

150
dey

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO CITOGENETICO
DE LOS PLAGUICIDAS CARBAMICOS
OXAMILO Y TIODICARB
EN CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER POR EL TITULO DE

B I O L O G O

PRESENTA

Juana Sánchez Alarcón

REGISTRADO EN EL LIBRO DE EXAMENADOS EN LA

DRA. SANDRA GOMEZ-ARROYO



DECLARACION DE RESPONSABILIDAD DEL AUTOR
Yo, el infrascrito, declaro que el presente trabajo es el resultado de mi propia investigación y que no he copiado ni plagado el contenido de esta tesis en ninguna de las fuentes consultadas.
También declaro que el presente trabajo no ha sido sometido a otro examen de grado en ninguna de las universidades o instituciones de educación superior.
En consecuencia, declaro que el presente trabajo es original y que no he cometido plagio ni copia.

FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron la pasante(s) de Biología Sánchez Alarcón Juana

con número de cuenta 8224791-2 con el Título: _____

"EFECTO CLIMATOLÓGICO DE LOS PLACUICIOS CARBÓNICOS OXIMILO Y TIQUICARB
EN CULTIVO DE LINCELOS HUMWOS"

Otorgamos nuestro Voto Aprobatorio y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de Biólogo

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
Dra.	Sandra Luz	Gómez Arroyo	
Director de Tesis	Dr. Rafael	Villalobos Pietrini	
Biol.	Miguel Ángel	Manases Pérez	
M. en C.	María Elena	Calderón Secura	
Suplente	M. en C. Josefina	Cortés Esjava	
Suplente			

La felicidad
no estriba en obtener
todos los deseos de nuestro corazón.
En gran parte, la felicidad
depende de nuestra habilidad
de sentir gratitud
por la abundancia que ya tenemos

Carolyn Wright

A MI ESPOSO

Rafael Valencia Quintana

A MIS HIJOS

Rafael Alexander

y

...

A MIS PADRES

Rosalía Sánchez Solís (rip)

Sara Alarcón Mojica

A MIS HERMANOS

Martín

Concepción

Rosalía

Emilia

Salvador

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A LA

Dra. Sandra Gómez Arroyo

**POR LA OPORTUNIDAD DE TRABAJAR
BAJO SU DIRECCIÓN
Y POR EL APOYO BRINDADO
DURANTE LA PRESENTE INVESTIGACION**

AGRADEZCO A MIS SINODALES
POR SUS SUGERENCIAS Y POR LA REVISIÓN
DE ESTE TRABAJO

Dr. Rafael Villalobos Pictrini
Biol. Miguel Angel Meneses Pérez
M. en C. Josefina Cortés Esclus
M. en C. Ms. Elena Calderón Saguna

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO AL

M. en C. Pedro Rafael Valencia Quintana

POR EL APOYO BRINDADO Y POR SU GUIA
DURANTE LA PRESENTE INVESTIGACION

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO AL

M. en C. José Luis Gómez Olivares

POR SU COLABORACION
EN LA REVISION DE ESTE TRABAJO
ASI COMO POR SUS SUGERENCIAS Y COMENTARIOS

**EFFECTO CITOGENETICO
DE LOS PLAGUICIDAS CARBAMICOS
OXAMILO Y TIODICARB
EN CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS**

INDICE

CONTENIDO	PAG.
Resumen	1
Introducción	2
Tiodicarb	8
Toxicología	9
Modo de acción/actividad biológica	10
Usos	11
Oxamilo	11
Toxicología	12
Modo de acción/actividad biológica	12
Usos	13
Actividad genotóxica del tiodicarb y del oxamilo	13
El sistema de prueba	14
Linfocitos de sangre periférica	14
Intercambio de cromátidas hermanas	15
Tinción diferencial de cromátidas hermanas	22
Materiales y métodos	24
Cultivo de linfocitos humanos <i>in vitro</i>	24
Cosecha de linfocitos humanos	25
Tinción diferencial de cromátidas hermanas	25
Resultados	28
Discusión	30
Referencias	42
Tablas	60
Figuras	65
Anexos	80

RESUMEN

Los intercambios de cromátidas hermanas (ICH) constituyen un modelo adecuado para evaluar el daño genotóxico provocado por los contaminantes ambientales. Asimismo los linfocitos humanos en cultivo han mostrado ser un material útil para estudios citogenéticos, por tal razón empleando este sistema, se realizaron tratamientos con los plaguicidas carbámicos oxamilo y tiodicarb a concentraciones de 62.5, 125, 250, 500 y 1000 ppm para el primero y de 100, 500 y 1000 ppm para el segundo. Se utilizó el cultivo de linfocitos humanos en presencia de 5-BrdU durante dos ciclos de replicación para el análisis de ICH en metafases de segundo ciclo.

Los datos obtenidos evidenciaron que ambos pesticidas fueron capaces de inducir ICH aún en las concentraciones más bajas (62.5 y 100 ppm), observándose, en términos generales, una correlación concentración-efecto.

Ambos insecticidas resultaron tóxicos en la concentración más alta (1000 ppm), causando muerte celular. Pero únicamente el oxamilo interfiere en la cinética de proliferación celular, produciendo un incremento de metafases de primera división con la subsecuente disminución de metafases de segundo y tercer ciclo de replicación en las concentraciones de 62.5, 125 y 250 ppm. A 500 ppm no se provoca la muerte celular, sin embargo las células permanecen en interfase, lo cual probablemente implica la inhibición de la mitosis.

INTRODUCCION

En la actualidad, la contaminación ambiental constituye un grave peligro para la salud pública, ya que en el aire, el suelo y el agua se encuentran presentes una serie de sustancias cuyo efecto en el hombre aún se desconoce.

La situación se hace especialmente delicada en el caso de los individuos ocupacionalmente expuestos a estos agentes ya que en ellos se acentúan los problemas de salud.

Se han identificado más de 15,000 sustancias que son tóxicas o dañinas para la salud, las cuales causan desde dermatitis hasta cáncer, detectándose que su acción puede ser inmediata a la exposición o manifestarse tiempo después.

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 (Cremlyn 1978)

A nivel mundial las plagas destruyen alrededor de la mitad de la producción anual durante el crecimiento, la cosecha y el almacenamiento de los

insumos agrícolas y forestales, pudiendo alcanzar hasta el 48 % de reducción (Chiras 1991). En el caso de la agricultura mexicana, la disminución es equivalente al promedio mundial .

