herbicides, and Fungicides. Wiley, Nueva York. pp. 1-27.

Brown A.W.A., Haworth J. y Zahar A.R. 1976. Malaria eradication and control from global standpoint. *J. Med. Entomol.* 13: 1-25.

Bruchovsky N. 1967. Effects of beta-phenethyl alcohol on mouse L cells in suspension culture. II. Effects on the cell division cycle. *Mol. Pharmacol.* 3: 133-141.

Brusick D., Simmon V., Rosenkranz H., Ray V. y Stafford R. 1980. An evaluation of the *Escherichia coli* WP₂ and WP₂ UVR. A reverse mutation assay. *Mutat. Res.* 76: 169-190.

Burholt D.R. y Van't Hof J. 1972. Cell population kinetics of *Pisum* root meristem cell during and after a mitotic inhibitory exposure to protracted gamma irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 21: 307-319.

Byfield J.E. y Calabro-Jones P.M. 1981. Carrier-dependent and carrier-independent transport of anti-cancer alkylating agents. *Nature* 294: 281-283.

Chii-Ling J. y Gwo-Chen 1980. Screening of pesticides for mutagenicity by using microbial system II with mammalian microsomal activation. *K'o Hsuch aFa Chan Yueh K'an* 8: 551-559.

Cieminis K.G.K., Ranceliene V.M., Prijalgauskienė A.J.,
Tiunaitienė N.V., Rudzianskaitė A.M. y Jancys Z.J.
1987. Chromosome and DNA damage and their repair in
higher plants irradiated with short-wave ultraviolet
light. *Mutat. Res.* 181: 9-16.

Clive D. y Spector J.F.S. 1978. Comparative chemical
mutagenesis: an overview. En: F.J. de Serres (Ed.).
*Proceedings of the Comparative Chemical Mutagenesis
Workshop.* NIEHS, EUA.

Colvin M. 1981. Molecular pharmacology of alkylating
agents. *Cancer and Chemotherapy* 3: 287-302.

Conger A.D. 1965. The metaphase aberrations. *Radiat.
Bot.* 5: 81-96.

Conger A.D. y Fairchild L.M. 1953. A quick-freeze method
for making smear slides permanents. *Stain Technol.*
28: 281-283.

Connel J.R. y Medcalf A.S.C. 1982. The induction of SCE
and chromosomal aberrations with relation to specific
base methylation of DNA in Chinese hamster cells by
N-methyl-N-nitrosourea and dimethyl sulfate.
Carcinogenesis 3: 385-390.

Constantin M.J. y Owens E.T. 1982. Introduction and
perspectives of plant genetic and cytogenetic assays.
A report of the U.S. Environmental Protection Agency.
Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99: 1-12.

- Constantin M.J., de Serres F.J., Nilan R.A., Sandhu S. y Shelby M.D. 1981. Pollen system to detect biological activity of environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.* 37: 1-168.
- Countryman R.I. y Heddle J.A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.* 41: 321-332.
- Coutts H.H. 1980. Field worker exposure during pesticide application. En: W.F. Tordoir y E.A.H. van Heemstra (Eds.). *Field Worker exposure during pesticide application. Studies in Environmental Science* 7. Elsevier. Amsterdam pp. 39-45.
- Cremlyn R.J.W. 1978_a. *Pesticides: Preparation and Mode of Action*. Cap. 1. Introduction. Wiley, Nueva York, pp. 1-11.
- Cremlyn R.J.W. 1978_b. *Pesticides: Preparation and Mode of Action*. Cap. 14. Pesticides in the Environment. Wiley, Nueva York, pp. 211-221.
- Dabney B. 1981. The role of human genetic monitoring in the workplace. *J. Occup. Med.* 23: 626-631.
- D'Amato F. 1949. Prophase poisoning by chemical agents. *Cariologia* 1: 327-328.
- Darroudi F., Natarajan A.T. y Lohman P.H.M. 1989. Cytogenetical characterization of UV-sensitive

repair-deficient CHO cell line 43-3B. II. Induction of cell killing, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges by 4NQO, mono- and bi-functional alkylating agents. *Mutat. Res.* 212: 103-112.

Davidson D. 1959. A method for estimating mitotic rates in *Vicia roots* after X-irradiation. *Brit. J. Radiol.* 32: 612-614.

Davidson D. 1960. Meristem initial cells in irradiated roots of *Vicia faba*. *Ann. Bot.* 24: 287-295.

Dean B.J. 1972. The mutagenic effects of organophosphorus pesticides on microorganisms. *Arch. Toxicol.* 30: 67-74.

Debuyst B. y Larebeke N.V. 1983. Induction of sister chromatid exchanges in human lymphocytes by aldicarb, thiophanox and methomyl. European Environmental Mutagen Society (abstracts). *Mutat. Res.* 113: 242-243.

Degraeve N., Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen M., Houbrechts N. y Colizzi A. 1976. A propos des risques d'un insecticide: le carbaryl utilisé et en combinaison avec les nitrites. *Bull. Soc. R. Sci. Liege* 45: 46-57.

de Kergommeaux D.J., Grant W.F. y Sandhu S.S. 1983. Clastogenic and physiological response of chromosomes to nine pesticides in the *Vicia faba in vivo* root tip assay system. *Mutat. Res.* 124: 69-84.

De Lorenzo F., Staiano N., Silengo L. y Cortese R. 1978. Mutagenicity of diallate, sulfallate, and triallate and relationship between structure and mutagenic effects of carbamates used widely in agriculture. *Mutat. Res.* 38: 13-15.

Den Engelse L., Menkveld G.J., De Brij R.J. y Tates A.D. 1986. Formation and stability of alkylated pyrimidine and purines (including imidazole ring-opened-7-alkylguanine) and alkylphosphotriesters in liver DNA of adult rats treated with ethylnitrosourea or dimethyl nitrosamine. *Carcinogenesis* 7: 393-403.

de Serres F.J. y Shelby M.D. 1978. Utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens. *Environ. Health Perspect.* 27: 3-6.

Donnelly G.M. y Siskin J.E. 1967. RNA and protein synthesis required for entry of cells into mitosis and during the mitotic cycle. *Exp. Cell Res.* 46: 93-105.

Dulout F.N., Olivero O.A. y Pastori M.C. 1982. The mutagenic effect of thiram analysed by the micronucleus test and the anaphase-telophase test. *Mutat. Res.* 105: 409-412.

Dulout F.N., Pastori M.C., Olivero O.A., González-Cid M., Loria D., Matos E., Sobel N., de Bujan E.C. y Albiano N. 1985. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 143: 237-244.

- Dunkel V.C. y Simmon V.F. 1980. Mutagenic activity of chemicals previously tested for carcinogenicity in the National Cancer Institute bioassay program. En: R. Montesano, H. Bartsch y L. Tomatis (Eds.). *Molecular and Cellular Aspects of Carcinogen Screening Test*. International Agency for Research on Cancer, Lyon. IARC Sci. Publ. 27: 283-301.
- Du Pont 1990_a. Lannate, insecticida agrícola. Boletín de información técnica. pp. 1-16.
- Du Pont 1990_b. Lannate, siempre al frente del combate. Boletín de difusión. p. 1.
- Du Pont 1990_c. Vydate L, insecticida-nematicida-acaricida. Boletín de información técnica. pp. 1-24.
- Durham W.F. y Williams C.H. 1972. Mutagenic, teratogenic, and carcinogenic properties of pesticides. *Annu. Rev. Entomol.* 17: 123-148.
- Edmunds L.N. 1964. Replication of DNA and cell division in synchronously dividing cultures of *Euglena gracilis*. *Science* 145: 266-268.
- Egert B. y Greim H. 1976. Formation of mutagenic N-nitroso compounds from the pesticides prometryne, dodine and carbaryl in the presence of nitrite at pH 1. *Mutat. Res.* 37: 179-186.
- Eisenbrand G., Ungerer O. y Preussmann R. 1975. The reaction of nitrite with pesticides. II. Formation,

chemical properties and carcinogenic activity of the N-nitroso derivatives of N-methyl-1-naphtylcarbamate (carbaryl). *Food Cosmet. Toxicol.* 13: 365-367.

Eisenbrand G., Schmäll D. y Preussmann R. 1976. Carcinogenicity in rats of high oral doses of N-nitrosocarbaryl, a nitrosated pesticide. *Cancer Lett.* 1: 281-284.

Elespuru R., Setlow J. y Lijinsky W. 1973. Nitrosocarbaryl, a new mutagen of environmental significance. The American Environmental Mutagen Society, 1st. International Conference. Aislomar (Resúmenes). *Mutat. Res.* 21: 218.

Elespuru R., Lijinsky W. y Setlow J. 1974. Nitrosocarbaryl as a potent mutagen of environmental significance. *Nature* 247: 386-387.

EPA 1986. *Guidelines for Mutagenicity Risk Assessment.* Federal Register. Parte III. United States Environmental Protection Agency (FRL-2983-9). pp. 1-22.

Epstein H.J., Arnold E., Andrea J., Bass W. y Bishop Y. 1972. Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 23: 288-325.

Evans H.J. 1962. Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. *Int. Rev. Cytol.* 13: 221-231.

- Evans H.J. 1966. Repair and recovery from chromosome damage after fractionated X-ray dosage. En: *General Aspects of Radiosensitivity: Mechanism of Repair*. Int. Atomic Energy Agency, Viena. pp. 31-48.
- Evans H.J. 1977. Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations. En: D. Scott, B.A. Bridges y F.H. Sobels (Eds.). *Progress in Genetic Toxicology*. Elsevier/North Holland, Amsterdam. pp. 57-74
- Evans H.J. y Scott D. 1964. Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics* 49: 17-38.
- Evans H.J. y Scott D. 1969. The induction of chromosome aberrations by nitrogen mustard and its dependence on DNA synthesis. *Proc. Roy. Soc.* 173: 491-512.
- Fahrig R. 1974. Comparative mutagenicity studies with pesticides. En: *Chemical Carcinogenesis Assays* IARC Sci. Publ. 10: 161-181.
- Ferguson L.R., Turner P.M., Gourdie T.A., Valu K.K. y Denny W.A. 1989. 'Petite' mutagenesis and mitotic crossing-over in yeast by DNA-targeted alkylating agents. *Mutat. Res.* 215: 213-222.
- Fishbein L. 1973. Mutagens and potential mutagens in the biosphere. *Mutat. Res.* 21: 220.

- Fishbein L., Flamm W.G. y Falk H.L. 1970. *Chemical Mutagens*. Academic Press, Nueva York.
- Fleer R. y Brendel M. 1979. Formation and fate of crosslinks induced by polyfunctional anticancer drugs in yeast. *Mol. Gen. Genet.* 176: 41-52.
- García M.E. 1973. Contaminación de los suelos por plaguicidas. Memorias I Reunión Nacional sobre Problemas de Contaminación Ambiental. Tomo 2. pp. 1059-1069.
- Gentile J., Gentile G., Bultman J., Sechriest R., Wagner E. y Plewa M. 1982. An evaluation of the genotoxic properties of insecticides following plant and animal activation. *Mutat. Res.* 101: 19-29.
- George M.K., Aulakh K.S. y Dhesi J.S. 1970. Morphological and cytological changes induced in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings following seed treatment with fungicides. *Can. J. Genet. Cytol.* 12:415-419.
- 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. y Villalobos-Pietrini R. 1983. Chromosomal alterations induced by some chromium salts. *Cytologia* 48: 185-193.
- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz 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: 133-142.

