

03466



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**GENOTOXICIDAD PRODUCIDA POR
AEROPARTICULAS EN CELULAS SOMATICAS
DE LAS ALAS DE *Drosophila melanogaster***

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS
(BIOLOGIA CELULAR)**

P R E S E N T A :

ALFREDO DELGADO RODRIGUEZ

Este trabajo se realizó bajo la dirección
del Dr. Rafael Villalobos Pietrini
del Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM

México, D. F.

1993



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

RESUMEN.....	ii
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODOS.....	8
Filtros.....	8
Obtención de la muestra.....	8
Método Analítico.....	9
Ensayo de mutagenicidad empleando <i>Salmonella typhimurium</i>	10
Medio de cultivo para <i>Drosophila melanogaster</i>	12
Líneas de <i>Drosophila</i>	13
Cruzadas.....	14
Prueba de Mutación y Recombinación Somáticas (SMART).....	15
Selección de las cruzadas empleadas.....	18
Muestras Evaluadas.....	20
Concentración de la muestra.....	21
RESULTADOS.....	22
Estimación de la masa de partículas por filtro.....	22
Análisis químico.....	22
Efectos genotóxicos.....	23
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98.....	23
<i>Drosophila melanogaster</i>	24
DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS.....	35
TABLAS.....	42
FIGURAS.....	52

RESUMEN

Entre los contaminantes más importantes de la Ciudad de México se encuentran las aeropartículas, a las cuales están asociados compuestos orgánicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), mismos que se forman por la combustión incompleta de productos derivados del petróleo. Puesto que se ha demostrado que algunos de ellos son capaces de inducir cáncer, es trascendente caracterizar la actividad genética de la fracción respirable e identificar los agentes químicos presentes en ésta. Para evaluar la genotoxicidad de estos contaminantes es práctico el uso de análisis de corto término, como el de Ames con la bacteria *Salmonella*, sin embargo, es recomendable que los estudios de riesgo genético no se basen únicamente en un bioensayo, sino que también se emplee, si es posible, algún sistema eucarionte además del procarionte mencionado. Es el caso de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, cuyas ventajas para realizar el estudio son: poco espacio para mantener gran número de individuos, los experimentos son rápidos, de bajo costo y gran sensibilidad para detectar el daño provocado. En esta tesis se evaluó la actividad genética de compuestos que constituyen mezclas complejas y que están asociados a las aeropartículas que tienen diámetros iguales o menores a 10 micrómetros (PM10) y se comparó con el efecto causado por aquellas que están en las suspendidas totales (PST), mediante el uso de dos pruebas biológicas: la de mutación y recombinación somáticas (SMART) en células de las alas de *Drosophila melanogaster* y la de Ames, con la cepa TA98 de

Salmonella typhimurium. Además se determinó la presencia HAP por cromatografía de gases. Los muestreos se realizaron el 27 de julio y el 2 de agosto de 1991, en estaciones que la Secretaría de Desarrollo Social (antes SEDUE) tiene en su red de calidad del aire, en la Merced y en el Pedregal de San Angel, que corresponden al centro y al suroeste de la zona metropolitana, respectivamente y que fueron seleccionadas por tener el mayor índice de contaminación durante el período enero a agosto de 1991. Se expusieron filtros de fibra de vidrio durante 24 h en muestreadores de grandes volúmenes. Los compuestos orgánicos se extrajeron con metanol en equipos Soxhlet y se concentraron y dividieron para el análisis con *Salmonella* y *Drosophila*, los tratamientos en el primer caso se aplicaron con dimetilsulfóxido y en el segundo con etanol. Con el sistema de Ames se obtuvo la cantidad de revertantes por placa, con y sin la fracción S9 de hígado de ratón, para verificar la efectividad de las mezclas complejas se aplicó la prueba estadística de diferencias mínimas significativas; mientras que con *Drosophila* se utilizaron líneas estándar y otras con elevada actividad metabólica. La respuesta de SMART se manejó en cantidad de clones inducidos en 100,000 células, para compararla con la de Ames. Los resultados encontrados en ambos sistemas son equiparables en cuanto a comportamiento y se corroboró que en los días y fechas de muestreo los promutágenos o mutágenos indirectos producen mayor respuesta que los directos. Tanto la cantidad de material particulado colectado como la mutagenicidad fueron más elevadas el 2 de agosto

que el 27 de julio para ambas estaciones, las partículas PM10 fueron más genotóxicas que las PST y en ambas fechas en la zona de la Merced se evidenció que es más grave la contaminación con aeropartículas que en la del Pedregal de San Angel.

Como es la primera ocasión en que se utiliza la prueba de mutación y recombinación en células somáticas de *Drosophila melanogaster* para detectar mutágenos que se encuentran en las mezclas complejas de las aeropartículas, los resultados justifican el uso de este sistema de prueba como sensor biológico en los análisis de rutina, en combinación con *Salmonella typhimurium* para establecer un mejor criterio sobre mutagenicidad.

INTRODUCCION

En la actualidad, la Ciudad de México enfrenta un grave problema de contaminación del aire, debida principalmente a los productos arrojados por vehículos automotores, la quema de combustibles y los desechos industriales, que requiere de prontas soluciones, ya que de una u otra manera es el resultado de las actividades que conducen al desarrollo del país. Esto ha estimulado que se efectúen estudios sobre la calidad del aire que respiran los habitantes de esta ciudad, con el fin de conformar medidas para sanarlo y para lo cual, la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) ha organizado una red de calidad del aire en la zona metropolitana de la Ciudad de México, constituida por veinticinco estaciones ubicadas en diferentes puntos (Tabla I y Fig. 1).

Es importante conocer los efectos causados en los seres vivos, especialmente en el hombre, considerando que los más afectados son las personas que padecen enfermedades o transtornos respiratorios, en segundo plano, los menores de edad y la gente propensa a adquirir estos males. Sin embargo, los compuestos arrojados al ambiente podrían provocar danos no sólo en los niveles anatómico y fisiológico, sino también en el genético, ya sea que se induzcan alteraciones en la línea germinal, afectando a las siguientes generaciones o en la somática, provocando el incremento en la formación de tumores cancerosos, siendo según

algunos autores, los agentes químicos la causa principal de la aparición de cáncer y de la producción de defectos genéticos al nacimiento, enfermedades del corazón y cataratas (Ames 1979, Tokiwa y Ohnishi 1986).

A los contaminantes se les clasifica en primarios y secundarios, los primeros son de origen natural (polvos, vegetación) o antropogénico (humo de cigarro, emisiones vehiculares). Los secundarios se generan a partir de los primarios por reacciones atmosféricas (Hughes *et al.* 1980). Estos compuestos se encuentran en el ambiente en estado gaseoso o bien asociados a partículas suspendidas en el aire, las cuales según su tamaño (diámetro aerodinámico) al ser inhaladas o aspiradas quedan en diferentes niveles del tracto respiratorio, siendo las de menor tamaño ($<10 \mu\text{m}$) las que alcanzan a llegar hasta bronquios y bronquiolos (Chrisp y Fisher 1980), mientras que las más grandes ($>10 \mu\text{m}$) permanecen en las vías superiores, fosas nasales, laringe y faringe (Breyse y Swift 1990). Debido a esto a las primeras se les considera como fracción respirable y a las segundas como inhalable. Aquellas partículas de menor tamaño se depositan más eficientemente en pulmón, son eliminadas con mayor dificultad y se mantienen por más tiempo en la atmósfera, aproximadamente 100 h (Esmen y Corn 1971), por estas razones las células del aparato respiratorio tendrán mayor probabilidad de estar expuestas directamente durante largos periodos a los mutágenos que estén asociados a esas partículas. Dichos compuestos pueden ser gradualmente removidos y subsecuentemente transportados a través

de la membrana alveolar al torrente circulatorio y así otros tejidos sensibles pueden quedar expuestos.

En lo que respecta a las aeropartículas más grandes, son eliminadas más fácilmente y en menor tiempo, tanto por el aumento del flujo de aire al respirar o al inhalar (Hileman 1981, Bowes y Swift 1989), como por desprendimiento de las mucosas, lo que en ambos casos, lleva a la ingestión de todo el material depositado en las vías superiores. En este caso, los compuestos asociados pueden ser solubilizados en el intestino y absorbidos al sistema circulatorio, llegando también a otros órganos blanco (Chrisp y Fisher 1980). Dado que las sustancias que se asocian a las partículas, pueden tener capacidad carcinogénica y/o mutagénica, es necesario caracterizar los compuestos contenidos tanto en la fracción inhalable como en la respirable e identificar los agentes químicos presentes en ellas que puedan ser nocivos para la salud (Chrisp y Fisher 1980). Entre ellos se cuentan los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), que se forman de la combustión incompleta de productos derivados del petróleo, carbón, tabaco, alimentos y virtualmente de cualquier materia orgánica (Crittenden y Long 1976, Woo y Arcos 1981, IARC 1983).

Este grupo de compuestos es primordial en cuanto a la exposición a la que está sujeto el hombre, ya que se ha demostrado que tienen actividad carcinogénica en animales y que mezclas complejas de estos se hallan relacionadas con neoplasias en humanos (IARC 1987). Una característica de los HAP es que a pesar de su semejanza estructural, una pequeña modificación puede

provocar diferencias con respecto a su actividad genotóxica (Arcos y Argus 1974, Dipple et al. 1984, Yang y Silverman 1988), por lo que es importante el conocimiento de la correlación estructura-actividad de los HAP (Richard y Woo 1990), así como de los derivados que de ellos se desprenden, especialmente aquellos compuestos nitrogenados, que se han descrito como mutágenos directos y que se originan a partir de reacciones de los HAP con los óxidos de nitrógeno presentes en el ambiente (Arey et al. 1986, 1987, 1989, 1990, Pitts 1987, Zielinska et al. 1989a,b, Atkinson et al. 1990).

Desde hace tiempo se advierte la acción carcinogénica de algunos HAP, como es el caso del benzo(a)pireno, sin embargo, como se menciona anteriormente, están formando mezclas complejas y al interaccionar moléculas de distintos compuestos, se pueden llegar a producir reacciones sinérgicas o antagónicas, que influyen en la actividad de la mezcla completa (Alink et al. 1983), por lo que es importante además de realizar estudios del contenido de compuestos asociados a las aeropartículas, también hacer pruebas de los danos a los que los organismos están expuestos cuando se encuentran en ambientes contaminados.

Para evaluar la actividad genotóxica de estos y otros contaminantes se hacen experimentos de corto término con diversos sistemas biológicos como es el caso de la bacteria *Salmonella*, que genéticamente está bien definida para la detección de mutágenos. La prueba se basa en la reversión de bacterias auxotróficas con requerimiento de histidina al tipo silvestre, conociéndose, según

la cepa utilizada, el mecanismo molecular de la mutación involucrada. Además como ha sido usada para analizar tanto contaminantes ambientales como compuestos químicamente puros y aunque las bacterias no poseen la capacidad enzimática de los mamíferos para metabolizar los compuestos xenobióticos, es posible, al agregar al medio de cultivo la fracción microsómica S9 de hígado de mamífero, detectar también aquellas sustancias que para producir dano sobre el ADN deban ser activadas metabólicamente (Durston y Ames 1974, Kier et al. 1974, Ames et al. 1975, McCann et al. 1975, McCann y Ames 1976, Waters et al. 1978). En la figura 2 se muestra el esquema empleado para examinar mutágenos químicos con la prueba de Ames enfocado a contaminantes ambientales (Finlayson-Pitts y Pitts 1986).