La industria química destinada a incrementar la productividad en los campos demuestra su desarrollo fabricando tanto fertilizantes como plaguicidas. Los primeros, contienen principalmente fósforo, nitrógeno y potasio; su función es la de constituirse en nutrientes para los cultivos; los últimos son todas aquellas sustancias o mezclas de estas que se destinan a destruir, controlar, prevenir o repeler la acción de cualquier forma de vida, animal o vegetal, perjudicial para el hombre y/o que afecte la productividad agrícola y se pueden ubicar dentro de tres categorías principales: insecticidas, herbicidas y fungicidas (ANIQ 1985).

Los intentos para elevar la producción de alimentos incluyen el incremento en la aplicación de pesticidas. Se espera que a fines de este siglo se triplique la obtención de alimentos para satisfacer las necesidades de la población humana en expansión y probablemente se requerirá cinco veces más pesticidas (Kohn 1974).

No obstante, su empleo ha contribuido a la elevación de la contaminación de los ecosistemas, debido principalmente a la persistencia de residuos en el ambiente, pudiendo representar un riesgo para los animales y para el hombre (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Algunos genetistas se han interesado en los plaguicidas debido a su ubicua presencia en el ambiente (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984). Se considera que existen casi 1500 productos que son clasificados como pesticidas, en más de 33,000 formulaciones (Chiras 1991).

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 (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Los insecticidas representan un riesgo ocupacional para dos grupos de trabajadores, aquellos que los elaboran y los expuestos en las áreas agrícolas. Existe la posibilidad de accidentes que llevan a intoxicaciones agudas. Para la

población en general son un peligro menor a través de las cadenas tróficas (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

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

Se ha descrito que los plaguicidas tienen actividades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas, lo cual justifica un intenso estudio genético (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984, Gómez-Arroyo *et al.* 1985, Badr e Ibrahim 1987) aunque ninguno de ellos ha demostrado ser mutagénico, carcinogénico o teratogénico, en todos los sistemas de prueba disponibles (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Desde el punto de vista químico los insecticidas se dividen en clorados, fosforados y carbámicos. 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 (Barberá 1976, Moutschen-Dahmen *et al.* 1984), su fórmula general y especialmente las de los empleados en el presente trabajo 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).

Existe mucha similitud entre el modo de acción de compuestos organofosforados y carbámicos 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 la mayoría 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 (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

La cinética del bloqueo ha sido investigada cuidadosamente e involucra la carbamitación de la enzima (unión covalente de los grupos electrofilicos carbamoil a sitios estericos de las enzimas). Los carbamatos

transfieren un grupo ácido a este sitio formando un complejo enzimático acetilado (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

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).

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 produce incremento significativo de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) (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).

Se ha mencionado que el aldicarb puede ser transformado en una sustancia genotóxica cuando forma N-nitroso-aldicarb en presencia de nitritos (González-Cid y Matos 1984). Este derivado es mutagénico en *Salmonella*

typhimurium (Seiler 1977) y capaz de producir numerosas rupturas en una sola hebra del ADN de células normales de piel humana (Blevins *et al.* 1977b).

El carbarilo es otro insecticida de este grupo, cuya actividad mutagénica ha sido investigada en gran variedad de organismos. En *Hordeum vulgare*, Wu y Grant (1966, 1967a), notaron aumento en el número de rupturas cromosómicas en mitosis y un ligero efecto en meiosis.

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

El carbarilo fue capaz de inducir desórdenes en la síntesis de ADN *in vitro*, en cultivos de fibroblastos humanos (Ahmed *et al.* 1977). En la prueba de letales dominantes en ratones, causó muerte fetal temprana y pérdidas de preimplantaciones (Epstein *et al.* 1972).

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

El tiram aumentó ligeramente la inducción del fago lambda en *Escherichia coli*, en presencia de activación metabólica y tuvo efecto mutagénico en *Salmonella typhimurium* (Zdzienicka *et al.* 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 del mismo organismo (Upshal y Johnson 1981).

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

Los insecticidas nitroso-NAC, nitroso-NFMC y nitroso-MTMC, son mutágenos potentes que produjeron reversión en *Escherichia coli* (Uchiyama *et*

et al. 1975, Yoshikawa *et al.* 1978), así como letalidad (Yoshikawa *et al.* 1978) y en *Saccharomyces cerevisiae* conversiones génicas mitóticas (Siebert y Eisenbrand 1974). También provocaron aberraciones cromosómicas en células de criceto chino en cultivo (Ishidate y Odashima 1977).

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

Los herbicidas diallato, triallato y sulfallato fueron positivos en *Salmonella* (De Lorenzo *et al.* 1978).

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

El tiofanox 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 *Salmonella typhimurium* (Blevins *et al.* 1977a) y de propoxur en *Saccharomyces cerevisiae* (Siebert y Eisenbrand 1974).

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.* 1977b).

La carcinogenicidad de los carbamatos también ha sido investigada. El derivado nitroso del carbarilo 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-carbarilo (Lijinsky y Taylor 1976) provocó el mismo tipo de tumores, pero el carbarilo 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 fue demostrada en diferentes organismos (aves, peces, ratones, ratas, cobayos, cricetos, conejos, cerdos, perros y monos), en el caso del carbarilo, 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.

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 Lowerenz 1978).

Los resultados de estos experimentos 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 los carbamatos con excepción del carbarilo.

En el grupo de los insecticidas carbámicos se encuentran el vydate L-24 (oxamilo) y el semevin-375 (larvin 375) (tiodicarb).

TIODICARB

El semevin-375 (larvin 375) es un insecticida carbámico altamente eficaz en una amplia variedad de cultivos para el control de las plagas mas importantes. Proporciona excelente efecto contra las especies lepidópteras de impacto económico más significativo y algunas coleópteras, dípteras y homópteras que atacan algodón, soya, maíz, vid, árboles frutales, hortalizas y muchos otros cultivos.

Su uso genera un impacto mínimo en artrópodos útiles, abejas polinizadoras, parásitos y depredadores naturales.

Tiodicarb provee excelente control de larvas lepidópteras resistentes a piretroides sintéticos, organofosforados, organoclorados y otros carbamatos. Además de controlar insectos en la forma convencional por inhibición de la colinesterasa, proporciona buena acción ovicida sobre los huevos de muchas plagas.