Gómez-Arroyo S., Baiza A.M., López G. y Villalobos-Pietrini R. 1985. A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion and methyl parathion in *Vicia faba*. *Contam. Ambient.* 1: 7-16.

González-Cid M. y Matos E. 1984. Induction of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes by aldicarb, a carbamate pesticide. *Mutat. Res.* 138: 175-179.

González-Cid M. y Matos E. 1987. Chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes treated with aldicarb, a carbamate pesticide. *Mutat. Res.* 191: 99-103.

Grant W.F. 1970. Pesticides and heredity. *Macdonald Journal* 31: 211-214.

Grant W.F. 1973_a. Cytological effects of environmental mutagens-pesticides. *Mutat. Res.* 21: 221-222.

Grant W.F. 1973_b. Mutagenic effects of environmental chemicals. *Can. J. Genet. Cytol.* 15: 658.

Grant W.F. 1978. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environ. Health Perspect.* 27: 37-43.

- Grant W.F. 1982_a. Cytogenetic studies of agricultural chemicals. En: R.A. Fleck y A. Hollander (Eds.). *Genetic Toxicology and Agricultural Perspectives*.
- Grant W.F. 1982_b. Plant mutagen assays based upon chromosome mutations. En: E.J. Klekowski Jr. (Ed.). *Environmental Mutagenesis, Carcinogenesis and Plant Biology*. Vol. 2. Praeger Press. Nueva York. pp. 1-24.
- Grant W.F. 1982_c. Chromosome aberration assay in *Allium*: A report of the US Environmental Protection Agency. Gene-Tox Programme. *Mutat. Res.* 99:273-291.
- Grant W.F. 1985. Pesticides, gin and tonic, and mutation testing. En: K.M. Urbanska (Ed.). *International Organization of Plant Biosystematists*. Newsletter (5). The Department of Geobotany Swiss Federal Institute of Technology. ETH, Zurich. pp. 3-5
- Grant W.F. 1986. Plants also offer an alternative to animal research: Genetics professor. *Can. Res.* 19: 71.
- Grant W.F. 1991. The use and present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Memorias II Congreso Nacional de Genética. Sociedad Mexicana de Genética. Septiembre 23-27, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila.*
- Grant W.F. y Zura K.D. 1982. Plants as sensitive *in situ* detectors of atmospheric mutagens. En: J.A. Heddle

(Ed.). *Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology*. Academic Press, Nueva York. pp. 408-434.

Grant W.F., Zinov'eva-Stahevitch A.E. y Zura K.D. 1981. Plant genetic test systems for the detection of chemical mutagens. En: H.F. Stich y R.H.C. San (Eds.). *Short-Term Test for Chemical Carcinogens*. Springer-Verlag, Nueva York. pp. 200-216.

Grover I.S., Paramjit M., Malhi P.K. y Dhingra A.K. 1985. Monitoring environmental chemicals by chromosomal aberration in plants. Symposium on Biomonitoring State of Environment. INSA. Nueva Delhi. pp. 197-204

Grover I.S., Dhingra A.K., Adhikari N. y Ladhar S.S. 1990. Genotoxicity of pesticides and plant systems. En: M.L. Mendelshon y R.J. Albertini (Eds.). *Mutation and the Environment*. Parte E. *Environmental Genotoxicity, Risk, and Modulation*. Prog. Clin. Biol. Res. 340E: 91-106.

Haber A.H. y Foard D.E. 1964. Further studies of gamma-irradiated wheat and their relevance to use of mitotic inhibition for developmental studies. *Amer. J. Bot.* 51: 151-159.

Hassall K.A. 1969. *World Crop Protection*. Vol. 2. *Pesticides*. Iliffe Books, Londres. p. 1.

Heddle J.A. 1973. A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. *Mutat. Res.* 18: 187-190.

- Heddle J.A. 1990. Micronuclei *in vivo*. En: M.L. Mendelshon y R.J. Albertini (Eds.). *Mutation and the Environment*. Parte B. *Metabolism, Testing Methods, and Chromosomes*. Prog. Clin. Biol. Res. 340B: 185-194.
- Heddle J.A. y Salomone H.F. 1981. Chromosomal aberration and bone marrow toxicity. *Environ. Health Perspect.* 39: 23-27.
- Hemavathy K.C. y Krishnamurthy N.B. 1987_a. Evaluation of Lannate 20, a carbamate pesticide in the germ cells of male mice. *Environ. Res.* 42: 362-365.
- Hemavathy K.C. y Krishnamurthy N.B. 1987_b. Mutagenicity studies in *Drosophila melanogaster* with Lannate 20. *Mutat. Res.* 191: 41-43.
- Holmstrom M. 1990. Induction of micronuclei in bone marrow of mice exposed to 1 2 or 3 daily doses of urethane. *Mutat. Res.* 234: 147-154.
- Hoque M.Z. 1972. Carbaryl a new chemical mutagen. *Curr. Sci.* 41: 855-856.
- Ishidate M. y Odashima S. 1977. Chromosome test with 134 compounds on Chinese hamster cells *in vitro* a screening for chemical carcinogens. *Mutat. Res.* 48: 337-354.
- Jenssen D. y Ramel C. 1980. The micronucleus test as a part of a short-term mutagenicity test program for

the detection of carcinogenicity evaluated by 143 agents tested. *Mutat. Res.* 75: 191-202.

Kaina B., van Zeeland A.A., de Groot A. y Natarajan A.T. 1990. DNA repair and chromosomal stability in the alkylating agent-hypersensitive Chinese hamster cell line 27-1. *Mutat. Res.* 243: 219-224.

Kihlman B.A. 1963. Relations to radiation induced aberrations. En: S. Wolff (Ed.). *Radiation Induced Chromosome Aberrations*. Columbia University Press. Nueva York. pp. 100-122.

Kihlman B.A. 1966. *Actions of Chemicals on Dividing Cells*. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. Nueva Jersey. pp. 260.

Kihlman B.A. 1971. Root tips for studying the effects of chemicals on chromosomes. En: A. Hollander (Ed.). *Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection*. Vol. 2. Plenum Press, Nueva York. pp. 489-514.

Kihlman B.A. 1975. Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 31: 401-412.

Kihlman B.A. 1977. *Caffeine and Chromosomes*. Elsevier, Amsterdam. 304 pp.

Kihlman B.A., Natarajan A.T. y Anderson H.C. 1978. Use of the 5-bromodeoxyuridine labelling technique for

exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 52: 181-198.

Kimball R.F. y Setlow J.K. 1972. Mutations induced in *Haemophilus influenzae* by transformation with nitrosoguanidine-treated DNA. *Mutat. Res.* 14: 137-146.

Kimball R.F. y Setlow J.K. 1974. Mutation fixation in MNNG-treated *Haemophilus influenzae* as determined by transformation. *Mutat. Res.* 22: 1-14.

Kohn G.K. 1974. The pesticide industry. En: J.A. Kent (Ed.). *Handbook of Industrial Chemistry.* 7ª edición. Van Nostrand-Renhold, Nueva York. p. 619.

Kovacs C.J. y Van't Hof J. 1971. Mitotic delay and the regulating events of plant cell proliferation: DNA replication by a G_1/S population. *Radiat. Res.* 48: 95-106.

Larsson K.S., Arnander C., Cekanova E. y Kjellberg M. 1976. Studies of teratogenic effect of the dithiocarbamates maneb, mancozeb and propineb. *Teratology* 14: 171-183.

Larsson K.S., Sahn J., Shenkar R. y Strauss B. 1985. Methylation-induced blocks to *in vitro* DNA replication. *Mutat. Res.* 150: 77-84.

Lawley P.D. 1976. Carcinogenesis by alkylating agents.

En: C.E. Searle (Ed.). *Chemical Carcinogens*. American Chemical Society. Washington DC, ACS Monograph 173: 83-244.

Lawley P.D. y Thatcher C.J. 1970. Methylation of deoxyribonucleic acid in cultured mammalian cells by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; the influence of cellular thiol concentrations on the extent of methylation and the 6-oxygen atom of guanine as a site of methylation. *Biochem. J.* 116: 893-907.

Levan A. 1938. The effect of colchicine on root mitosis of *Allium*. *Hereditas* 24: 471-486.

Levan A. y Ostergren G. 1943. The mechanism of c-mitotic action. Observations on the naphtalene series. *Hereditas* 29: 381-443.

Lijinsky W. y Schmall D. 1978. Carcinogenicity of N-nitroso derivatives of N-methylcarbamate insecticides in rats. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 2: 413-419.

Lijinsky W. y Taylor H.W. 1976. Carcinogenesis in Sprague-Dawley rats of N-nitroso-N-alkylcarbamate esters. *Cancer Lett.* 1: 275-279.

Lijinsky W. y Taylor H.W. 1977. Transplacental chronic toxicity test of carbaryl with nitrite in rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 15: 229-232.

Ma T.H. 1979. Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of

- Tradescantia*. A promising mutagen test system. *Mutat. Res.* 64: 307-313.
- Ma T.H. 1982. *Vicia* cytogenetic test for environmental mutagens. A report of the U.S. Environmental Protection Agency. Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99: 257-271.
- Ma T.H., Sparrow A.H., Schairer L.A. y Nauman A.F. 1978. Effect of 1,2-dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of *Tradescantia*. *Mutat. Res.* 58: 251-258.
- Makedonov G.P. y Tarasov V.A. 1982. Purposive modification of damaged DNA site in the production of chromosome structural mutations. *Genetika* 18: 1101-1106.
- Marshall E. 1985. The rise and decline of temik. *Science* 229: 1369-1371.
- Marshall T., Dorough H. y Swim H. 1976. Screening of pesticides for mutagenic potential using *Salmonella typhimurium*. *J. Agric. Food Chem.* 24: 560-563.
- Mattern B.E. y Grauwiler J. 1974. Micronuclei in mouse bone-marrow cells. A simple *in vivo* model for the evaluation of drug-induced chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 51: 239-249.
- Mattern B.E. y Schmid W. 1971. Trenimon induced chromosomal damage in bone marrow cells of six

mammalian species, evaluated by the micronucleus test. *Mutat Res.* 12: 417-425.

Mazia D. 1961. Mitosis and the physiology cell division. En: J. Brachet y A.E. Mirsky (Eds.). *The Cell*. Academic Press, Nueva York. pp. 77-412.

McCann J., Choi E., Yamasaky E. y Ames B.N. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 72: 5135-5139.

McCarthy J., Fancher O., Kennedy G., Keplinger M. y Calandra J. 1971. Reproduction and teratology studies with the insecticides carbofuran. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 19: 370.

McGill M., Pathak S. y Hsu T.C. 1974. Effect of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickness. *Chromosoma* 47: 157-167.

Meneses P.M.A., Heiras A.J. y Rodríguez M.A. 1991. Sistema de seguridad para congelar preparaciones citológicas temporales. Memorias del III Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagénesis Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, Metepec, Puebla, Mexico

Moriya M., Ohta T., Watanabe K., Miyazawa T., Kato K. y Shirasu Y. 1983. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat. Res.* 116: 185-216.

- Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen M. y Degraeve N. 1984. Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of insecticides. En: M. Kirsch-Volders (Ed.). *Mutagenicity, Carcinogenicity, and Teratogenicity of Industrial Pollutants*. Cap. 3. Plenum Press. Nueva York. pp. 127-203.
- Moutschen-Dahmen J., Degraeve N., Houbrechts N. y Colizzi A. 1976. Cytotoxicity of carbaryl alone and combined with nitrites. *Mutat. Res.* 38: 122-123.
- Mueller G.C. 1969. Biochemical events in the animal cell cycle. *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp.* 26: 1780-1789.
- Narro R.J.G. 1981. El uso de plaguicidas en la agricultura mexicana. *Los Reguladores de las Plantas y los Insectos* CONACyT, 3a Ed. pp. 27-40.
- Natarajan A.T. y Obe G. 1978. Molecular mechanisms involved in production of chromosomal aberrations. I. Utilization of *Neurospora* endonuclease for the study of aberration production in G₂ stage of the cell cycle. *Mutat. Res.* 52: 137-149.
- Natarajan A.T., Simons J.W.I.M., Vogel E.W. y van Zeeland A.A. 1984. Relationship between cell killing, chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges and point mutations induced by monofunctional alkylating agents in Chinese hamster cells. A correlation with different ethylation products in DNA. *Mutat. Res.* 128: 31.40.

- Natarajan A.T., Obe G., van Zeeland A.A., Palitti F., Meijers M. y Verdegaal-Immerzeel E.A.M. 1980. Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations. II. Utilisation of *Neurospora* endonuclease for the study of aberration production by X-rays in G₁ and G₂ stages of the cell cycle. *Mutat. Res.* 69: 293-305.
- Ngatia J. y Mgeni A.J. 1980. The effects of continuous exposure to organophosphorus and carbamate insecticides on cholinesterase (Che) levels in humans. En: W.F. Tordoir y E.A.H. van Heemstra (Eds.). *Field Worker Exposure During Pesticide Application. Studies in Environmental Science* 7. Elsevier, Amsterdam. pp. 63-66.
- Nicoloff H. y Gecheff K. 1976. Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* 34: 233-244.
- Nilan R.A. 1978. Potential of plant genetic systems for monitoring and screening mutagens. *Environ. Health Perspect.* 27: 181.
- Nilan R.A. y Vig B.K. 1976. Plant test systems for the detection of chemical mutagens. En: A. Hollander (Ed.). *Chemical Mutagens Principles and Methods for Their Detection*. Vol. 4. Plenum Press. Nueva York. pp. 143-170.
- Osterman-Golkar S. y Bergmark E. 1988. Alkylation of haemoglobin, plasma proteins and DNA in the mouse by diethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 9: 1915-1917.
- Osterman-Golkar S., Ehrenberg S.L., Segerback D. y

- Hallstrom I. 1976. Evaluation of genetic risks of alkylating agents. II. Haemoglobin as a dose monitor. *Mutat. Res.* 34: 1-10.
- Panda B.B. y Sharma C.B.S.R. 1979. Organo-phosphate induced chlorophyll mutations in *Hordeum vulgare*. *Theor. Appl. Genet.* 55: 253-255.
- Pandita T.K. 1982. Mutagenic studies on the insecticide metasystox-R with different genetic systems. *Mutat. Res.* 124: 97-102.
- Paschin Y. y Bakintova L.M. 1985. Mutagenic effects of the thiram in mammalian somatic cells. *Food Chem. Toxicol.* 23: 373-375.
- Perera F.P. 1988. The significance of DNA and protein adducts in human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 205: 255-269.
- Pimentel D. 1973. Extent of pesticide use, food supply and pollution. *J.N.Y. Entomol. Soc.* 81: 13-33.
- Pool D.C., Simmon V.F. y Newell G.W. 1976. In vitro mutagenic activity of fourteen pesticides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 41: 196.
- Proctor N.H. y Casida J.E. 1975. Organophosphorus and methyl carbamate insecticide teratogenesis: diminished NAD in chicken embryos. *Science* 190: 580-582.

- Proctor N.H., Moscioni A.D. y Casida J.E. 1976. Chicken embryo NAD levels lowered by teratogenic organophosphorus and methylcarbamate insecticides. *Biochem. Pharmac.* 25: 757-762.
- Quinto I. y De Marinis E. 1983. Evaluation of propineb a dithiocarbamate pesticide in the mouse sperm morphology assay. *Mutat. Res.* 124: 234-240.
- Quinto I., Martire G., Vricella G., Riccardi F., Perfumo A., Giulivo R. y De Lorenzo F. 1981. Screening of 24 pesticides by *Salmonella*/microsome assay: mutagenicity of benazolin, metoxuron and paraoxon. *Mutat. Res.* 85: 265.
- Ramanna M.S. y Natarajan A.T. 1966. Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosoma* 19: 44-59.
- Read J. 1959. Mitosis and the inhibition of mitosis by radiations. En: *Radiation Biology of Vicia faba in Relation to the General Problem*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 48-69.
- Read J. y Kihlman. B.A. 1956. Comparison of 8-ethoxycaffeine and X-rays on the cytology and growth of roots of *Vicia faba*. *Hereditas* 42: 487-507.
- Regan J.D., Setlow R.B., Francis A.A. y Lijinsky W. 1976. Nitrosocarbaryl: its effects on human DNA. *Mutat. Res.* 38: 293-302.

- Revell S.H. 1955. A new hypothesis for chromatid changes. En: Z.M. Bacq y P. Alexander (Eds.). *Proceedings of the Radiobiology Symposium*. (Liège 1954). Butterworths, Londres. pp. 243-253.
- Revell S.H. 1958. A new hypothesis for the interpretation of chromatid aberrations, and its relevance to theories for the mode of action of chemical agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 68: 802-807.
- Revell S.H. 1963. Chromatid aberrations, the generalized theory. En: S. Wolff (Ed.). *Radiation Induced Chromosome Aberrations*. Nueva York. pp. 41-72.
- Rolandi A., De Marinis E. y De Caterina M. 1984. Dithiocarbamate pesticides: activity of propineb in the micronucleus test in mice. *Mutat. Res.* 135: 193-197.
- Saffhill R., Margison G.P. y O'Connor P.J. 1985. Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochem. Biophys. Acta.* 823: 111-145.
- Sagher D. y Strauss B. 1983. Insertion of nucleotides opposite apurinic/apyrimidic sites in deoxyribonucleic acid during *in vitro* synthesis: uniqueness of adenine nucleotides. *Biochemistry* 22: 4518-4526.
- Sandhu S.S., de Serres F.J., Gopalan H.N.B., Grant W.F., Veleminsky J. y Becking G.C. 1991. Status Report of the International Programme on Chemical Safety's Collaborative Study on Plant Test Systems. *Mutat.*

Res. 257: 19-25.

Savage J.R.K. 1975. Radiation-induced chromosomal aberrations in the plant *Tradescantia*: dose-response curves. I. Preliminary considerations. *Radiat. Bot.* 15: 87-140.

Schmahl D. 1986. Carcinogenicity of anticancer drugs and specially alkylating agents. En: D. Schmahl y J.M. Kaldor (Eds.). *Carcinogenicity of Alkylating Cytostatic Drugs*. IARC Sci. Publ. 78: 143-146.

Schmid W. 1973. Chemical mutagen testing on *in vivo* somatic mammalian cells. *Agents and Actions* 3: 77-85.

Schmid W. 1975. The micronucleus test. *Mutat. Res.* 31: 9-15.

Schwartz J.L. 1989. Monofunctional alkylating agent-induced S-phase-dependent DNA damage. *Mutat. Res.* 216: 111-118.

Segerback D., Coleman C.J., Ehrenberg L., Lofroth G. y Osterman-Golkar S. 1978. Evaluation of genetic risks of alkylating agents. IV. Quantitative determination of alkylated amino acids in haemoglobin as a measure of the dose after treatment of mice with methyl methanesulfonate. *Mutat. Res.* 49: 71-82.

Seiler J.P. 1977₃. Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens.

- Preliminary results in the validation of novel short-term test. *Mutat. Res.* 46: 305-310.
- Seiler J.P. 1977_b. Nitrosation *in vitro* and *in vivo* by sodium nitrite, and mutagenicity of nitrogenous pesticides. *Mutat. Res.* 48: 225-236.
- Sharma C.B.S.R. 1982. Plant monitors of environmental mutagens. En: *Evaluation of Mutagenic and Carcinogenic Potential of Environmental Agents*. Environmental Mutagen Society of India. Bombay. pp. 27-39
- Shaw M.W. 1970. Human chromosome damage by chemical agents. *Ann. Rev. Med.* 21: 409-432.
- Shelby M.D. y The Environmental Mutagen Information Center Staff. 1976. *Chemical Mutagenesis in Plants and Mutagenicity of Plant Related Compounds*. ORNL/EMIC-7. Oak Ridge National Laboratory. Tennessee
- Shelby M.D. y Tice R.R. 1991. Methyl carbamate: negative results in mouse bone-marrow micronucleus test. Series: 'Current Issues in Mutagenesis and Carcinogenesis', No. 28. *Mutat. Res.* 260: 311.
- Shirasu Y., Moriya M., Kato K., Furhashi A. y Kada T. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in microbial systems. *Mutat. Res.* 40: 19-30.
- Shirasu Y., Moriya M., Tezuka H., Teramoto S., Ohnta T. e Inoue I. 1982. Mutagenicity screening studies on

pesticides. Environ. Mutagen. Carcinogen. Proceeding Int. Conf. 3rd. (1981) pp. 331-335.

Siebert D. y Eisenbrand G. 1974. Induction of mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae* by N-nitrosated pesticides. *Mutat. Res.* 22: 121-126.

Siebert D. y Lamperle E. 1974. Genetic effects of herbicides: induction of mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 22: 111-120.

Singer B. 1985. *In vivo* formation and persistence of modified nucleosides resulting from alkylating agents. *Environ. Health Perspect.* 62: 41-48.

Singh R.M., Singh A.K., Singh R.B., Singh J. y Singh B.D. 1980. Chlorophyll mutations induced by seed treatment with certain insecticides in barley (*Hordeum vulgare*). *Indian J. Exp. Biol.* 18: 1396-1397.

Snyder R.D. y Regan J.D. 1981. Quantitative estimation of the extent of alkylation of DNA following treatment of mammalian cells with non-radioactive alkylating agents. *Mutat. Res.* 91: 307-314.

Spiegel M.R. 1970. *Theory and Problems of Statistics*. Schaum Publishing Co., Nueva York. pp. 181-183.

Tannenbaum S. y Skipper P.L. 1984. Biological aspects to the evaluation of risk. Dosimetry of carcinogens to man. *Fund. Appl. Toxicol.* 4: S367-S373.

Tates A.D., Neuteboom I., Hofker M. y den Engelse L. 1980. A micronucleus technique for detecting clastogenic effects of mutagens/carcinogens (DEN/DMN) in hepatocytes of rat liver *in vivo*. *Mutat. Res.* 74: 11-20.