No obstante, es difícil hacer estudios de riesgo genético basándose únicamente en estos ensayos pues se trata de organismos procariontes en donde sólo se analizan ciertas alteraciones, razón por la cual es conveniente, al evaluar los efectos genotóxicos provocados por contaminantes ambientales, utilizar más de un sistema, todo lo cual permita verificar un espectro más amplio de eventos genéticos (Kilbey 1978, Brusick 1988).

En la actualidad es posible considerar a *Drosophila melanogaster* como un organismo adecuado para este tipo de estudios, ya que además de poseer ventajas como son: ciclo de vida corto (10 días a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$), poco espacio y bajo costo para el manejo y mantenimiento de grandes poblaciones, también se han desarrollado nuevos tipos de análisis que son rápidos y han

demostrado ser tan o más sensibles que el tradicionalmente usado de letales recesivos ligados al sexo. En ellos se emplean células somáticas y se puede determinar una gama amplia de eventos como son: mutación, no disyunción, delección y recombinación (Graf et al. 1984, Vogel et al. 1985, Würgler et al. 1984, 1985, Würgel y Vogel 1986, Delgado-Rodriguez 1990). Un antecedente de la aplicación de este tipo de pruebas lo proporcionan Graf y Singer (1989) con extractos etanólicos de filtros de edificios en dos localidades de Basilea (Suiza) y sus resultados muestran diferencias entre las localidades estudiadas, siendo la más cercana a un área de tráfico vehicular en la que se observa la mayor respuesta. Inicialmente había problemas para emplear a *Drosophila melanogaster* como monitor biológico en la detección de compuestos como los HAP (Lee et al. 1983) y aunque en diversos experimentos se ha demostrado que en la fracción microsómica del citocromo P-450 obtenida de *Drosophila* se encuentra el grupo de isoenzimas necesarias para su metabolismo (Klapwijk et al. 1984, Hällström 1987), es hasta 1989 que Frölich y Würgler establecen una cruce de *Drosophila melanogaster* para la prueba de mutación y recombinación somáticas en células del ala, en la cual se presenta un incremento de la actividad enzimática del citocromo P-450, por lo que su capacidad para metabolizar compuestos xenobióticos está también intensificada. Esto le proporciona características útiles como monitor biológico, considerando que además de las ventajas que tiene, aumentó su sensibilidad a ciertos HAP como el Benzo(a)pireno y el 7,12-Dimetilbenzo(a)antraceno (Graf et al.

1984, Frölich y Würgler 1990), lo que implica que se debe revisar la actividad de promutágenos, que habían sido descritos como negativos, con el manejo de cepas adecuadas para detectar su posible actividad genotóxica, ya sea que estén formando parte de mezclas complejas o se empleen químicamente puros por la sospecha de su incidencia en el ambiente.

El objeto del presente trabajo es evaluar la sensibilidad de *Drosophila melanogaster* a la actividad genotóxica de compuestos que se encuentran formando mezclas complejas asociadas a las aeropartículas, comparando los efectos de partículas suspendidas en el aire de diámetro igual o menor a 10 micrómetros (PM10), con los de las partículas suspendidas totales (PST), para finalmente conformar un conjunto de pruebas que comprenda, además del análisis químico, una parte biológica en la que se incluyan el sistema de Ames y la prueba de mutación y recombinación somáticas (SMART) en *Drosophila melanogaster*.

MATERIALES Y METODOS

Filtros

Para capturar las partículas suspendidas en el aire, se utilizaron filtros de fibra de vidrio que se expusieron al ambiente durante 24 horas en muestreadores Andersen de alto volumen PM10 (HVPM10) y de PST (HVPST) calibrados con un flujo aproximado de 1.13 m³/min. El peso del material particulado se obtuvo de la diferencia entre los pesos inicial y final del filtro, considerando el flujo. Esto permitió conocer la densidad de las partículas en un volumen de aire determinado.

Los muestreos se hicieron el 27 de julio y el 2 de agosto de 1991 en dos de las estaciones que SEDESOL tiene en su red de calidad del aire, la Merced y el Pedregal de San Angel, y que a su vez corresponden al centro y suroeste de la zona metropolitana de la Ciudad de México, respectivamente. Estas áreas fueron seleccionadas por ser las de mayor índice de contaminación durante los meses de enero a agosto de 1991 (CGRUPE 1991).

Obtención de la muestra

La fracción orgánica, en la que se incluyen los HAP, se obtuvo mediante el tratamiento de los filtros con 250 ml de etanol, colocándolos en equipos Soxhlet durante 6 horas, una vez transcurrido este tiempo se procedió a evaporar a sequedad total

en baño María y se llevó a un volumen fijo de 1 ml con metanol. Este disolvente fue seleccionado por ser uno de los más empleados en este tipo de estudios pues se ha demostrado que extrae con mayor eficiencia los compuestos orgánicos (Jungers y Lewtas 1980). La cantidad resultante se dividió en tres alícuotas; para el estudio químico, el ensayo con *Drosophila* y la prueba de Ames, las dos últimas se evaporaron a sequedad total y se resuspendieron respectivamente en etanol y en dimetilsulfóxido. En la figura 3 se presenta el esquema de trabajo utilizado.

Método Analítico

Para comprobar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus nitroderivados se examinaron las muestras por medio de cromatografía de gases empleando el siguiente procedimiento:

1. Se inyectaron al cromatógrafo (Perkin-Elmer 82000) con el divisor de flujo cerrado durante 30 seg y con el siguiente programa de temperatura:

	Inicial	Final
Temperatura	80	310
Tiempo (min)		2
Velocidad de calentamiento (°C/min)	6	

Temperatura del inyector: 230 °C
Temperatura del detector: 325 °C

2. La identificación se hace por tiempo de retención de los compuestos de un estándar externo, que contiene HAP a

concentración de 1-20 $\mu\text{g/ml}$, el cual se detalla en la Tabla II.

Como disolvente se utilizó metanol (grado cromatográfico), como gas de arrastre hidrógeno y la columna que se usó fue de metil fenil silicona (50%).

Los detectores utilizados fueron dos, de ionización de llama y de nitrógeno fósforo.

Ensayo de mutagenicidad empleando *Salmonella typhimurium*

El procedimiento realizado fue el estándar de incorporación en caja (Maron y Ames 1983). La cepa usada fue TA98, la cual puede detectar mutaciones por corrimiento del marco de lectura, esta ha demostrado ser la más adecuada para ensayos en los que se incluye la fracción microsémica S9 de hígado de mamífero y ha resultado ser más sensible a los compuestos presentes en muestras de aeropartículas que la cepa TA100 (Van Houdt et al. 1987, Villalobos et al. en preparación).

La fracción S9 se preparó según Ames et al. (1975) de hígado de ratas macho de la línea Sprague-Dawley con un peso aproximado de 200 g cada una; los animales fueron tratados con Aroclor 1254 (200 mg/ml) diluido en aceite de maíz (500 mg/Kg) cinco días antes de ser sacrificados.

A 0.1 ml de la solución a probar se agregó 0.1 ml de suspensión de bacterias cultivadas durante toda la noche anterior y en los casos en los que se analizó el efecto de la mezcla compleja con activación metabólica, se adicionó 0.5 ml de la fracción S9, todo esto se llevó a tubos conteniendo agar blando a

45°C y se sembró en cajas de Petri que se incubaron durante 48 h a 37°C, una vez transcurrido este tiempo se realizó el conteo de las colonias bacterianas que revertieron por caja.

Debido a que para llevar al cabo este trabajo únicamente se contó con la mitad de cada filtro, era poco el extracto, por lo cual en la prueba de *Salmonella* se empleó únicamente una concentración, equivalente a la cantidad de aire muestreado durante una hora por mililitro de DMSO (67.9 m³/ml). Lo anterior impidió el análisis de regresión lineal para determinar la actividad específica de cada muestra (potencial mutagénico), la que correspondería a la pendiente de la parte lineal inicial típica del comportamiento concentración-respuesta (Maron y Ames 1983) y cuyo valor, equivalente en este caso a la cantidad de revertantes inducidos por unidad de exposición (metro cúbico de aire muestreado, ml, mg) (Krewski et al. 1992), se emplea para correlacionar los potenciales carcinogénico y mutagénico (McCann et al. 1988, Piegorsch y Hoel 1988). Por lo tanto, en este estudio se presentan los resultados como revertantes/placa, a los que se les ha restado el testigo, empleando el método estadístico de diferencias mínimas significativas (LSD) (Hageman et al. 1988). La que se calculó tomando en cuenta la varianza entre los valores de las repeticiones del testigo y los tratamientos, según la siguiente ecuación:

$$LSD = t \sqrt{2 MS}$$

Donde t es el valor estadístico de t a un nivel de confianza determinado con los grados de libertad equivalentes a la suma del número de repeticiones menos uno de cada tratamiento y MS es la varianza de las repeticiones de todos los tratamientos. Los valores se obtuvieron considerando la probabilidad de error equivalente a 0.05 y 0.01.

Medio de cultivo para *Drosophila melanogaster*

En la elaboración del medio de cultivo para el mantenimiento de las cepas se utilizaron gomas naturales (carrageninas), ya que aparte de ser más baratas que el agar, se observó que no afectan al crecimiento de las moscas, lo cual redujo en más del 50% el costo (Delgado-Rodríguez et al. en preparación). Los ingredientes se añadieron en las siguientes cantidades:

agua 1250 ml
Gelamix 7.6 g
Liangel 2.4 g
azúcar 70 g
harina de maíz 112 g
levadura de cerveza seca 55 g
nipagin simple (fungicida) 0.4 g
ácido propiónico (bactericida) 4 ml

Se mezclaron en seco las gomas y el azúcar y se disolvieron en 870 ml de agua. Aparte y en otros 380 ml se incorporaron la harina y la levadura. Se calentaron las gomas hasta ebullición,

añadiendo después aproximadamente 0.4 g de nipagin simple y agregando posteriormente los 380 ml restantes. Se coció todo algunos minutos, se retiró del fuego y se le puso el ácido propiónico. Se sirvió en frascos secos y limpios, no fue necesario que previamente estuvieran esterilizados.

Lineas de Drosophila

Se emplearon cuatro líneas progenitoras para la realización de la prueba:

1. mwh/mwh
2. flr³/TM3,Ser
3. ORR1/ORR1; ORR2/ORR2; mwh/mwh
4. ORR1/ORR1; ORR2/ORR2; flr³/TM3,Ser

mwh: "pelos múltiples", se encuentra en el cromosoma 3 a 0.0 unidades de mapa y se distingue fenotípicamente porque en las alas del adulto en lugar de un tricoma por célula, correspondiente al fenotipo silvestre, se presentan de dos a cinco (Lindsley y Grell 1968).

flr³/TM3,Ser: flr³: "flama", está a 39 unidades de mapa sobre el cromosoma 3, aparece fenotípicamente como tricomas de forma irregular en el tórax, el abdomen y las alas (García-Bellido y Dapena 1974, Lindsley y Zimm 1985). Como en condición homocigótica es letal, se requiere para el mantenimiento de la línea que lo porta la presencia de un cromosoma balanceador, el TM3,Ser, que tiene una inversión pericéntrica abarcando gran parte del

cromosoma 3 y que además posee el marcador dominante "Serratia" (Ser), lo cual permite reconocer fácilmente a los individuos que llevan la inversión, ya que éstos muestran las alas con bordes discontinuos. Como "Serratia" es, en condición homocigótica, una mutación letal en cada generación sólo se recobran individuos heterocigóticos tanto para $f1r^3$ como para Serratia.