Cuando se le usa en tratamientos de semillas muestra sus propiedades sistémicas y proporciona control residual de ciertas plagas de las semillas y del follaje. La actividad sistémica en los tratamientos de semillas persiste a menudo por 30 días o más y contribuye a proteger los cultivos jóvenes del daño causado por ciertas plagas de aparición temprana.

Este insecticida tiene moderado nivel de toxicidad sobre los mamíferos. Sus propiedades químicas, inherentes a los carbamatos, les producen inhibición espontáneamente reversible de la colinesterasa y evita efectos de toxicidad acumulada.

A través de numerosas pruebas experimentales (Unión Carbide 1994), se ha establecido que tiodicarb es relativamente no tóxico a las plantas, aves, peces y fauna silvestre. No persiste en el ambiente y es biodegradable a través de procesos químicos hidrolíticos y oxidantes.

TOXICOLOGIA

Sus propiedades físicas y químicas se describen en el anexo 3. Ha sido probado extensamente para evaluar sus efectos potenciales en la salud humana. La toxicidad aguda de tiodicarb y de las formulaciones se presentan en el anexo 4. Estos estudios indican que este insecticida es de Clase II, es decir de la categoría moderadamente tóxica de acuerdo con las regulaciones de la EPA (Agencia para la Protección del Ambiente de los Estados Unidos) (Union Carbide 1994).

Parece que no es tóxico a las bacterias y hongos del suelo, los procesos microbianos de fijación de nitrógeno, nitrificación y degradación de biopolímeros

no fueron adversamente afectados en estudios de laboratorio (Union Carbide 1994).

MODO DE ACCION/ACTIVIDAD BIOLOGICA

Semevin-375, larvin 375 o tiodicarb se utiliza en aplicaciones de aspersión foliar, así como en el tratamiento de semillas. Actúa principalmente por ingestión o como tóxico estomacal con alguna acción complementaria de contacto.

Es relativamente insoluble en agua o disolventes orgánicos. No penetra fácilmente a través de la superficie de la cutícula de los insectos o de las hojas. Esto brinda como resultado una acción tóxica de contacto relativamente baja para los insectos y poca o ninguna en las plantas.

En aspersiones foliares, éste tiene persistencia de 5 a 14 días ó mas. El período específico de actividad residual depende de las condiciones ambientales, dosis, tipo de plagas y cultivos.

Como tóxico por ingestión, la rapidez de su efecto letal depende mayormente de los hábitos alimenticios de los insectos, pero una vez ingerido, actúa de inmediato. El control efectivo se obtiene en general dentro de las 48 horas posteriores a la aplicación.

Las propiedades insecticidas del tiodicarb no son afectadas negativamente por temperaturas elevadas o luminosidad

En el tratamiento de semillas, es rápidamente translocado sistémicamente a través de la planta para controlar los insectos. Dependiendo del cultivo, de las condiciones ambientales y de los insectos presentes, se pueden conseguir hasta 30 días ó mas de control residual mostrando gran eficacia contra algunos insectos perforadores, chupadores o masticadores resistentes a aplicaciones foliares.

Presenta una potente actividad ovicida contra *Heliothis* y otras plagas lepidópteras. Esto se atribuye a la doble acción de toxicidad oral cuando las pequeñas larvas comienzan a consumir sustancias nutritivas del huevo y en algunos casos a la acción de contacto directo

El tiodicarb se degrada rápidamente en los diferentes tipos de suelos, bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Entre los factores que influyen en su degradación están el tipo de suelo, la humedad, la temperatura y la actividad biológica. Los productos primarios de la degradación son metomilo y metomilo oxima. La vida media es de 3 a 8 días. Su principal metabolito, el metomilo, se descompone aún más por acción microbiana. En el agua, la degradación es más lenta y la transformación en productos volátiles es insignificante.

El pH del agua influye marcadamente en su degradación. Pruebas con el plaguicida determinando la tasa de hidrolización durante 9 días, indicaron que a pH de 6 es estable, mientras que a 9, hubo pérdida del 99 % durante ese período de tiempo y del 52 % a un pH de 3.

Cuando las aplicaciones del insecticida semevin-375 (larvin 375) se hacen por aspersión foliar y se exponen a la luz solar, la vida media (en hojas de frijol) es aproximadamente de 7 a 10 días (Union Carbide 1994).

USOS

Semevin-375 (larvin 375) es recomendado a nivel mundial para su empleo en cultivos de algodón, soya, maíz, vid, tabaco y hortalizas entre otros cultivos y está indicado para gran cantidad de plagas (Anexo 5). Las dosis recomendadas para un mejor aprovechamiento dependen de la plaga a la cual va a ser dirigido así como del tipo de cultivo.

OXAMILO

El vydate L-24 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 1994).

Cuando vydate L-24 es aplicado al suelo, una parte se queda en el terreno y mata o paraliza a los nemátodos ectoparásitos, otra 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 el insecticida es asperjado sobre las plantas, parte del producto se queda en las hojas y actúa contra insectos y ácaros, otra es absorbida y translocada por medio del floema hacia las raíces, donde nuevamente afecta a los nemátodos.

Vydate L-24, se degrada en el suelo o dentro de las plantas en compuestos que se encuentran comúnmente en la naturaleza, controla insectos, nemátodos y ácaros que han desarrollado resistencia a los plaguicidas organofosforados.

TOXICOLOGIA

Sus propiedades físicas y químicas se describen en el anexo 6. El oxamilo ha sido clasificado como "altamente riesgoso", en una guía de clasificación presentada por la OMS (World Health Organization 1984-1985).

El vydate L-24 es tóxico para peces, pájaros y otros animales de vida silvestre. También lo es para las abejas cuando reciben directamente la aspersión y para otros organismos (Anexo 7).

MODO DE ACCION/ACTIVIDAD BIOLOGICA

El oxamilo mata nemátodos por contacto y por acción sistémica, impidiendo la formación de la acetil-colinesterasa. Dosis de 5 ppm en el suelo, los mata 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 oxamilo 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 1994).

En el 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.

El oxamilo 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 utiliza en 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 oxamilo 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 más 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, hubo 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.

USOS

El vydate L-24 está indicado para gran cantidad de plagas (Anexo 8) en diversos cultivos (Anexo 9). Las dosis recomendadas para un mejor aprovechamiento dependen de la plaga a la cual va a ser dirigido así como del tipo de cultivo.