Tezuka H., Ando N., Suzuki R., Terahata M., Moriya M. y Shirasu Y. 1980. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in cultured Chinese hamster cells treated with pesticides positive in microbial reversion assays. *Mutat. Res.* 78: 177-191.

Tomkins D.J. y Grant W.F. 1972. Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metabromuron and tetrachloroisophthalonitrile, in *Hordeum vulgare* and *Tradescantia*. *Can. J. Genet. Cytol.* 14: 245-256.

Tordoir W.F. 1980. Field studies monitoring exposure and effects in the development of pesticides. En: W.F. Tordoir y E.A.H. van Heemstra (Eds.). *Field Worker Exposure During Pesticide Application. Studies in Environmental Science* 7. Elsevier. Amsterdam. pp. 21-26.

Turchi G., Bonatti S., Nuti-Ronchi V. y Cionini G. 1980. Cytogenetic activity of alicyclic and aromatic epoxides. 10th Annual Meeting of EEMS, Atenas. p. 178.

Tyrkiel E. 1977. Mutagenic action of O-isopropoxy-phenyl-N-methyl-carbamate (Propoxur) on mouse gametes. *Rocz. Pzh.* 28: 601-613.

- Uchiyama M., Takeda M., Suzuki T. y Yoshikawa K. 1975. Mutagenicity of nitroso derivatives of N-methylcarbamate insecticides in microbiological method. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 14: 389-394.
- Upshal A. y Johnson P.E. 1981. Thiram induced abnormal chromosome segregation in *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res.* 48: 225-236.
- Usha-Rani M.V., Reddi O.S. y Reddy P.P. 1980. Mutagenicity studies involving aldrin, endosulfan, dimethoate, phosphamidon, carbaryl, and ceresan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 277-282.
- Valencia-Quintana P.R. 1987. Efecto del dimetil sulfóxido (DMSO) sobre las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Vettorazzi. G. 1976. State of the art of the toxicological evaluation carried by the Joint FAO WHO Meeting on pesticide residues. II. Carbamate and organophosphorus pesticides used in agriculture and public health. *Residue Res.* 63: 1-44.
- Vogel E. y Natarajan A.T. 1979. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in the higher eukaryotic systems. *Mutat. Res.* 62: 51-100.
- Vogel E. y Natarajan A.T. 1982. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in the higher

eukariotic systems. Interspecies comparisons. En: F.J. de Serres and A. Hollander (Eds.). *Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection*. Vol. 7. Plenum, Nueva York. pp. 295-336.

Von Ledebur M. y Schmid W. 1973. The micronucleus test methodological aspects. *Mutat. Res.* 19: 109-117.

Walker K. 1970. Benefits of pesticides in food production. En: Oregon State University (Eds.). *The Biological Impact of Pesticides in the Environment*. Environ. Health Sci. Series 1: 149-152.

Waters M.D., Sandhu S.S., Simmon V.F., Mortelmans K.E., Mitchell A.D., Jorgenson T.A., Jones D.C.L., Valencia R. y Garret N.E. 1982. Study of pesticide genotoxicity. En: R.A. Fleck y A. Hollander (Eds.). *Genetic Toxicology: An Agricultural Perspective*. Plenum, Nueva York. pp. 275-326

Webster P.L. 1973. Effects of cycloheximide on mitosis in *Vicia faba* root meristem cells. *Exp. Bot.* 21: 239-244.

Webster P.L. y Van't Hof J. 1970. Initiation of DNA synthesis and mitosis in stationary, transitional and proliferative phase meristems: requerimientos for RNA and protein synthesis. *Amer. J. Bot.* 57: 130-139.

Weil C., Woodside M., Bernard J., Condra N., King J. y Carpenter C. 1973. Comparative effect of carbaryl on rat reproduction and guinea pig teratology when feed either in the diet or by stomach intubation.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 26: 621-638.

Wild D. 1975. Mutagenicity studies on organophosphorus insecticides. *Mutat. Res.* 32: 133-150.

Wolff S 1961_a. Radiation genetics. En: M. Errera y A. Forssberg (Eds.). *Mechanisms in Radiobiology*. Vol. I. Academic Press. Nueva York. pp. 419-475.

Wolff S 1961_b. Some post irradiation phenomena that affect the induction of chromosome aberrations. *J. Cell Comp. Physiol.* 58 (Suppl. 1): 151-162.

Woo Y.T. 1983. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of carbamates, thiocarbamates and related compounds: an overview of structure-activity relationships and environmental concerns. *J. Environ. Health Cl.* 97-133.

Woodruff R.C., Phillips J.P. e Irwin D. 1983. Pesticide-induced complete and partial chromosome loss in screens with repair-defective females of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 5: 835-846.

World Health Organization 1975. *Recommended Classification of Pesticides by Hazard*. WHO Chronicle 29: 397-401.

World Health Organization 1984-1985. *The WHO Recommended Classification of pesticides by Hazard*. VBC 184.2. Genova, pp. 1-30.

- Wuu K.D. y Grant W.F. 1966. Morphological and somatic chromosomal aberrations induced by pesticides in barley (*Hordeum vulgare*). *Can. J. Genet. Cytol.* 8: 481-501.
- Wuu K.D. y Grant W.F. 1967_a. Chromosomal aberrations induced by pesticides in meiotic cells of barley. *Cytologia* 32: 31-41.
- Wuu K.D. y Grant W.F. 1967_b. Chromosomal aberrations induced in somatic cells of *Vicia faba* by pesticides. *Nucleus* 10: 37-46.
- Yoshikawa K., Uchino H. y Kurata H. 1978. Differential mutagenicity of N-methyl-N-nitrosocarbamate insecticides in *Escherichia coli* strains having different DNA repair capacities. *Mutat. Res.* 54: 283-288.
- Zdzienicka M., Zielenska M., Tudek B. y Synceyk T. 1979. Mutagenic activity of thiram in Ames tester strains of *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 68: 9-14.
- Zdzienicka M., Zielenska M., Trajanowska M., Seymczyk T., Bigmani M. y Carere A. 1981. Microbial short-term assay with thiram *in vitro*. *Mutat. Res.* 89: 1-7.

TABLAS

TABLA I. FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*
 INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE METOMIL DURANTE 4 HORAS
 DE TRATAMIENTO Y 18 DE RECUPERACION

CONCENTRACION (PPM)	TOTAL DE ANAFASES	ANAFASES ANORMALES %	ABERRACIONES TOTALES %	FRAGMENTOS %	PUENTES* %	CROMOSOMAS CON CENTROMERO INACTIVADO %	ISOCROMOSOMAS %	ANAFASES MULTIPOLARES %	MICRONUCLEOS** %
500	11456	1.50	1.34	0.36	0.90	0.52	0.03	0.12	0.40
1000	7682	3.01	2.19	1.24	0.95	1.59	0.00	0.27	1.35
2000	4297	4.32	4.20	2.63	1.57	0.25	0.21	0.38	0.00
3000	1963	6.07	6.85	2.01	4.84	0.44	0.05	0.38	0.85

* CON Y SIN FRAGMENTOS

** SE ANALIZARON 2000 CELULAS EN INTERFASE PARA CADA CASO

NOTA: SE OBSERVARON 19881 ANAFASES EN EL TESTIGO

TABLA 11. FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*
 INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE METOMIL DURANTE 4 HORAS
 DE TRATAMIENTO Y 44 DE RECUPERACION

CONCENTRACION	TOTAL DE ANAFASES	ANAFASES ANORMALES	ABERRACIONES TOTALES	FRAGMENTOS	PUENTES*	CROMOSOMAS CON CENTROMERO INACTIVADO	ISOCROMOSOMAS	ANAFASES MULTIPOLES	MICRONUCLEOS**
(PPM)		%	%	%	%	%	%	%	%
500	9398	1.12	0.49	0.40	0.15	0.09	0.00	0.21	0.40
1000	5516	1.82	1.78	0.44	1.43	0.00	0.05	0.06	0.15
2000	3346	3.16	3.05	1.78	1.32	0.14	0.00	0.18	0.30
3000	1446	3.61	5.16	1.14	4.07	0.00	0.00	0.00	0.20

* CON Y SIN FRAGMENTOS

** SE ANALIZARON 2000 CELULAS EN INTERFASE PARA CADA CASO

NCIA: SE OBSERVARON 18185 ANAFASES EN EL TESTIGO

TABLA III. INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE METOMIL DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*

CONCENTRACION (PPM)	IM %	VALOR DE Z
0	20.05	
500	15.45	3.81 *
1000	9.60	9.30 *
2000	6.75	12.35 *
3000	4.85	14.57 *

Z (0.001) = \pm 3.291

* EFECTO INHIBIDOR

TABLA IV. INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE METOMIL DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON 46 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*

CONCENTRACION (PPM)	IM %	VALOR DE Z
0	19.00	
500	12.10	6.02 *
1000	7.75	10.49 *
2000	6.10	12.31 *
3000	3.75	15.19 *

Z (0.001) = \pm 3.291

* EFECTO INHIBIDOR

TABLA V. FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*
INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE OXAMIL DURANTE 4 HORAS
DE TRATAMIENTO Y 18 DE RECUPERACION

CONCENTRACION	TOTAL DE ANAFASES	ANAFASES ANORMALES	ABERRACIONES TOTALES	FRAGMENTOS	PUNTES*	CROMOSOMAS CON CENTROMERO INACTIVADO	ISOCROMOSOMAS	ANAFASES MULTIPOLARES	MICRONUCLEOS**
(PPM)		%	%	%	%	%	%	%	%
500	3680	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1000	12181	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2000	12917	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00
3000	9528	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00

* CON Y SIN FRAGMENTOS

** SE ANALIZARON 2000 CELULAS EN INTERFASE PARA CADA CASO

NOTA: SE OBSERVARON 10190 ANAFASES EN EL TESTIGO

TABLA VI. FRECUENCIA DE ALTERACIONES (-TESTIGO) EN LOS CROMOSOMAS DE *Vicia faba*
INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE OXAMIL DURANTE 4 HORAS
DE TRATAMIENTO Y 44 DE RECUPERACION

CONCENTRACION	TOTAL DE ANAFASES	ANAFASES ANORMALES	ABERRACIONES TOTALES	FRAGMENTOS	PUNTES*	CROMOSOMAS CON CENTROMERO INACTIVADO	ISOCROMOSOMAS	ANAFASES MULTIPOLARES	MICRONUCLEOS**
(PPM)		%	%	%	%	%	%	%	%
500	11804	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.45
1000	13065	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.08	0.00
2000	12230	0.00	0.16	0.26	0.00	0.00	0.02	0.04	0.00
3000	13026	0.00	0.40	0.27	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00

* CON Y SIN FRAGMENTOS

** SE ANALIZARON 2000 CELULAS EN INTERFASE PARA CADA CASO

NOTA: SE OBSERVARON 12965 ANAFASES EN EL TESTIGO

TABLA VII. INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE OXAMIL DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*

CONCENTRACION (PPM)	IM %	VALOR DE Z
0	9.95	
500	9.15	0.86 NS
1000	9.70	0.27 NS
2000	10.55	-0.63 NS
3000	10.45	-0.52 NS

Z (0.10) = ± 1.282

NS NO SIGNIFICATIVO

TABLA VIII. INDICES MITOTICOS OBTENIDOS CON DIVERSAS CONCENTRACIONES DE OXAMIL DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON 44 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*

CONCENTRACION (PPM)	IM %	VALOR DE Z
0	12.00	
500	11.75	0.24 NS
1000	12.65	-0.63 NS
2000	12.20	-0.19 NS
3000	12.35	-0.34 NS

Z (0.10) = ± 1.282

NS NO SIGNIFICATIVO

TABLA IX. LAS PLANTAS MAS FRECUENTEMENTE USADAS PARA LOS ANALISIS DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS (538 ESTUDIOS).