ORR1 y ORR2: son el primero y el segundo cromosomas de la línea Oregón R(R), misma que es resistente al insecticida DDT y que muestra elevada actividad metabólica en lo que a reacciones dependientes del complejo microsómico P-450 se refiere (Frölich y Würgler 1989). Este incremento en su capacidad metabólica se debe principalmente al gen RI, ubicado en el cromosoma 2 a 65.0 unidades de mapa; por lo tanto, lo que se hizo fue la sustitución de los cromosomas 1 y 2 de las líneas originales mwh/mwh y $f1r^3/TM3, Ser$, por los de la línea Oregón R(R).

Cruzas

Se realizaron tres cruzas de la siguiente manera:

Hembras de la línea $f1r^3/TM3, Ser$ (2) con machos de la línea mwh/mwh (1), a la que se hace referencia con la sigla E por ser la craza estándar.

Hembras de la línea ORR; $f1r^3/TM3, Ser$ (4) con machos de la línea mwh/mwh (1), misma que se designó con las siglas HAB por poseer el marcador RI de alta bioactivación en forma heterocigótica. Esta craza se llevó a cabo porque la de alta bioactivación presenta algunos problemas como son: presencia de

arreglos irregulares en los tricomas del ala, que dificulta la clasificación de las manchas; gran variación en los resultados de las repeticiones experimentales y baja producción de huevos por parte de las hembras ORR;mwh. Esta situación se observa también en la estándar por lo que en este trabajo se invierte la cruce empleando hembras flr³ (Graf y van Schaik 1991).

Hembras de la línea ORR;flr³/TM3,Ser (4) con machos de la línea ORR;mwh/mwh (3), cruce a la que se menciona con las letras AB por ser la originalmente descrita por Frölich y Würgler en 1989 como de alta bioactivación.

Prueba de Mutación y recombinación somáticas (SMART)

Se basa en el uso de organismos heterocigóticos para mutaciones recesivas en células somáticas, de tal forma que la pérdida del alelo dominante en algún momento del desarrollo permite la expresión del recesivo, que se expresa fenotípicamente como una mancha sobre la cutícula del adulto (Graf et al. 1984).

Entre las ventajas que ofrece la prueba están la de requerir únicamente de una generación de moscas para la obtención de resultados, la de reconocer si la acción de los agentes químicos es en el momento del tratamiento o bien si el efecto sucede después del mismo, ya que el tamaño de las manchas observadas depende del tiempo en el que se induce el clon, de tal modo que si ocurre tempranamente presentará mayor tamaño que si se produce hacia el final de éste.

Como se muestra en la figura 4, la formación de las manchas en las células de las alas puede deberse a mutación, recombinación o delección (Graf et al. 1983).

Con el fin de que haya individuos con poca variación en la edad, se colectaron huevos durante 8 h en frascos con una base sólida de agar (5% p/v) cubierta con una capa de aproximadamente 5 mm de una pasta espesa de levadura seca activa enriquecida con azúcar. Antes de colocar a los adultos para la oviposición se dejó secar la superficie de la pasta tapando la boca del frasco con gasa. Para obtener las larvas, el frasco se lavó con agua corriente y se filtró con una coladera de gasa fina de nylon para capturar a los organismos (Magnusson y Ramel 1990), que se pusieron en tubos homeopáticos conteniendo 1.5 g de medio instantáneo y 5 ml de la solución que se probó.

Cuando los adultos emergieron, fueron fijados en alcohol al 70%, para posteriormente montar las alas en preparaciones permanentes como se indica en el trabajo de Graf y colaboradores de 1984.

Se analizó la región distal de cada ala con un microscopio óptico, a un aumento de 400. Se registró cada mancha de la siguiente manera:

- a. Sección del ala: A,B,C',C,D',D y E, (García-Bellido y Merriam, 1971).
- b. Cantidad de células: manchas chicas (1 a 2) y grandes (3 ó más)

c. Fenotipo: sencillo (mwh ó flr) ó doble (mwh y flr en zonas adyacentes).

El análisis estadístico se realizó según Frei y Würgler (1988), mediante la prueba de χ^2 de proporciones con la corrección de Yates y con el programa de cómputo SMART versión P.C. de Würgler y Frei (comunicación personal). Para considerar si el resultado es: positivo, positivo débil, negativo o dudoso, se empleó el procedimiento múltiple de Shelby y Olson (1981) y Frei y Würgler (1988), en donde se compararon las frecuencias inducidas de los grupos tratados con las de los testigos, tanto bajo una hipótesis nula que consideró que las frecuencias observadas en los grupos testigo no difirieron de las de los tratados, como ante una hipótesis alternativa en la que la frecuencia inducida en los tratados es "m" veces más alta que la hallada en el testigo. Debido a la aparición espontánea de manchas pequeñas con un sólo fenotipo, se trataron estadísticamente por separado las diversas clases de manchas obtenidas (chicas sencillas, grandes sencillas y dobles) y es con base en esta diferencia, que a la aparición de cada tipo se le asignó un número "m" determinado, siendo de 2 para las manchas pequeñas sencillas, por ser las más comunes y de 5 para las manchas grandes sencillas y las dobles, que se dan con menos frecuencia (Frei y Würgler 1988). Para comparar los resultados de los tratamientos de *Drosophila melanogaster* con los de *Salmonella*, se calculó la frecuencia de producción de clones mwh por 10^5 células, ajustando este valor con el del testigo, para

lo cual, la cantidad de clones mwh se dividió por la de alas y por las células que conforman el área que se analizó y que corresponde aproximadamente a 24,400 (García-Bellido y Merriam 1971). Para corregirlo con el testigo, se restó la frecuencia de este último a la del grupo tratado, lo cual permitió la comparación entre tratamientos con distintas frecuencias en el testigo (e. g. cruza I contra II).

Selección de las cruza empleadas

Para evaluar la capacidad de la prueba SMART, empleando las cruza E, HAB y AB, en la detección de la genotoxicidad debida a las aeroparticulas, se tomaron dos muestras cuya respuesta en la prueba de Ames ya era conocida; como los extractos se encontraban en DMSO al 100% que es tóxico para las larvas de *Drosophila melanogaster*, se utilizó entonces agua y Tween 80 para que al diluir la muestra el DMSO quedara a diferentes concentraciones (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0%) con y sin la fracción orgánica. El Tween 80 se empleó a concentración fija (1%). De los tratamientos sólo se pudieron analizar aquellos en los que la concentración de DMSO fue de 0.5%, ya que tanto en los testigos como en los grupos tratados hubo elevada toxicidad (Tabla III).

Dado que las concentraciones de los diferentes compuestos de la fracción orgánica fueron muy bajas se realizó otro ensayo con el fin de comprobar si los disolventes permitían que el tratamiento se diera a larvas de 48 h de edad total para así aumentar el tiempo de exposición y de esta manera lograr mayor

sensibilidad. Sin embargo, hubo toxicidad en larvas de esta edad, mientras que con las de 72 h se obtuvo una cantidad adecuada de adultos para el análisis.

De estos experimentos surgieron resultados claros de mutagenicidad con la muestra I en el cruzamiento HAB (Tabla III), mientras que en el E no hubo incremento significativo, lo que implicó que para tener acción mutagénica, los componentes de esa mezcla deben ser activados metabólicamente. En la cruce AB se produjo toxicidad elevada, misma que fue extrema en el caso de la muestra II y que se debió a los disolventes ya que apareció tanto en los grupos tratados como en los testigos. Una vez que se hubo corroborado que *Drosophila melanogaster* fue sensible a la fracción orgánica presente en las aeropartículas, se procedió a desarrollar un protocolo con características adecuadas para el análisis con la prueba SMART.

A partir de estos resultados se decidió: manejar la cruce HAB en lugar de la AB, debido a que con la primera se podían emplear los mismos criterios de lectura que en el cruzamiento E, ya que el patrón en el arreglo de los pelos del ala no está alterado; por otro lado, en el cruzamiento AB había alta toxicidad debida a los disolventes y menos sensibilidad a los componentes de la mezcla compleja. El hecho de haber seleccionado el cruzamiento HAB sobre el AB, no implicó que en los experimentos de rutina se eliminara al cruzamiento E, ya que es posible encontrar en la mezcla compleja algunos componentes de acción directa, que pudieran ser rápidamente degradados o excretados, dando resultados falsos

negativos en el HAB, mientras que en el E estos compuestos se podrían detectar más fácilmente porque el nivel de la actividad metabólica de compuestos xenobióticos es menor, además, los agentes de acción directa han demostrado ser igualmente efectivos en ambas cruzas y al comparar los resultados de la E con los de la HAB se notaría en qué medida los efectos podrían deberse a agentes indirectos o directos.

Muestras evaluadas

Para obtenerlas en este trabajo se hicieron extracciones de filtros del 27 de julio y 2 de agosto de 1991, de las estaciones que SEDESOL tiene ubicadas en la zona de la Merced y del Pedregal de San Angel, tanto para PST (partículas suspendidas totales) como para PM10 (partículas cuyo diámetro aerodinámico es igual o menor a 10 μm), esto con el objeto de comparar los aportes mutagénicos y tratar de correlacionar los resultados obtenidos con los compuestos presentes en la mezcla.

En el diseño que se empleó se eliminó el DMSO como disolvente, por lo que el metanol, con el que se realizó la extracción de la mezcla, se evaporó a sequedad total y se resuspendió con etanol; para los tratamientos se diluyó el etanol conteniendo el extracto al 1% y para lograr una suspensión lo más homogénea posible se empleó Tween 80 al 3%; las condiciones que permitieron la evaluación de las muestras fueron las siguientes:

Disolventes:	Etanol 3% + Tween 80 3%
Edad de las larvas al tratamiento:	72 h
Duración del tratamiento:	48 h
Cruzas empleadas:	E, HAB

Concentración de la muestra

Las unidades generadas para la concentración a la que se probaron los extractos en la prueba SMART se dan en equivalencia de m^3 muestreados $\times ml^{-1}$, de esta forma, si se multiplica por la cantidad de partículas colectadas en cada caso (Tabla IV), se obtiene el número de éstas por mililitro a las cuales estaba asociada la mezcla evaluada. Sin embargo, dado que se está trabajando con extractos que contienen la fracción orgánica presente en este material particulado, los datos se dan en forma de cantidad equivalente al número de metros cúbicos muestreados por unidad de la solución a evaluar.

Según las consideraciones anteriores, se emplearon dos concentraciones para cada uno de los extractos obtenidos con metanol: 2.44 y 9.76 $m^3 \times ml^{-1}$, en el caso de *Drosophila*, mientras que en el caso de *Salmonella* correspondió a 67.9 $m^3 \times ml^{-1}$.

RESULTADOS

Se analizaron muestras de PST y PM10 de la Merced y del Pedregal de San Angel, correspondientes a 27 de julio (270791) y 2 de agosto de 1991 (020891), mediante cromatografía de gases y dos bioensayos, la prueba de Ames con la cepa TA98 de *Salmonella typhimurium* con y sin activación metabólica (S9) y el sistema SMART en células de las alas de *Drosophila melanogaster*, en dos cruces, una con actividad metabólica normal y la otra con alta bioactivación. Únicamente en los experimentos con *Drosophila* se estudiaron dos concentraciones, las cuales son equivalentes a 2.44 m³/ml y 9.76 m³/ml.

Estimación de la masa de partículas por filtro (Tabla IV)

Para ambas estaciones y fechas, la masa de PST fue mayor que la de PM10 (Fig. 5), la mayor cantidad de aeropartículas se colectó el 020891, además en ambas ocasiones, se presentaron en la Merced índices más elevados de estos contaminantes que en el Pedregal de San Angel.

Análisis químico

Se comprobó la existencia de HAP en la mezcla de las ocho muestras estudiadas, los resultados se dan en las tablas V y VI. El fluoranteno y el criseno son los compuestos que están contenidos en la mayor parte de los extractos, ya que de los ocho se observaron en cuatro.