ACTIVIDAD GENOTOXICA DEL TIODICARB Y DEL OXAMILO

No existe información disponible sobre la posible genotoxicidad del tiodicarb ni del oxamilo. En el caso de este último, se evaluó su capacidad clastogénica en las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, encontrándose resultados negativos a 500, 1000, 2000 y 3000 ppm; de igual manera se evidenciaron sus efectos fisiológicos que fueron negativos al no alterar el índice

mitótico de estas células al comparar los grupos tratados con el testigo (Valencia-Quintana *et al.* 1993). 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 1987a, b). Por lo tanto es importante utilizar diversos sistemas de prueba para conocer con certeza el riesgo que implica la manipulación de este tipo de compuestos.

EL SISTEMA DE PRUEBA

Se han desarrollado diversos sistemas biológicos de prueba que abarcan gran variedad de organismos tanto animales como vegetales, para ser usados como indicadores del daño citogenético inducido por mutágenos tanto físicos como químicos, con el fin de obtener una visión más completa del riesgo que implican para el hombre.

Los bioensayos de pesticidas a largo plazo con animales son considerados como los procedimientos más satisfactorios para valorar la genotoxicidad (de Kerganmeaux *et al.* 1983), sin embargo estos son caros, por ello se han implementado otros sistemas como los cultivos celulares, que aportan buena información a corto plazo y son más económicos.

LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA

Los linfocitos *in vitro* tienen características que sirven para observar funciones especiales como la diferenciación celular, la transferencia de energía, el flujo de información genética del ADN a través del ARN a proteínas y la formación de organelos celulares. Debido a esto son muy utilizados en estudios citogenéticos y para diagnóstico clínico (Lerner y Dixon 1973).

Se cuenta en la actualidad con metodologías estandarizadas para el cultivo de sangre periférica completa de humanos, que permiten determinar la sensibilidad de los linfocitos a las alteraciones citogenéticas. Estos dan resultados reproducibles con índices mitóticos elevados y frecuencias basales de eventos de daño estables (Kligerman *et al.* 1984).

Para estimular la división de los linfocitos *in vitro* se han empleado extractos vegetales que tienen propiedades mitogénicas y de aglutinar células; esto se debe a la presencia de ciertas proteínas llamadas lectinas como la concavalina A (Con A) y la fitohemaglutinina (PHA) (Crossen y Morgan 1977). Otras sustancias derivadas de bacterias como el filtrado de estreptococos y estafilococos, así como también la tuberculina, tienen la cualidad de inducir la división celular (Ling y Kay 1975). El empleo de la PHA tiene la ventaja de que al ser un mitógeno no específico, puede activar múltiples clones de linfocitos.

Una cantidad considerable de laboratorios emplean el cultivo de linfocitos humanos como un sistema modelo para investigar la regulación de los estados iniciales de la proliferación celular durante la fase de transición de G_0 - G_1 -S (Kaczmarek *et al.* 1987).

El primer paso de la respuesta inmune es el contacto del antígeno con los receptores de membrana de los linfocitos, produciendo un cambio en su regulación génica que da como consecuencia la división celular (Behrman *et al.* 1986).

Existen gran cantidad de factores que intervienen en el inicio y la duración de la síntesis del ADN en los linfocitos en cultivo, entre ellos se encuentran la naturaleza, concentración y metabolismo del estimulante empleado (Jasinska *et al.* 1970), el origen de las células y las condiciones de cultivo (Ling y Kay 1975).

En los cultivos de linfocitos con PHA, la síntesis del ADN comienza después de 24 horas a partir del momento de la estimulación, encontrando su máxima actividad a las 72 horas y decreciendo posteriormente. Otros mitógenos potentes como la Con A y el filtrado de estafilococos inducen una síntesis máxima después de 3 a 5 días, mientras que los estimulantes débiles la producen de 5 a 7 días; estos últimos son los responsables de que el periodo G_1 se extienda durante el cultivo (Ling y Kay 1975).

En resumen los cultivos de células humanas y en especial de linfocitos periféricos, tienen ventajas que los hacen adecuados para este tipo de estudios, debido a que se puede obtener fácilmente una población celular numerosa (Evans y O' Riordan 1975) y por medio de mitógenos como la fitohemaglutinina,

inducirlos a dividirse *in vitro* (Crosen y Morgan 1977), lográndose una cantidad considerable de linfocitos en metafase.

INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS

Con el fin de detectar los efectos genotóxicos provocados por la gran variedad de mutágenos ambientales y de evaluar el riesgo que representan para el hombre, se han desarrollado diversos sistemas de prueba que incluyen bacterias, hongos, plantas y animales. Uno de los más útiles para determinar el efecto tanto *in vivo* como *in vitro* es el cultivo de células humanas y de ellos como se mencionó anteriormente el de linfocitos de sangre periférica.

El análisis citogenético de las aberraciones cromosómicas (AC) se efectúa principalmente en las metafases de primera división; las aberraciones que se pueden observar son básicamente de dos tipos, cromosómicas, en donde la unidad de rompimiento es el cromosoma, y cromatídicas, en donde la unidad es la cromátida.

Además de la investigación de AC, a nivel citogenético existe otra prueba que es el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) con la cual se detecta un tipo de daño que involucra un intercambio simétrico de un locus específico entre cromátidas homólogas, durante la fase S del ciclo celular (Wolff 1977b), el cual no altera la morfología del cromosoma. La evidencia sugiere que es inmediatamente después de que se ha formado la bifurcación durante la biosíntesis del ADN, cuando se realiza el intercambio de doble banda entre las cadenas del ADN (Kato 1980).

Esta técnica fue descubierta por Taylor y colaboradores en 1957, al marcar los cromosomas vegetales con timidina tritiada en la primera de dos divisiones subsecuentes y observándolos por medio de autorradiografía, encuentran que los cromosomas de las células que se habían dividido dos veces mostraban una cromátida marcada y otra sin marcar, con intercambios de segmentos entre cromátidas. Posteriormente, Latt (1974b) utiliza por primera vez un colorante fluorocromado llamado Hoechst 33258 ó bisbenzimidazol, el cual se une a las regiones del cromosoma que incorporan un análogo de base, como la 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU).

Para poder visualizar la incorporación de estos por dos ciclos celulares, se utilizan los colorantes fluorocromados como el bisbenzimidazol o el naranja de acridina, los cuales emiten cierta fluorescencia que disminuye en intensidad en presencia de la 5-BrdU, ya que los átomos pesados como el bromo alteran su fluorescencia (Latt 1982).