ESPECIES	NOMBRE COMUN	No. DE VECES USADAS EN UN ESTUDIO	PORCENTAJE
<i>Vicia faba</i>	haba	196	36.4
<i>Allium cepa</i>	cebolla	156	29.0
<i>Hordeum vulgare</i>	cebada	94	17.5
<i>Crepis capilaris</i>		36	6.7
<i>Pisum sativum</i>	chicharo	22	4.1
<i>Tradescantia</i>			
<i>paludosa</i>	hierba del pollo	13	2.4
<i>Zea mays</i>	maiz	12	2.2
<i>Lycopersicon</i>			
<i>esculentum</i>	jitomate	9	1.7

FIGURAS

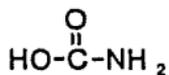


Figura 1. El esqueleto de los carbamatos es el ácido carbámico

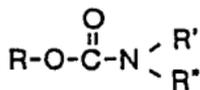
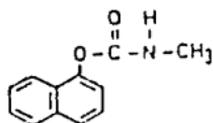
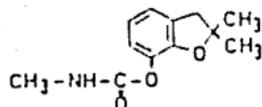


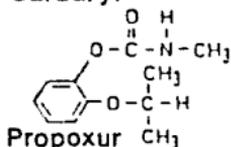
Figura 2. Fórmula general de los insecticidas carbámicos



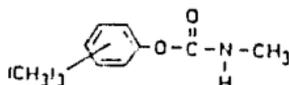
Carbaryl



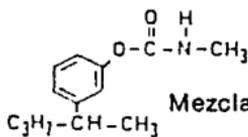
Carbofuran



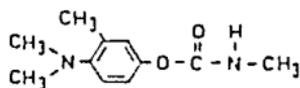
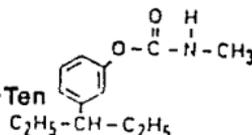
Propoxur



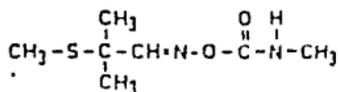
Landrin



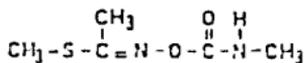
Mezcla de Bux-Ten



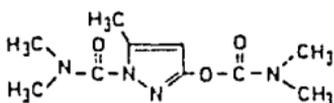
Aminocarb



Aldicarb



Metomil



Dimetilan

Figura 3. Fórmulas de insecticidas carbámicos específicos

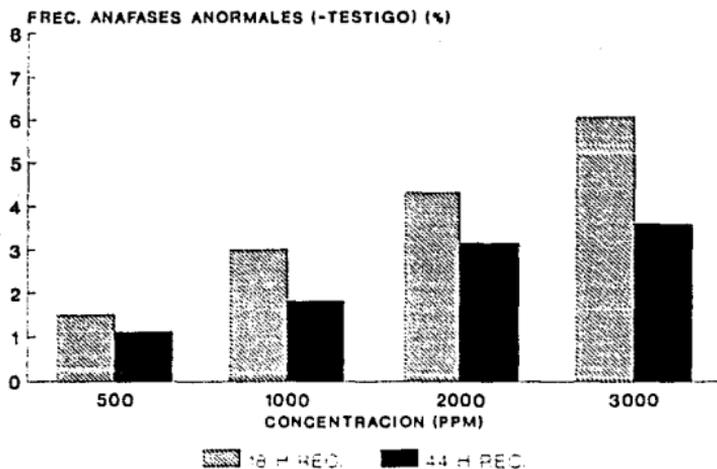


FIGURA 4. FRECUENCIA DE ANAFASES ANORMALES INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE METOMIL APLICADAS DURANTE 4 HORAS CON 18 y 44 HORAS DE RECUPERACION, EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

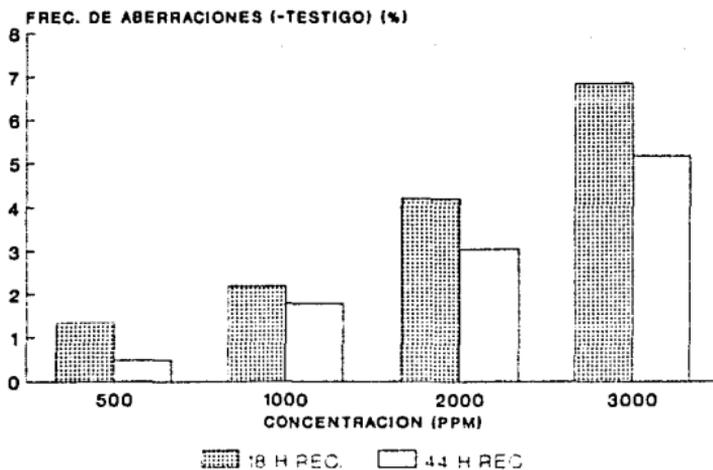


FIGURA 5. FRECUENCIA DE ABERRACIONES TOTALES INDUCIDAS POR VARIAS CONCENTRACIONES DE METOMIL APLICADAS DURANTE 4 HORAS CON 18 y 44 HORAS DE RECUPERACION, EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*

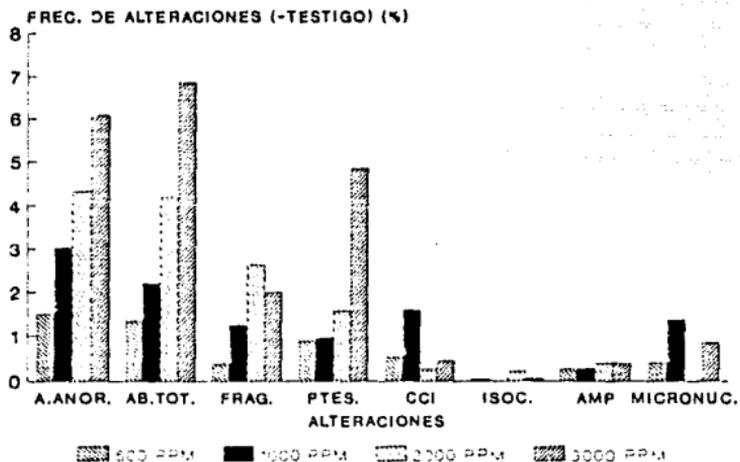


FIGURA 6. EFECTO DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL CON 18 HORAS DE RECUPERACION, EN LOS CROMOSOMAS DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

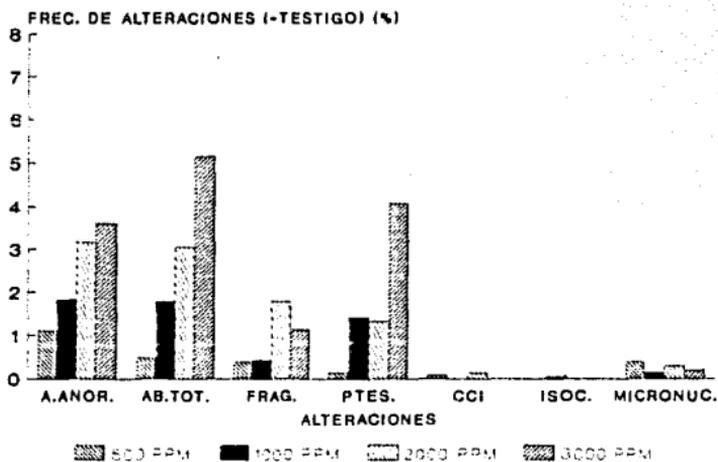


FIGURA 7. EFECTO DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL CON 44 HORAS DE RECUPERACION, EN LOS CROMOSOMAS DE LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

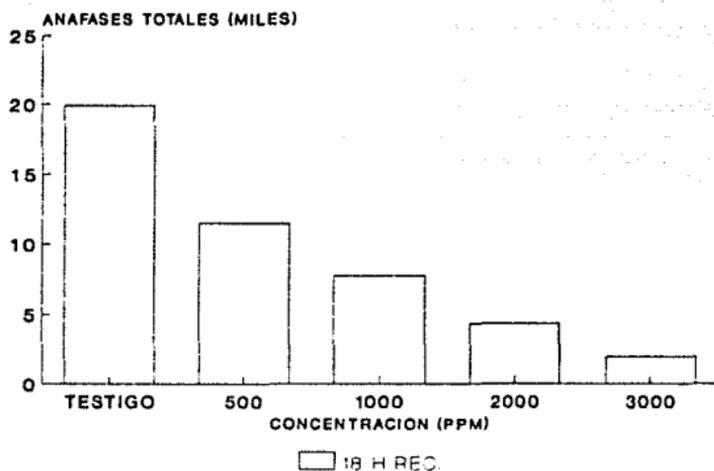


FIGURA 8. ANAFASES TOTALES OBTENIDAS DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL y 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

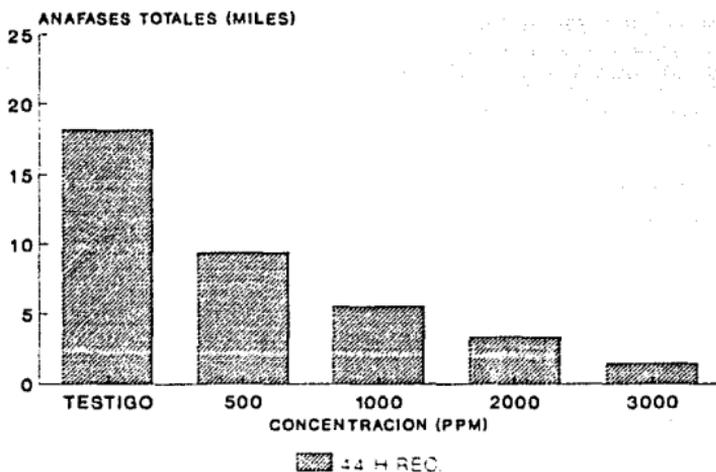


FIGURA 9. ANAFASES TOTALES OBTENIDAS DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL y 44 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

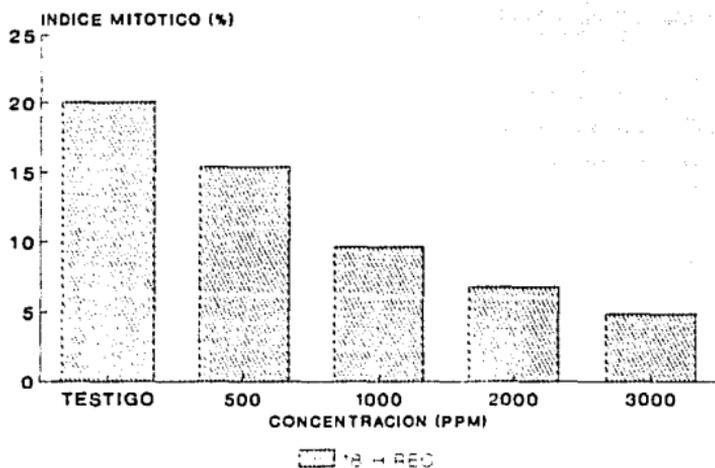


FIGURA 10. INDICE MITOTICO OBTENIDO DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL y 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