Para constatar la existencia de derivados nitrogenados en las mezclas analizadas, se empleó el detector de nitrógeno-fósforo, en los resultados de la tabla VII, se notó que la muestra con mayor cantidad de nitroderivados es la de PST Merced del 2 de agosto, de los compuestos estándar, sólo el 1,8-dinitronaftaleno apareció en los cuatro extractos revisados, el 2,7-dinitrofluoreno y 6-nitrobenzo(a)pireno en tres, 1,5-dinitronaftaleno y 1-nitropireno en una, mientras que 1,3-dinitronaftaleno, 2,7-dinitro,9-fluorenona y 6-nitrocriseno en ninguna.

Efectos genotóxicos

Salmonella typhimurium TA98

Los resultados se presentan en la tabla VIII y figuras 6 y 7.

En todos los casos, excepto en Pedregal 020891 para PM10, se obtuvieron valores superiores cuando se agregó la fracción S9.

Cuando no se añadió la mezcla S9 a PST (Fig. 6), de las cuatro muestras la única que dió respuesta mutagénica (con $P < 0.05$) fue M020891, en lo que respecta a PM10 sin S9, el orden de actividad fue el siguiente: M020891 > M270791 > P020891 > P270791, siendo este último negativo, los tres restantes fueron positivos ($P < 0.05$). En la figura 6 se observa que los extractos de PM10 provenientes de la Merced tuvieron más efecto mutagénico en ambas fechas que los del Pedregal, siendo además el 020891 el de mayor mutagenicidad, tanto para PST como para PM10.

El análisis de los resultados de PST y PM10 con S9 se presenta en la figura 7, con PST en el siguiente orden P270791 >

M020891 > P020891 > M270791, estos así como los de PM10, fueron significativos con $P < 0.01$, cuando se probaron las partículas menores a 10 μm de diámetro el comportamiento observado fue: M270791 > M020891 > P270791 > P020891. De este último grupo de tratamientos se notó que PM10 de la Merced fue más mutagénico para ambas fechas que las partículas colectadas en el Pedregal, sin embargo, en esta última estación, PST fue más genotóxico que PM10 mientras que en la Merced el comportamiento se invirtió, es decir, PM10 fue mayor que PST.

Drosophila melanogaster

Para evaluar el efecto de las muestras y evitar problemas producidos por los disolventes en la interpretación de los resultados, se trabajó de manera que la concentración de etanol quedara siempre al tres por ciento de la solución a probar, la primera serie de experimentos se realizó tomando de la alícuota el volumen requerido para que el etanol, conteniendo la fracción orgánica, estuviera a la concentración indicada, por otro lado, debido a que no se conocen de manera cualitativa ni cuantitativa las sustancias presentes en los extractos, no fue posible emplear unidades de exposición en términos de concentración, cantidad de soluto por unidad de solvente, por lo que únicamente se pudo calcular el equivalente de aire muestreado por unidad (ml) de la solución a probar como se indica en la sección de material y métodos. En los primeros ensayos se usó una concentración

equivalente a $2.44 \text{ m}^3/\text{ml}$. Los resultados obtenidos para la cruz E aparecen en la tabla IX y para la HAB en la X, el análisis de los datos se basó en la frecuencia de manchas totales por ala, ya que este parámetro involucra todo el universo de eventos que se pueden detectar, sin embargo, es evidente que la aportación mayor al total de manchas se debe a las sencillas chicas, como se puede apreciar en las tablas IX y X. En los análisis a $2.44 \text{ m}^3/\text{ml}$ hay varios tratamientos en los que no fue posible decidir si la respuesta era positiva o negativa, por lo que se procedió a realizar una nueva serie en donde la concentración de la fracción orgánica presente en la muestra fuera equivalente a $9.76 \text{ m}^3/\text{ml}$, sin alterar las condiciones establecidas inicialmente para el etanol. Dado que en esta ocasión algunos de los datos se definieron hacia positivo o negativo, se decidió trabajar con esta segunda serie para comparar los resultados con los obtenidos con *Salmonella*, para lo cual se empleó la frecuencia de manchas mwh inducidas por 10^5 células, corregida con la frecuencia del testigo, este criterio permitió que las comparaciones entre los diferentes experimentos estuvieran justificadas ya que se está eliminando la frecuencia espontánea propia de cada caso (últimas dos columnas de la tabla IX y X).

En la figura 8 se graficaron los resultados de las pruebas con PST y PM10 con la cruz E, el comportamiento que presentaron ambos tipos de muestreo es muy similar al que se observa en la figura 5. Con PST el orden de respuesta es $M020891 > P020891 > M270791 = P270791$, con PM10 el comportamiento fue el mismo, salvo

que en los dos últimos casos M270791 está ligeramente aumentada con respecto a P270791. En tres de los cuatro puntos graficados (sitios y fechas de muestreo) se hace evidente que PM10 es más activo, siendo M020891 el único en el que PST fue mayor que PM10.

De la cruce heterocigótica de alta bioactivación (Fig. 9) con PST y PM10 se notó también que en tres de los cuatro casos PM10 fue más efectivo que PST, siendo la excepción P270791, en donde la respuesta con PST fue mucho más alta que con PM10, inclusive fue el incremento mas alto con PST para esta cruce, seguido de M020891 > P020891 > M270791, en la tabla X se notó que P270791 es el único caso de todo el universo de tratamientos en que las manchas simples grandes fueron positivas. El comportamiento observado con PM10 vuelve a ser similar al de la densidad de partículas colectadas por metro cúbico de aire muestreado (Fig. 5), siendo en orden decreciente de actividad M020891 > M270791 > P020891 > P270791.

DISCUSION

Se demostró, por los análisis de cromatografía de gases, la existencia de HAP en todas las muestras estudiadas, sin embargo, sería equivocado suponer que la actividad mutagénica observada fue producida únicamente por estos compuestos, pues se debe considerar que el disolvente elegido para la extracción de las sustancias orgánicas, aunque separa con mucha eficiencia a los HAP presentes en las mezclas estándar (Jungers y Lewtas 1980), no es del todo selectivo para la fracción no polar en la que se encontrarían los HAP. Esto implica que en la mezcla también es factible hallar hidrocarburos de cadena lineal y sales inorgánicas, estas posiblemente están interactuando con los compuestos orgánicos formando complejos metálicos (May et al. 1992). Aún más, se debe considerar que pueden encontrarse cientos de sustancias orgánicas que tienen acción muy diversa sobre los organismos (Finlayson-Pitts y Pitts 1986), lo que reflejaría posibles efectos debidos tanto a la acción directa como a la indirecta. A pesar de esto es posible mencionar dos casos de coincidencia entre los dos bioensayos manejados y el análisis químico. El primero de ellos es el extracto de PST M020891, con el cual se obtuvo el mayor incremento en la respuesta a PST cuando no se añadió la fracción S9 en *Salmonella* (Fig. 6) y con la cruza E en *Drosophila melanogaster* (Fig. 8). En éste se encontró la cantidad más elevada de especies de Nitro-HAP y diversos autores han descrito que los derivados nitrogenados de hidrocarburos policíclicos se comportan

como mutágenos directos (Rosenkranz 1982, Gibson 1983, Ortiz-Marttelo 1993), por lo que estos pueden haber contribuido al efecto observado en ambos organismos. Como se recordará hubo respuesta con *Salmonella* aún cuando no se empleó la mezcla S9, mientras que en *Drosophila melanogaster* se obtuvieron, con esta misma muestra, comportamientos muy similares al aplicarla a la cruza E y HAB, implicando en ambos casos la existencia de actividad genotóxica de tipo directo. El segundo también corresponde a PST, pero en esta ocasión al Pedregal de San Angel 270791. Aunque fue el punto en el que tanto para PM10 como para PST se colectaró la menor cantidad de partículas, en los estudios de cromatografía se detectó un pico que aproximadamente corresponde al tiempo de retención del acenafteno (Fig. 10) en alta concentración. Sin embargo, se supone que no se trata de ésta sustancia debido a que aquélse trata de un HAP de bajo peso molecular que se encuentra casi totalmente en la fase gaseosa de los aerosoles y no es común hallarlo en la fase particulada (Salomaa et al. 1988). Además el coleo del pico no corresponde al comportamiento típico de un HAP, que normalmente tiene perfiles más simétricos. Lo que sí se puede esperar es que al ser observado con el detector de ionización de llama, se trate de algún otro compuesto orgánico. Es interesante resaltar que los resultados obtenidos con los bioensayos coinciden en los casos en los que se trabaja con la fracción S9 en *Salmonella* y con la cruza HAB en *Drosophila* (Fig. 7 y 9). En los dos sistemas ésta muestra indujo mayor cantidad de mutaciones cuando se trabajó con PST y como se

mencionó anteriormente, en ambos la actividad metabólica está jugando un papel importante, lo que implica que el efecto se debe a la acción de mutágenos indirectos o promutágenos.

Se observa que el único caso en el que el comportamiento de los resultados con *Salmonella* corresponde a la cantidad de material particulado, fue cuando se analizaron los extractos de PM10 sin añadir la fracción microsómica S9 (Fig. 5 y 6), mientras que con *Drosophila melanogaster* se encuentra que a mayor cantidad de partículas, la actividad genotóxica que está siendo detectada también aumenta, el único caso que no coincide, es el de PST con la cruz H4B (Fig. 9), a pesar de lo cual, se aprecia que los datos de estas dos pruebas son también similares entre sí (Fig. 6 a 9), lo que sugiere que con ambos organismos se están detectando mutágenos en la mezcla compleja asociada a las aeropartículas. Las diferencias que se evidencian, seguramente se deben a las características intrínsecas de cada sistema, resaltando el hecho de que el análisis con *Salmonella* implica actividad metabólica *in vitro*, mientras que en SMART sucede *in vivo* y por otro lado, los compuestos administrados a *Drosophila* están penetrando hasta las células blanco a través de las membranas del aparato digestivo. Es importante mencionar que en estudios anteriores se ha demostrado que la respuesta de *Salmonella* con S9 a mezclas de HAP es afectada por la interacción irreversible de algunas moléculas con factores nucleofílicos que integran al complejo microsómico P-450 (Dehnen et al. 1977, Talcott y Wei 1977, Haugen y Peak 1983, Takeda et al. 1984), mientras que, *in vivo* estas uniones posiblemente se rompan

y la degradación o activación de las sustancias xenobióticas se lleve a cabo de manera más eficiente (Crebelli et al. 1988). En este sentido, es posible que los resultados obtenidos de la prueba SMART reflejen en forma más real la capacidad de estas mezclas para producir dano genético. Además se debe considerar que la presencia de derivados nitrogenados, aún en trazas, tal vez contribuya a la acción genotóxica detectada por *Salmonella*, debido a la extraordinaria actividad de las nitrorreductasas bacterianas (Mermelstein et al. 1981). Todos estos aspectos pueden explicar las diferencias observadas entre las pruebas con *salmonella* y SMART, en el caso de este estudio y en otros trabajos anteriores en los que se usaron células animales *in vivo*, *in vitro* e inclusive fluidos corporales de animales expuestos a extractos de compuestos asociados a las aeropartículas (Alink et al. 1983, Krishna et al. 1984, Hadnagy et al. 1986, Motykiewicz et al. 1988, Salomaa et al. 1988). En el caso de *Drosophila melanogaster*, los cambios observados en las frecuencias de clones inducidos por cada 100,000 células entre la cruza E y la HAB dejan implícita la necesidad de emplear ambos tipos de cruzamientos, lo cual permite discernir en cuanto el efecto mutagénico está más o menos determinado por la presencia de sustancias que requieren ser bioactivadas, aunque el hecho de que en la cruza E exista cierto nivel de actividad metabólica hace que las discrepancias con los resultados obtenidos de la bacteria sean en cierta forma más evidentes.