Sin embargo, aunque este método hace patente la incorporación del análogo en el ADN, presenta varias desventajas, como son el requerimiento de un microscopio de fluorescencia y el decaimiento de la intensidad de ésta con el tiempo; para resolverlas se ha aplicado el Giemsa después de la fluorescencia, con lo cual se ha logrado una tinción permanente (Perry y Wolff 1974, Latt 1982).

La detección de los intercambios de cromátidas hermanas (ICH) con este método permite la cuantificación fina del evento. Con este estudio, Latt (1974b) introduce una nueva metodología para la identificación de mutágenos ambientales ya que este sistema se considera como un indicador sumamente sensible del daño producido en el ADN por la acción de agentes químicos (Kato 1974, Latt 1974b, Craig-Holmes 1977, Wolff 1977a, Latt *et al.* 1981, Takehisa 1982).

Es una prueba muy sensible en la cual se observa un incremento significativo de ICH con concentraciones hasta 10 veces menores que las requeridas para inducir AC (Latt 1974b, Perry y Evans 1975, Wolff 1977a, Latt *et al.* 1981).

Pueden ser detectados los mutágenos tanto directos como aquellos que requieren de la activación metabólica (Latt *et al.* 1981).

Es posible utilizar esta técnica para monitorear los contaminantes ambientales en poblaciones humanas ya que es posible realizar estudios tanto en personas expuestas como *in vitro* (Latt *et al.* 1981, Lambert *et al.* 1982).

La prueba de ICH ha sido ampliamente usada en cultivos de células de mamífero para la detección de agentes mutagénicos y carcinogénicos (Abe 1984). Su observación generalmente requiere que las células sean cultivadas por dos ciclos de replicación en presencia de BrdU (Morgan y Wolff 1984), después de lo cual las preparaciones con las células en metafase son sometidas a la técnica de fluorescencia mas Giemsa (Latt 1973).

No obstante, el significado biológico, así como su mecanismo de formación, no han sido completamente esclarecidos (Gentil *et al.* 1984) a pesar de que este fenómeno ha sido objeto de muchos estudios, especialmente durante los últimos 20 años.

Resultados experimentales apoyan el hecho de que es durante la fase S el momento en que se llevan a cabo los ICH. Los mecanismos moleculares por los cuales parecen originarse son diversos, es decir, que los ICH pueden ser inducidos por circunstancias múltiples como daño al ADN (Nakanishi y Schneider 1979), inhibición del proceso de síntesis de ADN (Ishii y Bender 1980, Rainaldi y Mariani 1982), supresión de las enzimas involucradas en dicho proceso (Ishii y Bender 1980), inhibición de las enzimas involucradas en la reparación (Oikawa *et al.* 1980, Morgan y Cleaver 1982) o por un agente promotor de cáncer, no involucrado en la producción de lesiones sobre el ADN (Kinsella y Radman 1978, Schwartz *et al.* 1982)

Con relación al fenómeno de ICH, se han propuesto varios modelos y mecanismos, para explicar su origen, los principales son: el modelo de Holliday (Kato 1977), el de la desviación duplicadora (Ishii y Bender 1980); el de desviación de la replicación (Shafer 1982) y el modelo de replicación (Painter 1982).

Cada modelo se basa en evidencias experimentales específicas y algunas veces limitadas y ninguno de ellos ha sido totalmente confirmado (Tice y Hollaender 1984)

Dutrillaux y Fosse (1976) y Latt *et al.* (1980), plantean que los ICH representan un intercambio de los productos de la replicación del ADN y que estos no perturban la orientación ni la estructura de los genes involucrados.

Bender *et al.* (1974b) y Latt (1974b), son los primeros en proponer que los ICH pueden ser el resultado de un proceso de reparación de lesiones en el ADN, sin embargo, algunos agentes cuyo tratamiento se prolonga por mucho tiempo, causan incremento de las frecuencias de ICH, lo que descarta esta posibilidad (Ishii y Bender 1978).

Para dilucidar este fenómeno se han descrito varias hipótesis, una de ellas es la de Kato (1974), quien después de analizar la producción de ICH con

radiaciones ionizantes, sugiere que existe una correlación entre la producción de éstas y un proceso de reparación postreplicación o de recombinación.

Esta proposición es apoyada por Kihlman (1977), al experimentar con cafeína, sin embargo, este autor admite que la relación entre la reparación postreplicación y la inducción de ICH no es fácil de explicar en términos moleculares y encuentra que es necesario que ambas cadenas estén dañadas para que se verifique el intercambio; esto que ha sido hallado en *Vicia faba* fue confirmado por Yukimasa (1977), en cromosomas humanos tratados con mitomicina-C. Dichas sustancias dañan al ADN de tal manera que no puede ser reparado por escisión ya que suelen perderse hasta mil bases en la cadena complementaria (Sarasin 1982), para evitar la pérdida de esta información se activa un sistema de recombinación o de reparación post-replicación, en donde se sustituye la hélice dañada con su homóloga en la doble hélice hermana, recuperándose así la información perdida (Figura 4); el hueco que queda en la cromátida hermana se repara con la ayuda de la ADN polimerasa y las ligasas. De esta manera siempre que hay pérdida de información, se produce un ICH (Flanders 1981). Wolff (1977a), nota que el pico de mayor eficiencia en la inducción de ICH ocurre exactamente durante la etapa de síntesis del ADN; todo esto parece indicar que los ICH tienen relación con el requerimiento de la síntesis del ADN en una región dada del cromosoma después de que este ha sido dañado; lo cual no apoya la hipótesis de la reparación postreplicación como medio para la formación de ICH.

Otra manera de interpretar la inducción de ICH es mediante el modelo de entrecruzamiento propuesto por Holliday (1964), para explicar la recombinación del ADN (Figura 5), en el cual se requieren rompimientos de las hélices internas de cada cromátida hermana produciéndose un intercambio de estas hacia su homóloga; y generando así un traslapamiento. Para resolver problemas estructurales en este ADN recombinante se proponen dos rompimientos en las cadenas externas de ambas cromátidas, permitiendo que las internas se separen; estos rompimientos se reparan fácilmente con ayuda de las ligasas (Holliday 1964, Latt et al. 1980).