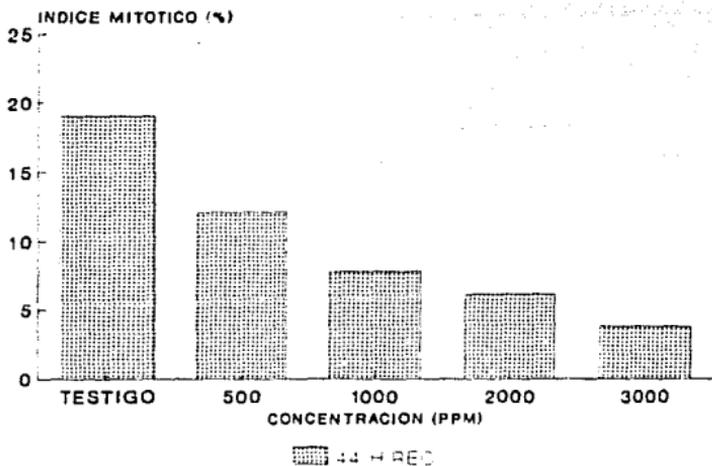


FIGURA 11. INDICE MITOTICO OBTENIDO DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON METOMIL y 44 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

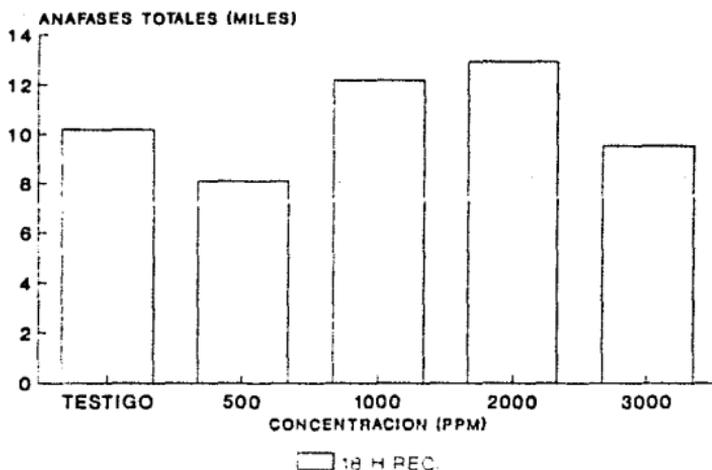


FIGURA 12. ANAFASES TOTALES OBTENIDAS DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON OXAMIL y 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

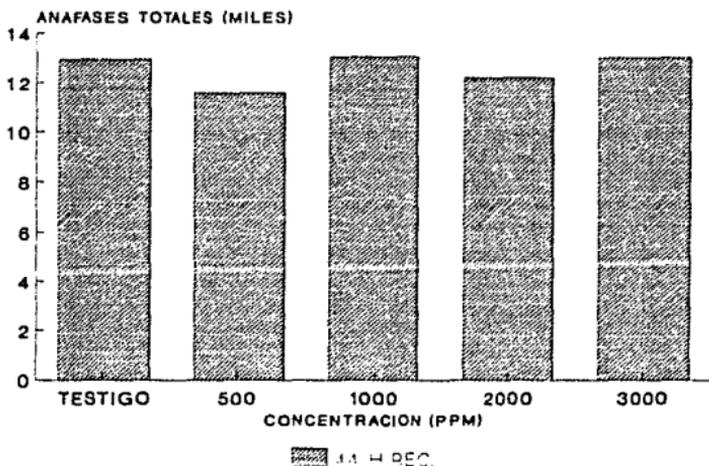


FIGURA 13. ANAFASES TOTALES OBTENIDAS DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON OXAMIL Y 44 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

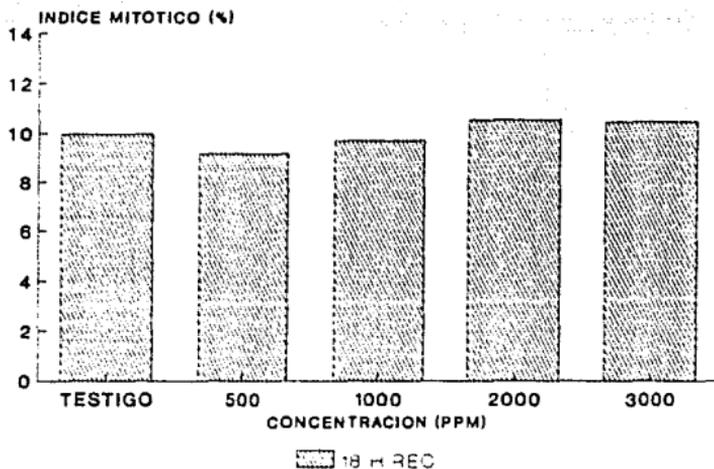


FIGURA 14. INDICE MITOTICO OBTENIDO DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON OXAMIL Y 18 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

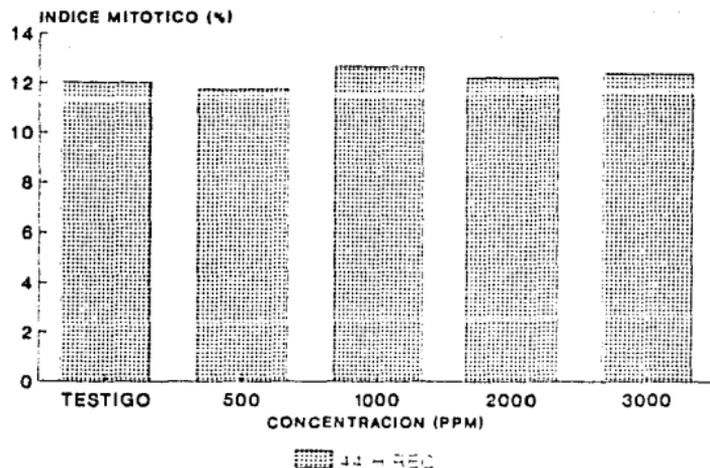


FIGURA 15. INDICE MITOTICO OBTENIDO DESPUES DE 4 HORAS DE TRATAMIENTO CON OXAMIL y 44 HORAS DE RECUPERACION EN LAS CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE *Vicia faba*.

ANEXOS



ANEXO 1

INTOXICACIONES CON CARBAMATOS

Los carbamatos inhiben a la colinesterasa; sin embargo, en comparación con los organofosforados la supresión es mas rápida y reversible.

Los síntomas primarios son la estimulación del sistema parasimpático y se pueden presentar como sigue:

- 1) Contracción de la pupila (miosis)
- 2) Sudoración excesiva
- 3) Debilidad
- 4) Pulso débil
- 5) Náuseas y vómito
- 6) Temblores musculares
- 7) Visión borrosa
- 8) Calambres abdominales y diarrea

El orden de los síntomas puede variar, pero los enumerados aquí son los que primero se manifiestan cuando hay intoxicación.

(Du Pont 1950a)

ANEXO 2

ALGUNOS INSECTOS QUE CONTROLA METOMIL

CULTIVO	PLAGAS	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
ALFALFA Medicago sativa	Chicharrita	Empoasca sp
	Chinche Lygus	Lygus emarginatus
	Gusano de la alfalfa	Carpus
	Gusano soldado	eurythymus Spodoptera
	Gusano soldado	eriguae
	Gusano morador	Pierisoma
	Pulgón de la alfalfa	Psylliodes
		currier
	Pulgón manchado	Thripsaphis maculata
ALGODON Gossypium hirsutum	Chinche	Lygus
	Falso medador	lineolaris
	Gusano morador	Trichoplusia sp.
	Gusano soldado	Heliothis zea
	Gusano soldado	Spodoptera
	Gusano	eriguae
	Gusano	heliothis
	tapachalera	virescens
	Perforador de la hoja	Euclyptus mullerella
Pulgón algodón	Pseudoniloscimus seriatul	
ARROZ Oryza sativa	Chinche verde	Cebalus
	Falso medador	insularis
	Gusano soldado	Trichoplusia sp. Spodoptera sp
CACAO Theobroma cacao	Pulgón	Toxoptera auranti
CACAHUATE Arachis hypogaea	Chicharrita	Empoasca fabae
	Falso soldado	Spodoptera
	Gusano bellero	fulvipes
	Gusano morador	Heliothis zea
	Gusano medador	Trichoplusia sp
	Gusano soldado	Spodoptera
	Gusano tapachalera	eriguae Anacarsis peruviana
Gusano verde	Platyptera scabra	
CASTAÑO Cannabium latroret	Gusano soldado	Spodoptera eriguae
CEBOLLA Allium cepa	Gusano soldado	Spodoptera eriguae
	Tripe	Thrips tabaci

(Du Pont 1990a)

ANEXO 2
(CONTINUACION)

ALGUNOS INSECTOS QUE CONTROLA METOMIL

CULTIVO	PLAGAS	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
CHICHARRO <i>Fitum sativum</i>	Falso medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Gusano cortador	<i>Spodoptera frugiperda</i>
	Gusano verde	<i>Plathypena strobilata</i>
	Pulgón	<i>Macrostremum pitii</i>
CHILE <i>Capicum annum</i>	Chicharrito	<i>Diabrotica</i>
	Falso medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Gusano cortado	<i>Spodoptera frugiperda</i>
	Pulgón	<i>Myzuspennsylvanicus</i>
COL-COLIFLOR <i>Brassica spp</i>	Falso medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Palomilla de diamante	<i>Plutella maculipennis</i>
CUCURBITACEA	Barrador melón	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>
CALABAZA <i>Cucurbita spp</i>	Barrador pepino	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>
	Gusano soldado	<i>Spodoptera erugua</i>
MELON <i>Cucumis melo</i>	Gusano de la verna	<i>Heliothis virescens</i>
PEPINO <i>Cucumis sativus</i>	Medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Mosquita blanca	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>
SANDIA <i>Citrullus vulgaris</i>	Pulgón	<i>Epilachna cucumeris</i>
ESPARRAGO <i>Asparagus officinalis</i>	Falso medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
ESPINACA <i>Spinacia oleracea</i>	Falso medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Gusano soldado	<i>Spodoptera erugua</i>
JITOMATE o TOMATE <i>Lycopersicon esculentum</i>	Cogolero	<i>Heliothis virescens</i>
	Gusano cuerno	<i>Kelepeta leucopisicella</i>
	Gusano cuerno	<i>Protoparce sexta</i>
	Gusano del fruto	<i>Heliothis virescens</i>
	Gusano soldado	<i>Spodoptera erugua</i>
	Medidor	<i>Trieboplusia ni</i>
	Pulgón	<i>Aphis sp</i>

(Du Pont 1990a)