En los días y fechas de muestreo, tanto la cantidad de

material particulado colectado como la mutagenicidad fueron más elevados el 2 de agosto con respecto al 27 de julio para ambas estaciones.

Aparentemente los compuestos orgánicos asociados a las partículas que constituyen la fracción respirable ($< 10 \mu\text{m}$) son en general más activos desde el punto de vista genético que los obtenidos de muestreos de PST, aún cuando la cantidad de material particulado que se colectó en estos últimos sea mayor. Este incremento en la mutagenicidad de PM10 con respecto a PST coincide con lo descrito por Commoner et al. (1978) en que aparentemente los mutágenos más activos se asocian a partículas más pequeñas, ya que se generan principalmente de fuentes antropogénicas, por lo que tienden a formar núcleos pequeños por condensación de vapor o bien a ser adsorbidos por partículas preexistentes en el ambiente, llevándose a cabo los mecanismos propuestos por Pistikopoulos et al. (1990) en los que el parámetro esencial que determina que los HAP, que constituyen la fase gaseosa, se unan al material particulado, es la volatilidad de los mismos, por lo que los HAP más ligeros se asocian a partículas mayores de las que forman parte aquellos menos volátiles. Este hecho aunado a la relación que existe entre el volumen y la superficie de las partículas, facilita la dilución de los compuestos que están asociados al extracto de PM10 con relación al de PST, en otras palabras, en los muestreadores de grandes volúmenes de tipo PST se captura mayor cantidad de material generado por erosión y otros factores no antropogénicos, sin embargo, permanecen en la atmósfera aquellas

partículas más pequeñas y que son más difíciles de remover, a las que se encuentran asociados gran cantidad de HAP, mientras que en los muestreadores de PM10 se colectan más partículas de menor tamaño, cuyos compuestos asociados al ser extraídos se obtienen en mayor concentración que en los de PST.

En las áreas estudiadas la actividad genotóxica de la fracción orgánica coincide con el hecho de que en el centro del área metropolitana es grave la contaminación por aeropartículas en comparación con la zona suroeste, lo que concuerda con los datos de mutagenicidad en estos mismos sitios en la temporada de secas de Villalobos-Pietrini et al. (en preparación).

CONCLUSIONES

Los resultados generados de este trabajo demuestran que la prueba de mutación y recombinación somáticas en las células de las alas de *Drosophila melanogaster* es tan sensible como la de Ames, a los compuestos existentes en extractos metanólicos de aeropartículas PST y PM10 asimismo respalda los hallazgos logrados con otros bioensayos, además con la ventaja de que responde a concentraciones más bajas que las requeridas en los experimentos con *Salmonella*, aun más, al utilizar estos bioensayos se cubre al mismo tiempo un amplio espectro de eventos genéticos y se abarcan dos organismos con características distintas entre sí.

El efecto mutagénico producido por los extractos obtenidos con metanol se debe a la presencia de compuestos de acción tanto directa como indirecta sobre el ADN. Estos últimos causan el principal incremento en el sistema de Ames, cuando se añade la mezcla S9 y en *Drosophila*, al emplearse la cruzada HAB, de igual manera se evidencia mayor actividad mutagénica en casi todos los muestreos de PM10 con respecto a los de PST. Al comparar la respuesta de *Salmonella* con la lograda en *Drosophila*, mediante la prueba de rangos de Spearman se encontró correlación positiva ($P < 0.01$), lo cual, permite concluir que SMART analizando las células de las alas de *Drosophila melanogaster*, es sensible a los compuestos que forman parte de la fracción orgánica asociada a las aeropartículas, tanto de tipo PM10 como a las suspendidas totales, esto aunado a las ventajas que implica el que sea un organismo

eucarionte en el que los estudios se llevan a cabo *in vivo*, cuyo manejo y mantenimiento en el laboratorio es fácil y de gran accesibilidad y la posibilidad de tener almacenado el material original para análisis posteriores hace de este sistema un buen candidato para ser empleado como monitor biológico en trabajos de este tipo, en combinación con *Salmonella typhimurium*.

En el ambiente urbano hay constantemente cierto nivel de mutagenicidad (Hughes et al. 1980), por lo que, se requiere de estudios similares como un método de advertencia de riesgo genético mediante el cual es posible detectar de alguna manera cambios bruscos e incrementos en la reactividad del medio, ya sean debidos a accidentes o producidos por desechos tóxicos no controlados.

REFERENCIAS

- Alink G.M., Smit H.A., Houdt J.J. van, Kolkman J.R. y Boleij J.S.M. (1983). Mutagenic activity of airborne particulates at non-industrial locations. *Mutat. Res.* 116, 21-34.
- Ames B.N., McCann J. y Yamasaki E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* 31, 347-364.
- Ames B.N. (1979). Identifying environmental chemicals causing mutation and cancer. *Science* 204, 587-593.
- Arcos J.C. y Argus M.F. (1974). Chemical induction of cancer: structural bases and biological mechanisms. Polynuclear compounds. Academic Press, Nueva York, Vol.IIA, 387 p.
- Arey J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A.M., Ramdahl T. y Pitts J.N. (1986). The formation of nitro-PAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO_x. *Atmos. Environ.* 20, 2339-2345.
- Arey J., Zielinska B., Atkinson R. y Winer A.M. (1987). Polycyclic aromatic hydrocarbon and nitroarene concentrations in ambiente air during a wintertime high-NO_x episode in the Los Angeles basin. *Atmos. Environ.* 21, 1437-1444.
- Arey J., Zielinska B., Atkinson R. y Aschmann S.M. (1989). Nitroarene products from the gas-phase reactions of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons with the OH radical and N₂O₅. *Int. J. Chem. Kinet.* 21, 775-799.
- Arey J., Atkinson R., Aschmann S.M. y Scheuetzle D. (1990). Experimental investigation of the atmospheric chemistry of 2-methyl-1-nitronaphthalene and a comparison of predicted nitroarene concentrations with ambient air data. *Polycyclic Aromatic Compounds* 1, 33-50.
- Atkinson R., Arey J., Zielinska B. y Aschmann S.M. (1990). Kinetics and nitro-products of the gas-phase OH and NO₃ radical-initiated reactions of naphthalene-d₈, fluoranthene-d₁₀ and pyrene. *Int. J. Chem. Kinet.* 22, 999-1014.
- Bowes III S.M. y Swift D.L. (1989). Deposition of inhaled particles in the oral airway during oronasal breathing. *Aerosol Sci. Technol.* 11, 157-167.
- Breyse P.N. y Swift D.L. (1990). Inhalability of large particles into the human nasal passage: *in vivo* studies in still air. *Aerosol Sci. Technol.* 13, 459-464.

- Brusick D. (1988). Evolution of testing strategies for genetic toxicity. *Mutat. Res.* 205, 69-78.
- CGRUPE (Coordinación General de Reordenación Urbana y Protección Ecológica) (1991). Reporte mensual sobre la calidad del aire en la Ciudad de México (Septiembre). México, D.F., 24 p.
- Crisp C.E. y Fisher G.L. (1980). Mutagenicity of airborne particulates. *Mutat. Res.* 76, 143-164.
- Commoner B., Vithayathil A.J. y Dolara P. (1978). Mutagenic analysis of complex samples of aqueous effluents, air particulates and foods. En: Application of short-term bioassays in the fractionation and analysis of complex environmental mixtures. (M.D. Waters, S. Nesnow, J.L. Huisinigh, S.S. Sandhu y L. Claxton, Eds.), Plenum, Nueva York pp. 530-570.
- Crebelli R., Fuselli S., Meneguz A., Aquilina G., Conti L., Leopardi P., Zijno A. y Baris F. (1988). *In vitro* and *in vivo* mutagenicity studies with airborne particulate extracts. *Mutat. Res.* 204, 565-575.
- Crittenden B.D. y Long R. (1976). The mechanisms of formation of polynuclear aromatic compounds in combustion systems. En: Carcinogenesis: A comprehensive survey. Polynuclear aromatic hydrocarbons: Chemistry, Metabolism and Carcinogenesis. (M.A. Freudenthal y P.W. Jones, Eds.), Raven, Nueva York, Vol. 1, pp, 209-223.
- Dehnen W., Pitz N. y Tomingas R. (1977). The mutagenicity of airborne particulate pollutants. *Cancer Lett.* 4, 5-12.
- Delgado-Rodríguez A. (1990). Dano genético inducido por mutágenos positivos en células del ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, Mexico, D.F., 75p.
- Delgado-Rodríguez A., Ortiz-Marttelo R. y Villalobos-Pietrini R. Carageenans as an alternative to agar for the culture media of *Drosophila melanogaster*. (En preparación).
- Dipple A., Moschel R.C. y Bigger C.A.H. (1984). Polynuclear aromatic carcinogens. En: Chemical carcinogens (C.E. Searle, Ed.). Vol. 1, 2da edn., American Chemical Society. Monograph 182, Washington DC, pp. 41-163.
- Durston W. y Ames B.N. (1974). A simple method for the detection of mutagens in urine: studies with the carcinogen 2-acetylaminofluorene. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 71, 737-741.
- Esmen N. y Corn M. (1971). Residence time of particulates in urban air. *Atmos. Environ.* 5, 571-578.

- Finlayson-Pitts B.J. y Pitts J.N. (1986). Chemistry and mutagenic activity of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. En: Atmospheric Chemistry: Fundamental and Experimental Techniques. (J. Wiley, Ed.). Nueva York, 870 p.
- Frei H. y Würgler F.E.(1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutat. Res.* 203, 297-308.
- Frölich A. y Würgler F.E.(1989). New tester strains with improved bioactivation capacity for the *Drosophila* wing-spot test. *Mutat. Res.* 216, 179-187.
- Frölich A. y Würgler F.E.(1990). *Drosophila* wing-spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat. Res.* 234, 71-80.
- Garcia-Bellido A. y Merriam J.R.(1971). Parameters of the wing imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 24, 61-87.
- Garcia-Bellido A. y Dapena J.(1974). Induction, detection and characterization of cell differentiation mutants in *Drosophila*. *Mol. Gen. Genet.* 128, 117-130.
- Gibson T.L. (1983) Sources of direct-acting nitroarene mutagens in airborne particulate matter. *Mutat. Res.* 122, 115-121.
- Graf U., Juon H., Katz A.J., Frei H.J. y Würgler F.E. (1983). A pilot study on a new *Drosophila* spot test. *Mutat. Res.* 120, 233-239.
- Graf U., Würgler F.E., Katz A.J., Frei H.J., Juon H., Hall C.B. y Kale P.G.(1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 6, 153-188.
- Graf U. y Singer D. (1989). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* (wing spot test): effects of extracts of airborne particulate matter from fire-exposed and non fire-exposed building ventilation filters. *Chemosphere* 19, 1094-1097.
- Graf U. y van Schaik N. (1991). Improved "high bioactivation" cross for the SMART wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 271, 59-67.
- Hadnagy W., Seemayer N.H., y Tomingas R. (1986). Cytogenetic effects of airborne particulate matter in human lymphocytes in vitro. *Mutat. Res.* 175, 97-101.