Sin embargo, este modelo parece más adecuado para explicar la recombinación meiótica que para dilucidar el mecanismo que origina los ICH, ya que éstos surgen durante la fase de síntesis, constituyendo un problema para la resolución del modelo, ya que si se producen intercambios de una sola hélice durante la etapa de síntesis, se provocan discontinuidades que van a dar lugar a

rompimientos cromatídicos (Latt et al. 1980). Este aspecto se podría solucionar por medio de entrecruzamientos, pero existen evidencias de que tanto los rompimientos de una sola hélice como los entrecruzamientos del ADN no son necesarios para la formación de ICH (Wolff 1982); y por otra parte, Kato (1974) y Yukimasa (1977), sugieren que las dos hélices del ADN están involucradas en los ICH.

Otro modelo que trata de explicar los ICH es aquel que implica un mal funcionamiento de las enzimas girasas que actúan detrás de la horquilla de replicación del ADN, las cuales funcionan como endonucleasas específicas para cierta secuencia de bases, rompiendo ambas hélices del ADN para evitar tensión durante la replicación, si estas enzimas no funcionan bien pueden romper ambas cromátidas y reunir las de manera intercambiada, produciendo así un ICH; este fenómeno se ha observado en bacterias, donde estas enzimas son altamente específicas y el intercambio no implica ni deleciones ni duplicaciones, manteniendo intacto el genoma (Wolff 1982). Aunque Mattern y Painter (1979) sugieren que existen enzimas similares a las girasas bacterianas en las células eucarióticas, esto no ha sido comprobado (Wolfe 1981).

Ishii y Bender (1978), proponen en su modelo que los ICH pueden originarse en forma espontánea o por daño al ADN. En el primer caso se sugiere que son el resultado de una ruptura al azar de las bandas progenitoras a nivel de la horquilla de replicación del ADN durante la síntesis y su reasociación con las bandas hijas de polaridad similar, en el segundo, el daño sobre una de las hebras progenitoras ocasiona que se rompa a nivel de la bifurcación del ADN durante la síntesis, teniendo la posibilidad de unirse covalentemente con la banda hija recién sintetizada y de la misma polaridad, posteriormente la banda progenitora no alterada puede romperse cerca del extremo terminal de la banda hija complementaria a la banda progenitora que presenta el daño y continuarse con ella, acoplándose con la lesionada (Figura 6). Este modelo está basado en observaciones experimentales con agentes como hidroxiaurea, afidicolina y 1,β-D arabinofuranosilcitosina, que inhiben la síntesis del ADN, específicamente la elongación de la cadena e inducen espontáneamente un incremento de los ICH, que indica además que la horquilla de replicación puede ser el sitio de su formación. Aunque tiene algunas evidencias que tratan de explicar el mecanismo para la generación de los ICH, este modelo no especifica el origen de las "mellas" en el ADN que preceden a la formación del ICH, sino que especifica que las enzimas que desespiralizan al ADN tales como las girasas y los inhibidores de

estas enzimas están involucrados en el origen de las "mallas" y como puede ser probable que esto ocurra, es uno de los modelos mas aceptados.

Shafer (1982) propone varias posibilidades para la formación de los ICH considerando que existen diversos mecanismos de reparación del ADN, de tal manera que las enzimas involucradas en el proceso pueden provenir de las existentes para la duplicación y la reparación del material genético. Sugiere que muchos agentes son capaces de inducir dichos sucesos, que son el resultado de una serie de eventos secuenciales, los cuales se presentan como una replicación bidireccional relacionada con un enlace cruzado. Es decir, la cadena conductora del ADN naciente avanza hacia uno de los sitios del enlace cruzado lo cual crea una fuerza distorsionante cercana a éste, dando como resultado el rompimiento o escisión de la hebra progenitora, por lo que las hebras nacientes conductoras aprovecharían el enlace a lo largo de las hebras progenitoras opuestas y los dos rompimientos o escisiones deberían ocurrir contralateralmente a las hebras progenitoras opuestas cerca y por debajo del enlace, debido al proceso de desenrollamiento convergente, los extremos libres producidos en el primer estado pueden llegar a estar alineados en sus extremos, independientemente de su polaridad opuesta. La terminación de un ICH debería acompañarse de dos procesos de reunión y sellado de los extremos libres vía los fragmentos de Okasaki nacientes o por complementación del heterodúplex, por sobrelapamiento de los extremos libres (Figuras 7 y 8). El mecanismo de desvío permitiría que continúe la replicación sin ser reparado el enlace cruzado (dejándolo intacto) y ocasiona una interrupción de las hebras progenitoras y una interacción incompleta con las hebras nacientes cerca y por debajo del sitio de enlace cruzado, produciendo ICH. Este modelo tiene correlaciones negativas al considerar los eventos de recombinación del ADN y los sitios de enlace cruzado como las regiones adecuadas para la formación de los ICH, lo cual es inconsistente con los datos experimentales obtenidos con numerosos agentes que no son inductores de enlaces cruzados pero sí de ICH, por lo tanto, no son el resultado de estos eventos. Además considera que no existe reparación en los sitios de enlace cruzado con lo cual sería fatal si se inducen en la fase G_1 . Por otro lado, descarta la posibilidad de observar ICH dobles al no haber reparación del daño inicial en el segundo ciclo de replicación y el hecho de que existan agentes cuyo mecanismo sobre el ADN no es por enlaces cruzados y sean inductores efectivos de ICH, descarta la operabilidad de dicho modelo.

La hipótesis descrita por Painter (1982) considera que existe reducción en la velocidad de desplazamiento de la horquilla de replicación del ADN, el cual

genera 4 extremos libres (dos nacientes y dos progenitores de un racimo de replicones completamente duplicados y opuestos a los extremos libres progenitores), del replicón adyacente que se encuentra parcialmente duplicado. Esto conduce a la conexión entre los grupos de replicones en los cuales un segmento duplicado se encuentra al lado de un segmento no duplicado (Figura 9) (como es normal durante el periodo S en las uniones de la eucromatina y la heterocromatina), lo que sugiere que los rompimientos de la molécula de ADN de doble banda en estas conexiones, son formados y reunidos de manera espontánea y el sellado quizás es catalizado por una topoisomerasa II, la cual ha sido localizada en diferentes eucariontes. Ocasionalmente en lugar de que ocurra una reunión normal, el rompimiento se sella por unión de las hebras hijas de una molécula replicada a la molécula no replicada. Una vez que esto ocurre, el ICH es iniciado cuando las hebras hijas nacientes de un grupo se combinan con las hebras progenitoras de un grupo parcialmente replicado y solo cuando estos terminan de duplicarse se genera totalmente el ICH. Este intercambio requiere de un solo evento, el rompimiento es de doble hebra, el cual es consistente con los datos que muestran que el ICH es producido en función lineal a la dosis de un agente.