**ANEXO 2
(CONTINUACION)**

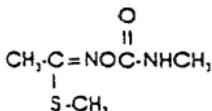
ALGUNOS INSECTOS QUE CONTROLA METOMIL

CULTIVO	PLAGAS	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
LECHUGA <i>Lactuca sativa</i>	Gusano sastrado	<i>Spodoptera exigua</i>
	Falso medidor	<i>Trichoplusia ni</i>
MAIZ y SORGO <i>Zea mays</i>	Barrileador	<i>Ostrinia nubilalis</i>
	Gusano enroscado	<i>Heliothis zea</i>
	Gusano cogollero	<i>Spodoptera frugiperda</i>
	Gusano sastrado	<i>Spodoptera exigua</i>
MANZANO <i>Malus sylvestris</i>	Enrollador hoja	<i>Caspariopsis permisum</i>
	Gusano verde del fruto	<i>Lithanonea alienata</i>
	Chapulín	<i>Typhlocyba pomaria</i>
	Mirador	<i>Phyllocolpa diademata</i>
	Pulgones Triplonidos	<i>Aphis pomorum</i>
PAPA <i>Solanum tuberosum</i>	Conchuma	<i>Ephyra ephrae</i>
	Falso medidor	<i>Trichoplusia ni</i>
	Gusano sastrado	<i>Spodoptera exigua</i>
	Palomita	<i>Gnathoschemia operculella</i>
	Pulgón	<i>Myzus persicae</i>
SOYA <i>Glycine max</i>	Doradilla	<i>Diabrotica sp.</i> y <i>Callitama sp.</i>
	Falso medidor	<i>Pseudaletia includens</i>
	Gusano cogollero	<i>Heliothis sp.</i>
	Gusano medidor	<i>Anaethumella pompanina</i>
	Gusano prieto	<i>Estigmene acrea</i>
	Gusano sastrado	<i>Spodoptera exigua</i>
TABACO <i>Nicotiana glauca</i>	Gusano sastrado	<i>Spodoptera exigua</i>
	Falso medidor	<i>Trichoplusia ni</i>
	Gusano guerra	<i>Pieris rapae</i>
	Gusano prieto	<i>Estigmene acrea</i>
	Gusano de la yema	<i>Heliothis virescens</i>

ANEXO 3

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

NOMBRE COMERCIAL:	LANNATE
NOMBRE COMUN:	Methomyl
NOMBRE QUIMICO:	S-Metil N-[[[metilcarbamoil]oxi] tioacetimidato
REGISTRO EPA:	352-342-AA
FORMULA EMPIRICA:	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S
FORMULA ESTRUCTURAL:	



FORMA FISICA:	Cristales sólidos.
PESO MOLECULAR:	162.2
GRAVEDAD ESPECIFICA:	1.2946 25°/4°
OLOR:	Ligeramente sulfuroso.
COLOR:	Blanco.
PUNTO DE FUSION:	78-79°C
PRESION DEL VAPOR:	5 x 10 ⁻³ mm de mercurio a 25°C.
SOLUBILIDAD:	En agua 5.8 g/100 g; etanol 42 g/100 g; metanol 100 g/100 g; acetona 73 g/100 g; tolueno 3 g/100 g.
ESTABILIDAD:	Estable en forma sólida, en solución acuosa bajo condiciones convencionales. La aireación, luz solar, alcalinidad y altas temperaturas incrementan el grado de descomposición en agua.

MÉTODOS ANALITICOS

ANALISIS:	Por el método de cromatografía de gases utilizando un detector microcalorimétrico sulfúrico.
RESIDUOS:	El proceso de análisis está descrito como: Microcoulometric Gas Chromatography J. Ag. & Food Chem. 16:(4)554-557 (1968).

(Du Pont 1990a)

TOXICOLOGIA

Methomyl es un poderoso agente inhibidor de la acetilcolinesterasa.

Los datos obtenidos en el Laboratorio de Toxicología y Medicina Industrial de Haskell (Du Pont) indican lo siguiente:

TOXICIDAD ORAL:
(ratas albinas)

- LD₅₀ 17 mg./Kg. (machos); 23.5 mg./Kg. (hembras), para LANNATE 90 polvo soluble en agua.
- LD₅₀ 130 mg./Kg. (machos) para LANNATE L al 24%.
- LD₅₀ 4060 mg./Kg. (machos) para LANNATE polvo al 2%.

EFFECTOS DERMALES:
(conejos albinos)

- Una suspensión acuosa al 5% de polvo humectable y una pasta (propilenglicol) al 60% aplicada sobre la piel, no produjo ninguna reacción irritante.
- LD₅₀ 5000 mg./Kg. para LANNATE no formulado en una solución acuosa al 52.8%.

IRRITACION EN LOS OJOS:
(conejos)

- LD₅₀ (24% líquido) = 5880 mg./Kg.

Administrando 10 mg. de LANNATE en forma de polvo o en una solución con propilenglicol a los ojos de los conejos, se produjo una leve conjuntivitis y congestión del iris el día en que se hizo la prueba; no hubo daño de la córnea. Las presentaciones desecritas del producto causaron constricción pupilar. En adición, 0.1 ml. de LANNATE-L no diluido causó un daño moderado a la córnea la cual sano a los 14 días.

INHALACION:
(ratas albinas)

Se reporta que LANNATE no formulado mostró alta toxicidad cuando se expuso por cuatro horas a un grupo de 4 ratas en una atmósfera que contenía el insecticida en forma de aerosol, cuando el aire fué calentado a 100-130°C.

LC₅₀ 0.30 mg./Lt. de aire.

Este producto es tóxico a peces, pájaros y otros animales silvestres. Tóxico a las abejas cuando reciben directamente la aspersión: una vez que LANNATE ha perdido la humedad, no causa daño a las abejas e insectos benéficos, ya que su acción se expresará en los insectos masticadores (ingestión).

(Du Pont 1990a)

ANEXO 5

TOLERANCIA DE RESIDUOS

10 ppm	Alfalfa, forraje a base de residuos de: chícharo, frijol, maíz, soya.
6 ppm	Espinacas.
5 ppm	Calabaza, chícharo, durazno, lechuga, nectarina, pera, uva.
3 ppm	Apio, brocoli.
2 ppm	Coles de Bruselas, coliflor, limones, naranjas, fangerinas; vainas frescas de: frijol común y otras vainas de leguminosas.
1 ppm	Forraje de sorgo y manzanas.
0.2 ppm	Ajo, betabel, calabaza, camote, cebolla, chile, jitamate, melón, nabo, papa, pimiento morrón, rábano, sandía, soya, sorgo, zanahoria.
0.1 ppm	Cacahuete, frijol, garbanzo, maíz, semilla de algodón.

(Du Pont 1990a)

ANEXO 6

LISTA PARCIAL DE ALGUNOS INSECTOS, ACAROS y NEMATODOS QUE CONTROLA VYDATE

NOMBRE COMUN:	NOMBRE CIENTIFICO:
Barrenillo del chile	<i>Anthonomus eugeni</i>
Catarinita de la papa	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Chicharritas	<i>Empoasca</i> spp.
Chinche lygus	<i>Lygus lineolaris</i>
Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
Mosca blanca	<i>Trialeurdes vaporariorum</i>
Perforador de la hoja	<i>Bucculatrix thurberella</i>
Picudo del algodonero	<i>Anthonomus grandis</i>
Pulga saltona del algodonero	<i>Pseudatomoscelis seriatus</i>
Pulgón verde	<i>Myzus persicae</i>
Trips de los citricos	<i>Scirtothrips citri</i>
Acaro de dos manchas	<i>Tetranychus urticae</i>
Arador o negrilla de los citricos	<i>Phyllocolpura oleivora</i>
Arador o negrilla del peral	<i>Epitrimerus pyri</i>
Araña roja	<i>Tetranychus</i> spp.
Araña roja europea	<i>Panonychus ulmi</i>
N. Barrenador	<i>Radopholus similis</i>
N. de aguijón	<i>Belonioidimus</i> spp.
N. de alfiler	<i>Paratylenchus</i> spp.
N. de anillo	<i>Criconemoides</i> spp.
N. de espiral	<i>Helicotylenchus</i> spp.
N. de daga	<i>Xiphinema</i> spp.
N. de quiste	<i>Heterodera glycine</i>
N. del raquitismo	<i>Tylenchorhynchus</i> spp.
N. del tallo y bulbos	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
N. de la hoja y yema	<i>Aphelenchoides</i> spp.
N. de la punta blanca del arroz	<i>Aphelenchoides besseyi</i>
N. de la raíz de escoba	<i>Trichodorus</i> spp.
N. dorado	<i>Globodera rostochiensis</i>
N. lanceolado	<i>Hoplotaimus</i> spp.
N. Lesionador	<i>Pratylenchus</i> spp.
N. nodulador o de agalla	<i>Meioidogyne</i> spp. (except: Javanese)
N. reniforme	<i>Rotylenchulus</i> spp.
N. rugoso	<i>Aphelenchoides fragariae</i>

(Du Pont 1990c)

ANEXO 7

ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS y ACAROS QUE CONTROLA VYDATE

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
ALGODONERO (2,3) <i>Gossypium hirsutum</i>	INSECTOS: Perforador de la hoja	<i>Bucculatrix thuberiella</i>
	Picudo pulga saltona	<i>Anthonomus grandis</i> <i>Pseudatomoscelis seriatus</i>
APIO (1,2,3) <i>Apium graveolens</i>	INSECTOS: Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
	ACAROS: Araña roja	<i>Tetranychus</i> spp.
BERENJENA (2,3) <i>Solanum melongena</i>	INSECTOS: Calarinita de la papa	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
	Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
	Pulgón	<i>Myzus persicae</i>
CACAHUATE (2,3) <i>Arachis hypogaea</i>	INSECTOS: Trips	<i>Thrips</i> spp.
	NEMATODOS: N. de aguijón N. de anillo N. lesionador N. nodulador	<i>Belonolaimus</i> spp. <i>Criconemoides</i> spp. <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp.
CAMOTE (2,3) <i>Ipomoea batatas</i>	NEMATODOS: N. de espiral N. nodulador	<i>Helicotylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (excepto <i>M. javanese</i>)
	INSECTOS: Barenillo del fruto Minador de la hoja Pulgón	<i>Anthonomus eugeni</i> <i>Liriomyza</i> spp. <i>Myzus persicae</i>
CHILE (1,2,3) <i>Capsicum annuum</i>	NEMATODOS: N. de aguijón N. de anillo N. nodular	<i>Belonolaimus</i> spp. <i>Criconemoides</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (excepto <i>M. javanese</i>)

(Du Pont 1990c)

ANEXO 7
(CONTINUACION)
ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
CHILE (1,2,3) (continuacion)	N. de raíz de escoba N. del raquitismo	<i>Trichocharax</i> spp. <i>Tylenchorhynchus</i> spp.
CUCURBITACEAS (2,3) Calabacita <i>Cucurbita pepo</i>	INSECTOS: Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
CUCURBITACEAS (2,3) Melón <i>Cucumis melo</i> Pepino <i>Cucumis sativus</i> Sandía <i>Citrullus vulgaris</i>	NEMATODOS: N. de Aguijón N. de anillo N. nodulador N. de "raíz de escoba" N. del raquitismo	<i>Belonolaimus</i> spp. <i>Criconeimoides</i> spp. <i>meloidogyne</i> spp. (excepto javanese) <i>Trichocharax</i> spp. <i>Tylenchorhynchus</i> spp.
CITRICOS (2,3) <i>Citrus</i> spp.	ACAROS: Araador de los citricos	<i>Phyllocoptura oleivora</i>
	INSECTOS: Trips	<i>Scirtothrips citri</i>
JITOMATE (1,2,3) <i>Lycopersicon esculentum</i>	INSECTOS: Minador de la hoja	<i>Liriomyza munda</i>
LILIACEAS (2,3) AJO <i>Allium sativum</i> CEBOLLA <i>Allium cepa</i>	INSECTOS: Trips NEMATODOS: N. de bulbos y tallos	<i>Trips tabaci</i> <i>Frankliniella occidentalis</i> <i>Aethiopsis major</i> <i>D. tylenchus dipsaci</i>