- Hageman G., Kikken R., Ten Hoor F. y Kleinjans J. (1988). Assessment of mutagenic activity of repeatedly used deep-frying fats. *Mutat. Res.* 204, 593-604
- Hällström I. (1987). Genetic variation in cytochrome P-450 dependent dimethylation in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Pharmacol.* 36, 2279-2282.
- Haugen D.A. y Peak M.J. (1983). Mixtures of polycyclic aromatic compounds inhibit mutagenesis in the *Salmonella*/microsome assay by inhibition of metabolic activation. *Mutat. Res.* 116, 257-269.
- Hileman B. (1981). Particulate matter: the inhalable variety. *ES&T* 15, 983-986.
- Hughes T.J., Pellizzari E., Little L. Sparacino C. y Kolber A. (1980). Ambient air pollutants: collection, chemical characterization and mutagenicity testing. *Mutat. Res.* 76, 51-83.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1983). Polynuclear aromatic compounds. Parte 1, Chemical, environmental and experimental data. IARC monograph on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 32, 447 p.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1987). Overall evaluation of carcinogenicity. Evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7, An updating of IARC monographs. Vol. 1-42, 440 p.
- Jungers R.H. y Lewtas J. (1980). Airborne particle collection and extraction methods applicable to genetic bioassays. En: Genotoxic Effects of Airborne Agents. (R.R.Tice, D.Costa y K. Schaich Eds.). Plenum Press, Nueva York, pp. 35-47.
- Kier L.D., Yamasaki E. y Ames B.N. (1974). Detection of mutagenic activity in cigarette smoke condensates. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 71, 4159-4163.
- Kilbey B. (1978). Mutagenicity screening: general principles and minimal criteria. *Mutat. Res.* 53, 361-367.
- Klapwijk P.M., Vogel E.W. y Zijlstra J.A. (1984). Metabolic activation of selected aromatic amines and polycyclic hydrocarbons by isolated subcellular fractions of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 125, 229-241.
- Krewski D., Leroux B.G., Creason J. y Claxton L. (1992). Sources of variation in the mutagenic potency of complex chemical mixtures based on the *Salmonella*/microsome assay. *Mutat. Res.* 276, 33-59.

- Krishna G., Nath J. y Ong T. (1984). Correlative genotoxicity studies of airborne particles in *Salmonella typhimurium* and cultured human lymphocytes. Environ. Mutagen. 6, 585-592.
- Lee W.R., Abrahamson S., Valencia R., Halle E.S. von, Wurgler F.E. y Zimmering S. (1983). The sex-linked recessive lethal test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. Gen-Tox report. Mutat. Res. 123, 183-279.
- Lindsley D.L. y Grell E.H. (1968). Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution, Publ. No. 627, Washington DC.
- Lindsley D.L. y Zimm G. (1985). The genome of *Drosophila melanogaster*. Part I: genes A-K. D.I.S. 62, 1-277.
- Magnusson J. y Ramel C. (1990). Inhibitor of poly(ADP-ribose)transferase potentiates the recombinogenic but not the mutagenic action of alkylating agents in somatic cells *in vivo* in *Drosophila melanogaster*. Mutagenesis 5, 511-514.
- Maron D.M. y Ames B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat. Res. 113, 173-215.
- May W.E., Benner Jr. B.A., Wise S.A., Schuetzle D. y Lewtas J. (1992). Standard reference materials for chemical and biological studies of complex environmental samples. Mutat. Res. 276, 11-22.
- McCann J., Choi E., Yamasaki E. y Ames B.N. (1975). Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 72, 5135-5139.
- McCann J. y Ames B.N. (1976). Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. Part II. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 73, 950-954.
- McCann J., Gold L.S., Horn L., McGill R., Graedel T.E y Kaldor J. (1988). Statistical analysis of *Salmonella* test data and comparison of results of animal cancer tests. Mutat. Res. 205, 183-195.
- Mermelstein R., Kiriazides D.K., Butler M., McCoy E.C. y Rosenkranz H.S. (1981). The extraordinary mutagenicity of nitropyrenes in bacteria. Mutat. Res. 89, 187-196.
- Motykiewicz G., Michalska J., Szeliga J. y Cimander B. (1988). Mutagenic and clastogenic activity of direct-acting components from air pollutants of the Silesian industrial region. Mutat. Res. 204, 289-296.
- Ortiz-Marttelo R. (1993). Actividad mutagénica de algunos hidrocarburos aromaticos policiclicos y sus nitroderivados,

- evaluada mediante la prueba de mutación y recombinación somáticas (SMART) en el ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F., 65 p.
- Piegorsch W.W. y Hoel D.G. (1988). Exploring relationships between mutagenic and carcinogenic potency. *Mutat. Res.* 196, 161-175.
- Pistikopoulos P., Wortham H.M., Gomes L., Masclet-Beyne S., Bon Nguyen E., Masclet P.A. y Mouvier G. (1990). Mechanisms of formation of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in relation to the particle size distribution; effects on meso-scale transport. *Atmos. Environ.* 10, 2573-2584.
- Pitts J.N. Jr. (1987). Nitration of gaseous polycyclic aromatic hydrocarbons in simulated and ambient urban atmospheres: a source of mutagenic nitroarenes. *Atmos. Environ.* 21, 2531-2547.
- Richard A.M. y Woo Y.T. (1990). A CASE-SAR analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon carcinogenicity. *Mutat. Res.* 242, 285-303.
- Rosenkrans H.S. (1982). Direct-acting mutagens in diesel exhaust: magnitude of the problem. *Mutat. Res.* 101, 1-10.
- Salomaa S., Tuominen J. y Skyttä E. (1988). Genotoxicity and PAC analysis of particulate and vapour phases of environmental tobacco smoke. *Mutat. Res.* 204, 173-183.
- Shelby P.B. y Olson W.H. (1981). Methods and criteria for deciding whether specific-locus mutation-rate data in mice indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutat. Res.* 83, 403-418.
- Takeda N., Teranishi K. y Hamada K. (1984). Mutagenicity of air pollutants collected at industrial, urban-residential and rural areas. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 32, 688-692.
- Talkott R. y Wei E. (1977). Airborne mutagens bioassayed in *Salmonella typhimurium*. *J. Natl. Cancer Inst.* 58, 449-451.
- Tokiwa H. y Ohnishi Y. (1986). Mutagenicity and carcinogenicity of nitroarenes and their sources in the environment. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 17, 23-60.
- Van Houdt J.J., Alink G.M. y Boleij J.S.M. (1987). Mutagenicity of airborne particles related to meteorological and air pollution parameters. *Sci. Total Environ.* 61, 23-36.
- Villalobos-Pietrini R., Blanco S. y Gómez-Arroyo S. Mutagenicity assessment of airborne particles in Mexico City. (En preparación).
- Vogel E.W., Frei H., Fujikawa K., Graf U., Kondo S., Ryo H. y Würgler F.E. (1985). Summary report on the performance of the

- Drosophila* assays. En: Collaborative study of short-term tests for carcinogens. Progress in Mutation Research (J.Ashby, F.J. de Serres, M. Draper y M. Ishidate, Eds.). Elsevier/North Holland, Amsterdam, Vol. 5, pp. 47-57.
- Waters M., Nesnow S., Huisingh J., Sandhu S. y Claxton L. (1978). Application of short-term bioassays in fractionation and analysis of complex environmental mixture. EPA 600/9-78-027, 587 p.
- Woo Y.T. y Arcos J.C. (1981). Environmental chemicals. En: Carcinogens in Industry and the Environment (J.M. Sontag, Ed.). Marcel Dekker, Nueva York, pp. 167-281.
- Würgler F.E., Sobels F.H. y Vogel E. (1984). *Drosophila* as an assay system for detecting genetic changes. En: Handbook of mutagenicity test procedures (B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols y C. Ramel, Eds.). 2da. Ed. Elsevier/North Holland, Amsterdam, pp. 555-601.
- Würgler F.E., Graf U. y Frei H. (1985). Somatic mutation and recombination test in wings of *Drosophila melanogaster*. En: Progress in Mutation Research (F.J. de Serres, Ed.). Amsterdam, Elsevier, Vol. 5, pp. 325-340.
- Würgler F.E. y Vogel E.W. (1986). *In vivo* mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*. En: Chemical Mutagens. Principles and Methods for their Detection (F.J. de Serres, Ed.). Plenum Press, Nueva York, Vol. 10, pp. 1-72.
- Yang S.K. y Silverman B.D. (Eds.) (1988). Polycyclic aromatic hydrocarbon carcinogenesis: structure-activity relationships. CRC Press, Boca Raton, Fl., Vol. I, 213 p. y Vol. II, 210 p.
- Zielinska B., Arey J., Atkinson R. y Winer A.M. (1989a). The nitroarenes of molecular weight 247 in ambient particulate samples collected in southern California. Atmos. Environ. 23, 223-229.
- Zielinska B., Arey J., Atkinson R. y McElroy P.A. (1989b). Formation of methylnitronaphthalenes from the gas-phase reactions of 1- and 2-methylnaphthalene with OH radicals and N₂O₅ and their occurrence in ambient air. Environ. Sci. Technol. 23, 723-729.

TABLA I. ESTACIONES DE SEDESOL (ANTES SEDUE) QUE FORMAN PARTE DE LA RED DE CALIDAD DEL AIRE EN LA ZONA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE MEXICO

No.* Estación	No. Estación
1. Lagunilla	14. Pedregal
2. Vallejo	15. Cerro de la Estrella
3. Santa Ursula	16. Plateros
4. Tacuba	17. Hangares
5. ENEP Acatlán	18. UAM Iztapalapa
6. Los Laureles	19. Aragón
7. La Presa	20. Nezahualcoyotl
8. La Villá	21. Instituto Mexicano del Petróleo
9. San Agustín	22. Bonito Juárez
10. Azcapotzalco	23. Taxquena
11. Tlalnepantla	24. Insurgentes
12. Xalostoc	25. Cuitlahuac
13. Merced	

* Ubicación de las estaciones en la Fig. 1.

TABLA II. HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS INCLUIDOS EN EL ESTANDAR EXTERNO EN EL ANALISIS DE CROMATOGRAFIA DE GASES

COMPUESTO	FORMULA MOLECULAR	PESO MOLECULAR	PUNTO DE EBULLICION (°C)
ACENAFTENO	C ₁₂ H ₁₀	154.21	279
FLUORENO	C ₁₃ H ₁₀	166	293
FENANTRENO	C ₁₄ H ₁₀	178	338.4
ANTRACENO	C ₁₄ H ₁₀	178	340
FLUORANTENO	C ₁₆ H ₁₀	202	383.5
PIRENO	C ₁₆ H ₁₀	202	393.5
CRISENO	C ₁₈ H ₁₂	228	441
BENZO(A) ANTRACENO	C ₁₈ H ₁₂	228	437.5
BENZO(B) FLUORANTENO	C ₂₀ H ₁₂	252	481.2
BENZO(K) FLUORANTENO	C ₂₀ H ₁₂	252	481
BENZO(A) PIRENO	C ₂₀ H ₁₂	252	495.5

TABLA III. RESULTADOS OBTENIDOS AL EXPONER LARVAS DE *Drosophila melanogaster* DE 72 h A LA FRACCION ORGANICA ASOCIADA A LAS AEROPARTICULAS DURANTE 48 h

TRATAMIENTO CRUZA*	ALAS	MANCHAS SIMPLES CHICAS m=2			MANCHAS SIMPLES GRANDES m=5			MANCHAS DOBLES m=2		
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
TESTIGO (DMSO 0.5% + TWEEN 80 1%)										
E	98	21	0.21		0	0.00		0	0.00	
HAB	144	34	0.24		12	0.08		2	0.01	
AB	38	10	0.26		3	0.08		0	0.00	
MUESTRA I										
E	50	13	0.26	-	0	0.00	-	0	0.00	-
HAB	50	25	0.50	+	12	0.24	+	0	0.00	-
AB	40	10	0.25	-	4	0.10	-	0	0.00	-
MUESTRA II										
E	80	15	0.19	-	3	0.04	d	2	0.03	d
HAB	40	8	0.20	-	3	0.08	-	1	0.03	d
AB		E L E V A D A T O X I C I D A D								

EL ANALISIS ESTADISTICO SE REALIZO CON LA PRUEBA DE χ^2 DE PROPORCIONES (P<0.05).