TINCIÓN DIFERENCIAL DE CROMÁTIDAS HERMANAS

A partir de la postulación del modelo preciso de la estructura del ADN por Watson y Crick en 1953 y de la forma en que se lleva a cabo la duplicación del material genético, establecida por Taylor y colaboradores en células eucariontes en 1957, y por Messelson y Stahl en células procariontes en 1958.

Se han utilizado precursores del ADN de distinta naturaleza, ya sea radioactivos marcados con distintos isótopos como son Carbono 14, Fósforo 32 y Tritio principalmente y no radioactivos tales como 5-BrdU entre otros, que sometidos a distintos tratamientos y/o siendo analizados al microscopio utilizando tinciones específicas (Latt *et al.* 1975), han permitido una diferenciación de las cromátidas hermanas (Tice *et al.* 1976).

La BrdU es un nucleósido halogenado análogo de la timina que puede ser incorporado a las cadenas de ADN en formación (Latt *et al.* 1981). La incorporación de ésta se basa en tres postulados: (1) la teoría unimérica de la cromátida, (2) la duplicación semiconservadora del ADN y (3) la segregación al azar de los cromosomas durante la división celular (Tice *et al.* 1976).

La incorporación de la BrdU en el ADN es necesaria para la tinción diferencial de cromátidas hermanas e identificación de células en metafase que han pasado por uno, dos o tres ciclos de replicación (Fig. 10). Después de un ciclo de replicación en presencia de BrdU los cromosomas en metafase poseen el 100 % de sus cromátidas unifilarmente sustituidas, cuando han pasado por dos ciclos, los cromosomas presentan el 50 % de sus cromátidas unifilarmente sustituidas y el otro 50 % bifilarmente sustituidas. Las células que han pasado por tres períodos de replicación, presentan el 25 % de sus cromátidas unifilarmente sustituidas y el 75 % bifilarmente (Tice *et al.* 1975). Mediante el análisis del porcentaje de células en metafase de primera, segunda y tercera divisiones, se puede obtener el tiempo de generación promedio, ya sea por método gráfico (Dutrillaux y Fosse 1976, Tice *et al.* 1976) o mediante la fórmula propuesta por Ivett y Tice (1982).

Debido a la gran importancia que tienen los insecticidas carbámicos y dado que dentro de este grupo, el vydate L-24 y el semevin-375 (larvin 375), son ampliamente utilizados en la agricultura mexicana y la información que existe sobre sus efectos en el material genético es nula, el objetivo de este trabajo fue evaluar el daño citogenético inducido por éstos pesticidas mediante el análisis de ICH, así como su acción sobre la división celular, empleando como sistema de prueba los linfocitos humanos en cultivo.

MATERIALES Y METODOS

CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS *IN VITRO*

Se emplearon 100 ml de medio de cultivo McCoy, complementado con 2.5 ml de fitohemaglutinina. Con una jeringa heparinizada se extrajeron 10 ml de sangre periférica por punción venosa de un donador sano. En frasco estéril se colocaron 3 ml de este medio, se agregaron 8 gotas de sangre y se incubaron a 37 °C.

Después de 24 h de iniciado el cultivo se agregaron 100 µl de 5-Bromodesoxiuridina (5-BrdU) (0.2 mg/ml) y los insecticidas vydate L-24 (oxamilo) y semevin-375 (tiodicarb). El primero a 62.5, 125, 250, 500 y 1000 ppm y el último a 100, 500 y 1000 ppm de ingrediente activo.

Después de cumplir 70 h de cultivo, entonces se agregaron 100 µl de colchicina (0.02 %) permaneciendo dos horas mas a 37 °C para completar el tiempo de incubación, y a continuación se inició la cosecha.

Las formulaciones del tiodicarb pueden ser clasificadas como fluibles acuosas, fluibles secas, polvos humedecibles, polvos y cebos (Anexo 2). La

formulación semevin-375 (larvin 375) es una suspensión que contiene 375 gramos de ingrediente activo por litro (Union Carbide 1994). El oxamilo se presenta en la forma líquida vydate L-24, al 24 % de ingrediente activo y 76 % de inertes. Se debe mezclar con agua para asperjarse en los cultivos donde está recomendado su uso.

COSECHA DE LINFOCITOS HUMANOS

Se centrifugaron los cultivos a 1000 rpm durante 5 min, al término de estos se desechó el sobrenadante e inmediatamente se resuspendió el botón suavemente en 5 ml de una solución 0.075 M de KCl a 37 °C durante 20 min.

Trascurrido este lapso se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min, retirando el sobrenadante y resuspendiendo el botón rápidamente con fijador metanol-ácido acético (3:1), manteniéndose a temperatura ambiente durante 20 min.

Nuevamente se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante y se lavó el botón con el fijador dejándolos reposar durante 10 min a temperatura ambiente.

Se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min, se eliminó el sobrenadante y el botón se resuspendió en 0.5 ml de fijador. A partir de esta suspensión se efectuaron las preparaciones por goteo a 2.0 m de altura aproximadamente, realizando por lo menos 4 laminillas por frasco de cultivo y se dejaron secar al aire.

TINCION DIFERENCIAL DE CROMATIDAS HERMANAS

Las preparaciones se observaron al microscopio de contraste de fases con los objetivos de 16X y 40X, para seleccionar las que tenían mayor cantidad de metafases de buena calidad, las cuales fueron teñidas.

Las laminillas se colocaron en el colorante fluorocromado Hoescht 33258 (solución acuosa 1:9), en cajas de Koplut, durante 40 min en la oscuridad, después se lavaron con agua corriente y se dejaron secar al aire en posición vertical.

Se irradiaron con una lámpara de luz negra (20 watts) a 2 cm. de distancia durante una hora, cuidando de mantenerlas húmedas durante este tiempo en una solución de citrato de sodio salino se enjuagaron y se dejaron secar.

Después se colocaron en cajas de Koplín con citrato de sodio salino a 60 °C durante una hora, se enjuagaron con agua de la llave y se dejaron secar al aire en posición vertical.

Se tiñeron con Giemsa (solución acuosa 1:10) durante 2 min, se enjuagaron y se dejaron secar en las mismas condiciones.