(Du Pont 1990c)

ANEXO 7
(CONTINUACION)
ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
MANEANO (1,2,3) <i>Malus sylvestris</i>	ACAROS: Araña roja Acaro de dos manchas	<i>Panonychus ulmi</i> <i>Tetranychus bimaculatus</i>
	INSECTOS: Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
	Chicharrita	<i>Empoasca</i> spp.
ORNAMENTALES (1,2,3) (Se indican algunas) Azalea <i>Rhododendron</i> spp. Crisantemo <i>Chrysanthemum</i> spp. Filodendron <i>Philodendron</i> spp. Gardenia <i>Gardenia jasminoides</i> Gladiola <i>Gladiolus</i> spp. Helecho <i>Asparagus sprengeri</i> Rosa <i>Rosa multiflora</i>	NEMATODOS: N. barrenador N. de aguijón N. lesionado N. nodulador	<i>Radophulus similis</i> <i>Belonolaimus</i> spp. <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (excepto javanese)
	N. raquitismo	<i>Tylenchorhynchus</i> spp.
	INSECTOS: Chicharrita Chinche Escamas	<i>Empoasca</i> spp. <i>Lygus</i> spp. <i>Aspidiotus</i> spp. <i>Anaridilla</i>
	Éscarabajo japonés Minador de la hoja Moscas blancas	<i>Popilia japonica</i> <i>Liriomyza</i> spp. <i>Bemisia</i> spp. <i>Trialeurodes</i> spp.
	Piojo harinoso Pulgá saltona Trips	<i>Dysmicoccus</i> spp. <i>Epitrix</i> spp. <i>Frankliniella</i> spp.
	ACAROS: Araña roja Araña roja europea	<i>Panonychus ulmi</i> <i>Tetranychus</i> spp.
	INSECTOS: Catarinita de la papa Chicharrita Pulgá saltona Pulgón	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> <i>Empoasca</i> spp. <i>Epitrix</i> spp. <i>Myzus persicae</i>

(Du Pont 1990c)

ANEXO 7
(CONTINUACION)
ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
PAPA (continuación)	NEMATODOS: N. de agujón N. de anillo N. lesionador N. Nodulador	<i>Belonolaimus</i> spp. <i>Cricanemoides</i> spp. <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (except. javanese)
PIÑA (1,2,3) <i>Ananas comosus</i>	INSECTOS: Piño harinoso	<i>Dysmicoccus brevipis</i>
	NEMATODOS: N. nodulador	<i>Meloidogyne</i> spp.
	N. reniforme	<i>Rotylenchulus</i> spp.
PERAL (2,3) <i>Pyrus malus</i>	ACAROS: Acaro de dos manchas Araña café	<i>Tetranychus bimaculatus</i> <i>Bryobia practiosa</i>
PLATANO (3) <i>Musa sapientum</i>	NEMATODOS: N. barronador N. de espiral N. lanceolado N. nodulador	<i>Radopholus similis</i> <i>Helicotylenchus</i> spp. <i>Hoplaimus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp.
	INSECTOS: Picudo negro Nota: Las larvas se mueren por contacto o ingestión del oxamil en el tejido del rizoma.	<i>Cosmopolites sordidus</i>

(Du Pont 1990c)

ANEXO 7
(CONTINUACION)
ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
SOYA (2,3) <i>Glycine max</i>	NEMATODOS:	
	N. de anillo N. de quiste N. de raquitismo N. de lanceolado N. de lesionado N. nodulador	<i>Criconeimoides</i> spp. <i>Heterodera glycine</i> <i>Tylenchorhynchus</i> spp. <i>Hoplodaimus</i> spp. <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (excepti javanese)
TABACO (1,2,3) <i>Nicotiana tabacum</i>	NEMATODOS:	
	N. lesionado N. nodulador	<i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. (excepti javanese)
	INSECTOS:	
	Pulga saltona	<i>Epitrix</i> spp.
ZANAHORIA (2,3) <i>Daucus carota</i>	NEMATODOS:	
	N. de agujon N. de espiral N. de raquitismo N. lesionado N. nodular	<i>Belonolaimus</i> spp. <i>Helicotylenchus</i> spp. <i>Tylenchorhynchus</i> spp. <i>Pratylenchus</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp.

(Du Pont 1990c)

ANEXO 8

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

NOMBRE COMERCIAL:	VYDATE®
NOMBRE COMUN:	Oxamil
NOMBRE QUIMICO:	Metil N', N'-dimetil-N-[(metilcarbamoil) oxil]-1-litio-oxamimidato.
REGISTRO SARH-DGSV:	352-372
REGISTRO EPA:	C ₇ H ₁₃ N ₂ O ₃ S
FORMULA EMPIRICA:	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ (\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C} - \text{C} = \text{N}-\text{O}-\text{C}-\text{NHCH}_3 \\ \\ \text{SCH}_3 \end{array}$
FORMULA ESTRUCTURAL:	
PESO MOLECULAR:	219.25
FORMA FISICA:	SOLIDO
COLOR:	CLARO
OLOR:	LIGERAMENTE AZUFRAO
PUNTO DE FUSION:	100-102°C, cambiando a una forma cristalina diferente que se funde a 108-110°C.
GRAVEDAD ESPECIFICA:	0.97 25° / 4°
VOLATILIDAD:	
PRESION DE VAPOR:	2.3 × 10 ⁻⁴ mm Hg a 25°C 3.7 × 10 ⁻⁴ mm Hg a 30°C 8.4 × 10 ⁻⁴ mm Hg a 40°C 7.6 a 10 ⁻³ mm Hg a 70°C
SOLUBILIDAD: (A 25° C)	Gramos/100g de solvente: metanol 144, DFM 108; acetona 67; etanol 33; ciclohexanona 29; agua 28; isopropanol 11; tolueno 1.

(Du Pont 1990c)

ANEXO 9

TOXICOLOGIA

Datos obtenidos en el Laboratorio de Toxicología y Medicina Industrial de Haskell (Dupont), Wilmington, Delaware, U.S.A.

Oxamil es un poderoso agente inhibidor de la acetilcolinesterasa.

TOXICIDAD ORAL AGUDA: (ratas blancas, machos)

DL_{50} = 5.4 mg/kg para Oxamil
 DL_{50} = 37 mg/kg para VYDATE[®] L (24%)
 DL_{50} = 110 mg/kg para VYDATE[®] G (10%)
 DL_{50} = 2960 mg/kg para VYDATE[®] L (24%)
Potencial de dermatitis.- El oxamil no irritó la piel de conejillos de indias cuando se aplicó en dosis sub-letales; No es un sensibilizador de la piel.

ABSORCION AGUDA POR LA PIEL: (machos albinos de cone- jillos de indias).

IRRITACION DE LOS OJOS: (conejos)

Administrando a los ojos del conejo oxamil sólido o en una suspensión en glicol de propileno, causó una marcada constricción pupilar y algo de congestión del iris, pero no daño corneal.

INHALACION: (ratas blancas, hembras y machos).

CL_{50} = 0.14 mg/litro y 1.12 mg/litro para ratas macho y hembra respectivamente. Ambos se sometieron a una nube de polvo de oxamil durante una hora (únicamente exposición de la cabeza).
 CL_{50} = 0.14 mg/litro de Vydate[®] L (0.35 mg/l de oxamil) para machos de rata sometidos a una aspersión fina durante una hora (únicamente exposición de la cabeza).

VIDA SILVESTRE:

Perdiz
Perdiz
Pato
Perdiz

DL_{50} = 4.18 mg/kg para oxamil.
 DL_{50} = 39.2 mg/kg para Vydate[®] L
 DL_{50} = 10.75 mg/kg para Vydate[®] L
 CL_{50} = 225 ppm para Vydate[®] L (24%)
dieta por 8 días.
 CL_{50} = 1536 ppm para Vydate[®] L (24%)
dieta por 8 días.

Pato

ESTUDIOS DE CAMPO:

Pez sol
Pez dorado
Trucha arco iris

Conejos blancos con la comida y el agua expuestas fueron asperjados excesivamente con Vydate L (24%) en dosis de 3.36 kg de ingrediente activo por hectárea en cuatro aplicaciones a intervalos de tres semanas. (No hubo efectos letales)
 CL_{50} = 5.6 ppm oxamil (96 horas)
 CL_{50} = 27.5 ppm oxamil (96 horas)
 CL_{50} = 4.2 ppm oxamil (96 horas)

(Du Pont 1990c)

TOLERANCIA DE RESIDUOS

Se han establecido ensayos con la finalidad de estudiar la tolerancia de residuos de oxamil en diferentes cultivos, actualmente en EE.UU. se aceptan los siguientes:

TOLERANCIAS:

PPM	CULTIVOS:
0.02	Plátano (pulpa).
0.1	Ajo, cebolla, nabo, ñame, papa, remolacha, zanahoria.
0.2	Algodonero, cacahuete (semilla), soya (semilla y paja).
0.3	Plátano (completo).
1.0	Piña (fruta entera).
2.0	Berenjena, cacahuete (forraje), jitomate, manzana, melón, pepino, pera, sandía.
3.0	Apio, cítricos, chile (Ñeii).
10.0	Piña (forraje), menta.
NSRT(*)	Ornamentales, tabaco.

(*) NSRT No se requiere tolerancia, Cultivos no comestibles.

Cultivos en los que está autorizado su uso, SARH-DGSV, México EPA, EE.UU. y otros países.

1) CULTIVOS EXTENSIVOS:

Algodonero^{2,3}; café³; cítricos^{2,3}; manzano^{1,2,3}; piña^{1,2,3}; plátano³; remolacha azucarera^{2,3}; soya^{2,3}; tabaco^{1,2,3}.

2) HORTALIZAS:

Ajo^{2,3}; alcachofa³; apio^{1,2,3}; berenjena^{2,3}; camote^{2,3}; cebolla^{2,3}; chile^{1,2,3}; cacahuete^{2,3}; cucurbitáceas^{2,3} (calabaza, melón, pepino, sandía); jitomate^{1,2,3}; zanahoria^{2,3}; papa^{1,2,3}.

3) ORNAMENTALES:

Todas las especies^{1,2,3}.

1) Autorizado su uso en México 2) Autorizado su uso en EE.UU.

3) Autorizado su uso en otros países.

METODOS ANALITICOS

ANALISIS: Por el método de cromatografía de gases utilizando un detector microcolorimétrico sulfúrico.

RESIDUOS: El proceso de análisis está descrito como: Flame Photometric Gas Chromatography, J. Agriculture and Food Chemistry, 24:(2) 263-266, 1976.