* E=ESTANDAR, HAB=HETEROCIGOTICA DE ALTA BIOACTIVACION, AB=ALTA BIOACTIVACION.

No.=NUMERO DE MANCHAS; Fr.=FRECUENCIA; D.=DECISION ESTADISTICA; + = POSITIVO; - = NEGATIVO; w = DEBIL POSITIVO; d = DUDOSO. m = FACTOR DE MULTIPLICACION

TABLA IV. MASA DE PARTICULAS COLECTADAS EN LOS MUESTREOS REALIZADOS EN LA MERCED Y EL PEDREGAL DE SAN ANGEL EL 27 DE JULIO Y EL 2 DE AGOSTO DE 1991

SITIO DE MUESTREO	FECHA	CONCENTRACION ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	
		PST	PM10
Merced	270791	132.0	73.0
Merced	020891	230.0	100.0
Pedregal	270791	83.0	49.0
Pedregal	020891	130.0	71.6

TABLA V. HAP ANALIZADOS EN MUESTRAS DE AIRE ASOCIADOS A PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES (PST)

COMPUESTO	SITIO Y FECHA DE MUESTREO			
	M270791	H020891	P270791	P020891
ACENAFTENO	-	-	+	+
FLUORENO	-	+	+	-
FENANTRENO	+	-	-	-
ANTRACENO	-	-	-	-
FLUORANTENO	+	-	+	-
PIRENO	-	+	-	-
CRISENO	+	-	+	-
BENZO(A)ANTRACENO	-	-	-	-
BENZO(B)FLUORANTENO	-	-	-	+
BENZO(K)FLUORANTENO	-	-	-	-
BENZO(A)PIRENO	-	-	-	-

- = no detectado; + = detectado; M = Merced; P = Pedregal.

TABLA VI. HAP ANALIZADOS EN MUESTRAS DE AIRE ASOCIADAS A PARTICULAS DE 10 μ m DE DIAMETRO AERODINAMICO O MENOS (PM10)

COMPUESTO	SITIO Y FECHA DE MUESTREO			
	M270791	M020891	P270791	P020891
ACENAPTEÑO	-	-	-	-
FLUORENO	-	-	+	-
FENANTRENO	-	+	-	+
ANTRACENO	-	-	-	-
FLUORANTENO	+	-	+	+
PIRENO	-	-	-	-
CRISENO	-	+	+	+
BENZO(A)ANTRACENO	-	-	-	-
BENZO(B)FLUORANTENO	-	+	+	+
BENZO(K)FLUORANTENO	-	-	-	-
BENZO(A)PIRENO	-	+	-	-

- = no detectado; + = detectado; M = Merced; P = Pedregal

**TABLA VII. COMPUESTOS NITRODERIVADOS ANALIZADOS POR
 CROMATOGRAFIA DE GASES EN LA FRACCION ORGANICA
 ASOCIADA A LAS AEROPARTICULAS PM10 Y PST DE LA
 MERCED (M) Y DEL PEDREGAL DE SAN ANGEL (P)**

Compuesto	PM10	PM10	PST	PST
	M270791	P270791	H020891	P020891
1-NITRONAFTALENO	-	-	-	-
1,8-DINITRONAFTALENO	+	+	+	+
1,5-DINITRONAFTALENO	-	-	+	-
1,3-DINITRONAFTALENO	-	-	-	-
2,7-DINITROFLUORENO	-	+	+	+
2,7-DINITRO,9-FUORENONA	-	-	-	-
1-NITROPIRENO	-	-	+	-
6-NITROCRISENO	-	-	-	-
6-NITROBENZO(A)PIRENO	+	-	+	+

**TABLA VIII. REVERTANTES His⁻/PLACA (- TESTIGO) OBTENIDOS AL
 EXPONER A *Salmonella typhimurium* TA98 A LA FRACCION
 ORGANICA ASOCIADA A LAS AEROPARTICULAS**

SITIO DE MUESTREO	FECHA	PST		PM10	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Merced	270791	2.67	50.34 **	59.00 *	272.00 **
Merced	020891	56.00 *	193.67 **	80.00 *	207.70 **
Pedregal	270791	31.67	301.30 **	29.00	90.70 **
Pedregal	020891	28.34	144.70 **	55.67 *	47.70 **

El analisis estadistico se realizo con la prueba de diferencias
 minimas significativas.

* Significativo P < 0.05

** Significativo P < 0.01

TABLA IX. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA SMART AL EXPONER A LARVAS DE LA CRUZA ESTANDAR A LA FRACCION ORGANICA ASOCIADA A LAS AEROPARTICULAS

Fecha	Cantidad de alas	Manchas por ala (Número de Manchas)			Diag. Estad. *	Manchas con células m/mh	Frecuencia de formación de clones por 10 ⁵ células **	
		Manchas sencillas (1-2 células)	Manchas grandes (>2 células)	Manchas dobles			Manchas totales	observado
Conc.		m = 2.00	m = 5.00	m = 5.00	m = 2.00			
TESTIGO (3% ETANOL + 3% TWEEN 80)								
	92	0.13 (12)	0.04 (4)	0.01 (1)	0.18 (17)	17	0.8	
270791								
PST-MERCED								
2.44	88	0.22 (19)d	0.03 (3)	0.03 (3)d	0.20 (25)d	25	1.2	0.4
9.76	80	0.16 (13)d	0.03 (2)	0.01 (1)d	0.20 (16)d	16	0.8	0.1
PM10-MERCED								
2.44	62	0.23 (14)d	0.02 (1)	0.06 (4)d	0.31 (19)d	19	1.3	0.5
9.76	80	0.25 (20)d	0.01 (1)	0.01 (1)d	0.28 (22)d	22	1.1	0.4
PST-PEDREGAL								
2.44	96	0.27 (26)+	0.08 (8)d	0.01 (1)d	0.36 (35)+	35	1.5	0.7
9.76	80	0.16 (13)d	0.03 (2)	0.01 (1)d	0.20 (16)d	16	0.8	0.1
PM10-PEDREGAL								
2.44	60	6.27 (16)+	0.03 (2)	0.00 (0)d	0.30 (18)d	18	1.2	0.5
9.76	80	0.24 (19)d	0.03 (2)	0.00 (0)d	0.26 (21)d	21	1.1	0.3
020091								
PST-MERCED								
2.44	54	0.30 (16)+	0.02 (1)	0.02 (1)d	0.33 (18)d	18	1.4	0.6
9.76	80	0.41 (33)+	0.05 (4)	0.01 (1)d	0.47 (38)+	37	1.9	1.1
PM10-MERCED								
2.44	76	0.55 (42)+	0.03 (2)	0.03 (2)d	0.61 (46)+	46	2.5	1.7
9.76	152	0.39 (59)+	0.01 (2)	0.01 (2)d	0.41 (63)+	63	1.7	0.9
PST-PEDREGAL								
2.44	60	0.23 (14)d	0.03 (2)	0.03 (2)d	0.30 (18)d	18	1.2	0.5
9.76	78	0.23 (18)d	0.00 (0)	0.04 (3)d	0.27 (21)d	21	1.1	0.3
PM10-PEDREGAL								
2.44	86	0.31 (27)+	0.05 (4)	0.02 (2)d	0.38 (33)+	33	1.6	0.8
9.76	80	0.28 (22)+	0.04 (3)	0.01 (1)d	0.32 (26)+	26	1.5	0.6
DIMETILBENZO(A)ANTRACENO								
5.0	20	2.20 (44)+	1.55 (31)+	0.45 (9)+	4.20 (84)+	83	17.0	16.3

* El diagnóstico estadístico se realizó según Frei y Würzler (1988). + = positivo; - = negativo; (+) = débil positivo; d = dudoso; m = factor de multiplicación. Grados de probabilidad de error: $\alpha = \beta = 0.05$

** Frecuencia de formación de clones: manchas m/m / (cantidad de alas x 24,400 células)

*** Valor observado en el tratamiento menos el del testigo.

TABLA X. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA SMART AL EXPONER A LARVAS DE LA CRUZA DE ALTA BIOACTIVACION A LA FRACCION ORGANICA ASOCIADA A LAS AEROPARTICULAS

Fecha	Cantidad de alas	Manchas por ala (Número de Manchas)			Diag. Estad. *	Manchas con células m/h	Frecuencia de formación de clones por 10 ⁵ células **	observado	corregido ***
		Manchas sencillas chicas (1-2 células)	Manchas sencillas grandes (>2 células)	Manchas dobles					
Tipo y lugar	Conc.	m = 2.00	m = 5.00	m = 5.00	m = 2.00				
TESTIGO (3X ETANOL + 3X TWEEN 80)									
	154	0.19 (29)	0.04 (6)	0.02 (3)	0.25 (38)	38	1.0		
270791									
PST-MERCED									
2.44	92	0.36 (33)+	0.03 (3)-	0.01 (1)d	0.40 (37)+	37	1.6	0.6	
9.76	80	0.34 (27)+	0.04 (3)-	0.03 (2)d	0.40 (32)+	32	1.6	0.6	
PH10-MERCED									
2.44	80	0.34 (27)+	0.03 (2)-	0.01 (1)d	0.37 (30)d	30	1.5	0.5	
9.76	80	0.44 (35)+	0.01 (1)-	0.04 (3)d	0.49 (39)+	39	2.0	1.0	
PST-PEDREGAL									
2.44	130	0.25 (33)d	0.02 (3)-	0.02 (2)d	0.29 (38)+	36	1.1	0.1	
9.76	80	0.43 (34)+	0.11 (9)+	0.00 (0)-	0.54 (43)+	42	2.2	1.2	
PH10-PEDREGAL									
2.44	86	0.45 (39)+	0.06 (5)d	0.01 (1)d	0.52 (45)+	44	2.1	1.1	
9.76	80	0.22 (18)d	0.06 (5)d	0.01 (1)d	0.30 (24)-	24	1.2	0.2	
020891									
PST-MERCED									
2.44	80	0.45 (36)+	0.09 (7)d	0.01 (1)d	0.55 (44)+	44	2.3	1.3	
9.76	80	0.43 (34)+	0.06 (5)d	0.00 (0)-	0.49 (39)+	39	2.0	1.0	
PH10-MERCED									
2.44	90	0.20 (18)-	0.04 (4)-	0.03 (3)d	0.28 (25)-	24	1.1	0.1	
9.76	80	0.51 (41)+	0.04 (3)-	0.04 (3)d	0.59 (47)+	47	2.4	1.4	
PST-PEDREGAL									
2.44	100	0.21 (21)-	0.02 (2)-	0.03 (3)d	0.26 (26)-	26	1.1	0.1	
9.76	80	0.35 (28)+	0.08 (6)d	0.03 (2)d	0.45 (36)+	36	1.8	0.8	
PH10-PEDREGAL									
2.44	88	0.28 (25)d	0.06 (5)-	0.00 (0)-	0.34 (30)d	28	1.3	0.3	
9.76	80	0.44 (35)+	0.04 (3)-	0.00 (0)-	0.47 (38)+	38	1.9	0.9	
DIMETILBENZOA[ANTRACENO									
5.0	20	2.95 (59)+	2.30 (46)+	0.60 (12)+	5.85 (117)+	107	21.9	20.9	

* El diagnóstico estadístico se realizó según Frei y Würgler (1988). + = positivo; - = negativo; (+) = débil positivo; d = dudoso; m = factor de multiplicación. Grados de probabilidad de error: $\alpha = \beta = 0.05$

** Frecuencia de formación de clones: manchas m/h / (cantidad de alas x 24,400 células)

*** Valor observado en el tratamiento menos el del testigo.

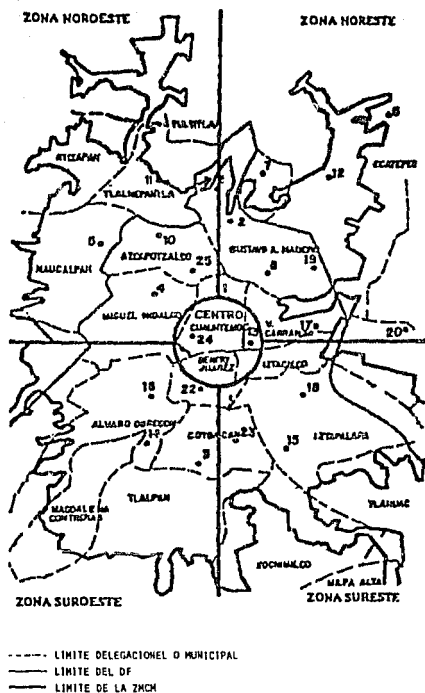


Figura 1. Ubicación de las estaciones de SEDESOL que conforman la red de calidad del aire en la zona metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM)

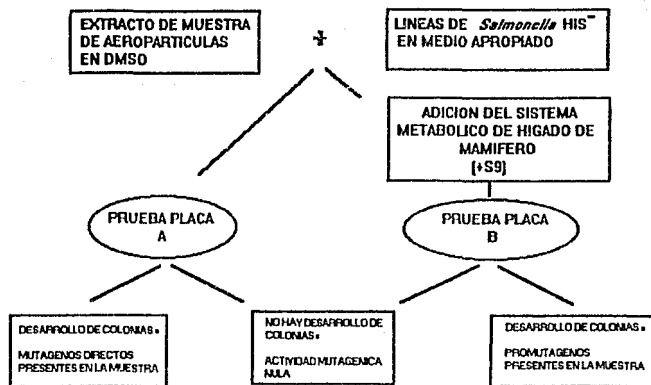


Figura 2. Diagrama del procedimiento involucrado en el análisis de compuestos asociados a las aeropartículas con la prueba de Ames

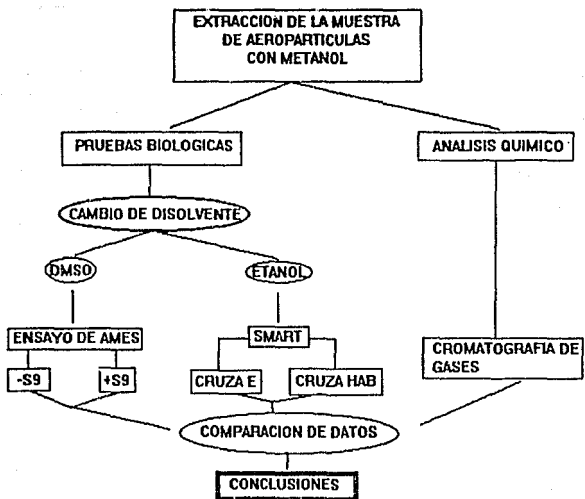


Figura 3. Esquema de trabajo

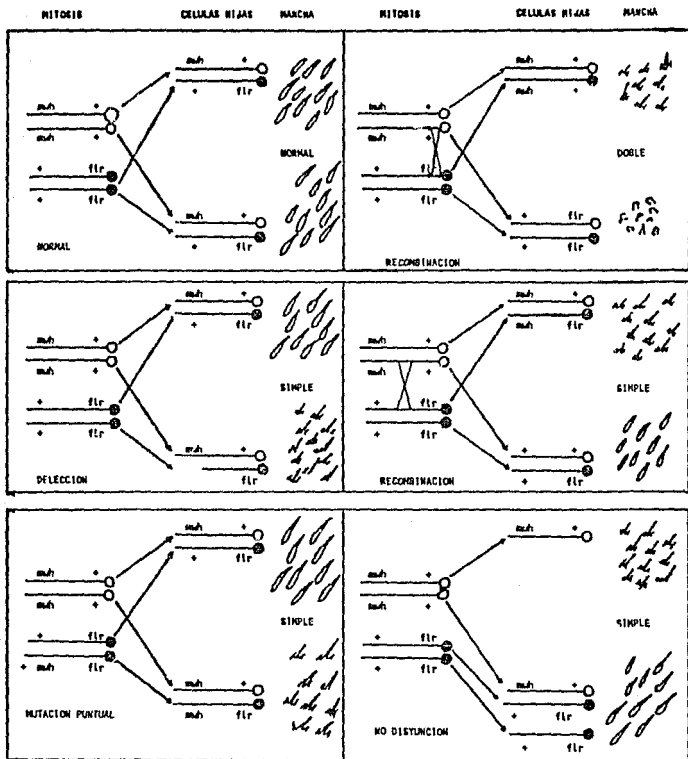


Figura 4. Eventos genéticos que pueden dar lugar a la aparición de manchas en la prueba SHART en células del ala de *Drosophila melanogaster*

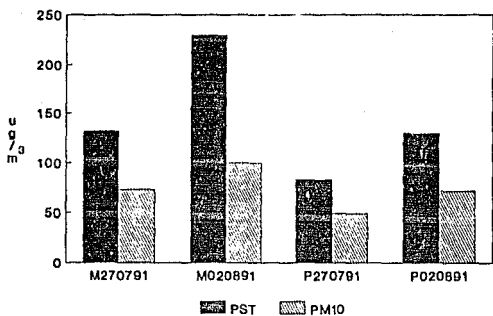


Figura 5. Concentración de masa de partículas colectadas en los muestreos realizados en la Merced y el Pedregal de San Angel el 27 de julio y el 2 de agosto de 1991

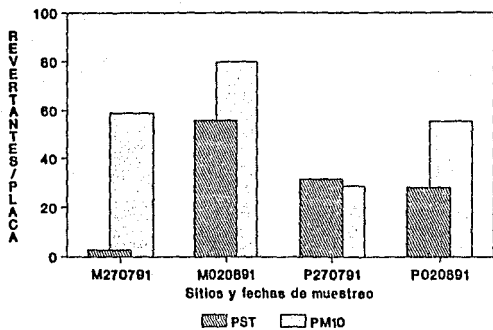


Figura 6. Revertantes/placa producidos en *Salmonella typhimurium* TA98, por la fracción orgánica asociada a las aeropartículas (PST y PM10) colectadas el 27 de julio y el 2 de agosto de 1992 en la zona de la Merced y el Pedregal de San Ángel en la Ciudad de México (sin la fracción metabólica S9)

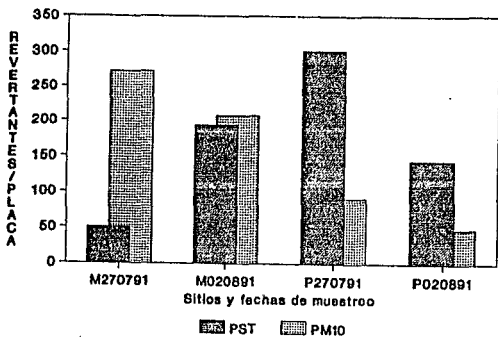


Figura 7. Revertantes/placa producidos en *Salmonella typhimurium* TA98, por la fracción orgánica asociada a las aeropartículas (PST y PM10) colectadas el 27 de julio y el 2 de agosto de 1992 en la zona de la Mercad y el Pedregal de San Angel en la Ciudad de México (agregando la fracción metabólica S9)

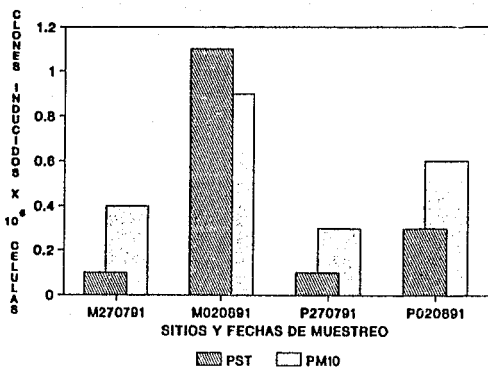


Figura 8. Clones mwh inducidos x 10^5 células, obtenidos al exponer a larvas de la cruz E a la fracción orgánica asociada al equivalente de $9.76 \text{ m}^3/\text{ml}$ de aire muestreado los días 27 de julio y 2 de agosto de 1991 en las zonas de la Merced y el Pedregal de San Angel en la Ciudad de México

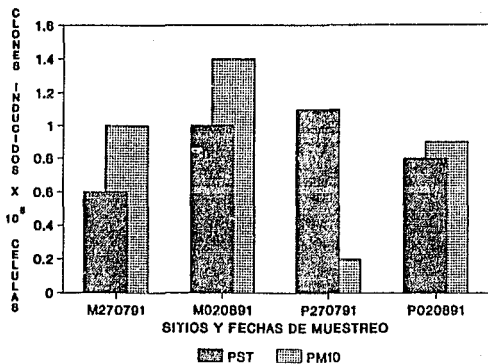


Figura 9. Clones mwh inducidos x 10⁵ células, obtenidos al exponer a larvas de la cruza HAB a la fracción orgánica asociada al equivalente de 9.76 m³/ml de aire muestreado los días 27 de julio y 2 de agosto de 1991 en las zonas de la Merced y el Pedregal de San Angel en la Ciudad de México

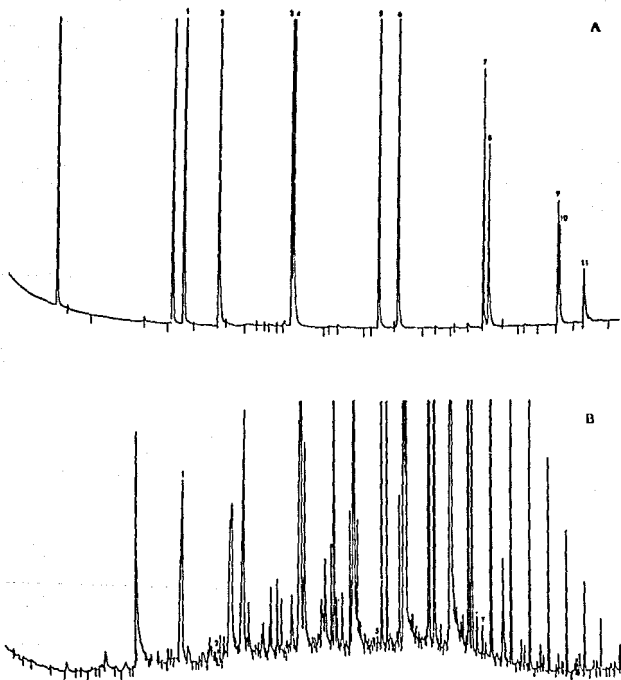


Figura 10. (A) Cromatograma de la mezcla estándar, (B) cromatograma de la muestra en la que se detectó el pico correspondiente al tiempo de retención del acenafteno (PST P270791). 1 = acenafteno, 2 = fluoreno, 3 = fenantreno, 4 = antraceno, 5 = fluoranteno, 6 = pireno, 7 = criseno, 8 = benzo(a)antraceno, 9 = benzo(b)fluoranteno, 10 = benzo(k)fluoranteno, 11 = benzo(a)pireno