Con el fin de evitar prejuicios en el registro de los ICH se reetiquetaron todas las preparaciones con clave, de tal manera que el observador no tuvo conocimiento de cual tratamiento estaba observando hasta que finalizó el análisis y se descifró la clave.

En cada concentración de los experimentos con ambos insecticidas se analizaron 50 metafases de segunda división (25 para cada réplica), para la identificación y conteo de los ICH, registrándose los intercambios intersticiales como dos eventos y los terminales como uno.

Para la determinación del índice de replicación celular se registraron 100 metafases consecutivas, anotando la cantidad de metafases de primera, segunda y tercera divisiones, y se empleó la fórmula propuesta por Krishna *et al.* (1985):

$$IR = \{1(M_1) + 2(M_2) + 3(M_3)\} / 100$$

Donde: M_1 , M_2 y M_3 , representan los porcentajes de metafases de 1a, 2a y 3a divisiones celulares. Se consideran en M_1 aquellas células cuyo ADN se replicó solo una vez después de la adición de la ^3H -BrdU y todos los cromosomas tienen oscuro, en M_2 a las células cuyo ADN se duplicó dos veces en presencia de este análogo de base y cuyas cromátidas están uni y bifilarmente sustituidas por ésta y presentan tinción diferencial y en M_3 aquellas que presentan algunos cromosomas con ambas cromátidas bifilarmente incorporadas y otros con una

unifilar y otra bifilarmente sustituida, observándose la mayoría de los cromosomas teñidos claros y pocos con tinción diferencial ya que estuvieron tres ciclos en presencia de este compuesto (Figura 10).

A los resultados obtenidos se les aplicó la "t de Student" (Anexo 10). Se realizaron 2 experimentos para cada concentración, los promedios de los cuales se compararon entre sí, en grupos de dos y al no ser diferentes estadísticamente, se fusionaron ambos. Esta prueba también se utilizó para contrastar los promedios de testigos contra tratados.

RESULTADOS

Los datos del efecto de los insecticidas carbámicos vydate L-24 (oxamilo) y semevin 375 ó larvin 375 (tiodicarb) se muestran en las tablas I a IV y en las figuras 11 a 14.

En la tabla I y en la figura 11 se nota que desde la concentración mas baja el oxamilo tiene un efecto significativo en el incremento de ICH. Se aprecia en términos generales, que al aumentar la concentración se incrementan las frecuencias. De igual manera en ésta se puede notar que el insecticida resulta ser altamente tóxico para los linfocitos humanos en cultivo ya que a 500 ppm interfiere en la division celular evitando la entrada de las células en mitosis y en la concentración mas alta (1000 ppm) provoca la muerte celular.

La tabla II y la figura 12 muestran la inducción de ICH por el tiodicarb (semevin 375), el efecto es dependiente de la concentración de una manera mas clara que para el caso anterior, siendo también tóxico a la concentración mas alta de 1000 ppm.

Se determinó la cinética celular obteniéndose los indices de replicación (IR) para cada uno de los tratamientos y su testigo.

La tabla III y la figura 13 evidencian el efecto que tiene el oxamilo sobre la proliferación celular. Se observa que aún desde la concentración más baja de este insecticida hay acción sobre el IR, notándose una acumulación de metafases de primera división hasta la concentración de 250 ppm, siendo estas diferencias estadísticamente significativas al aplicarse la prueba de "ji cuadrada". En 500 ppm ya no se encontraron células en metafase, observándose únicamente linfocitos estimulados en interfase y en 1000 ppm se observaron pocos linfocitos (de tamaño pequeño) sin estimular, lo cual implicó que hubo muerte celular.

El tiodicarb no tiene efecto sobre el IR, las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas y solo en la concentración de 1000 ppm se presenta muerte celular (Tabla IV y figura 14).

DISCUSION

Para conocer el riesgo potencial que presentan las diversas sustancias para la salud del hombre, la Food and Drugs Administration (FDA) de los Estados Unidos de América, ha propuesto la realización de estudios a tres niveles de complejidad, el primero es un intento para detectar mutágenos por medio de sistemas sensibles, rápidos y a gran escala, tal es el caso de las bacterias; en el segundo se identifican y confirman los probables mutágenos determinados en el nivel anterior, utilizando células de mamífero en cultivo y en el tercero se recomiendan pruebas genéticas específicas, como son las de letales dominantes en roedores y el análisis de aberraciones cromosómicas (AC) y de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos humanos *in vivo* e *in vitro*, de esta manera se puede corroborar con mayor seguridad el riesgo genético que estos agentes constituyen para el hombre (Mayer y Flamm 1975).

En México se aplica un amplio espectro de pesticidas en los cultivos agrícolas para el tratamiento y/o prevención de enfermedades producidas en plantas por organismos patógenos, que ocasionan pérdidas económicas a los agricultores. En el mundo se han estimado miles de accidentes de personas expuestas a estos compuestos y muchos de ellos están implicados en la inducción

de cáncer, esterilidad y muerte por intoxicación (World Health Organization 1986, Rasquinha *et al.* 1988).

Es ampliamente reconocido que los contaminantes ambientales 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, las pruebas para determinar su mutagenicidad no son solicitadas.

Las sociedades tecnológicas implican la exposición a muchas sustancias naturales y sintéticas, algunas de las cuales han mostrado tener 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 (EPA 1986) y por razones obvias es prudente limitar en humanos las exposiciones a mutágenos ambientales.

Los pesticidas están dentro de 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 sustancias son de importancia económica incuestionable, sin embargo, se ha descrito que la constitución hereditaria de los organismos expuestos puede ser alterada (Wuu y Grant 1967b, Grant 1970, 1973, 1985, Pool *et al.* 1976), como se evidencia en los resultados obtenidos en este estudio, con oxamilo y tiodicarb sobre los cromosomas de linfocitos humanos en cultivo (Tablas I-IV y figuras 11-14).

Algunos de estos agentes químicos, no tienen un efecto inmediato, pero pueden constituir un riesgo genético a largo plazo para el hombre (Ahmed *et al.* 1977), por ello es importante el empleo de pruebas de detección rápida que además sean de manejo sencillo y de gran repetibilidad, que aporten datos de interpretación fácil, que sean confiables y que permitan evaluar el peligro potencial que implican para el ser humano.

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 distintos

sistemas de prueba para predecir la clastogenicidad de diversos compuestos (EPA 1986).

Las observaciones realizadas en este trabajo, después del tratamiento de los linfocitos humanos en cultivo con los insecticidas carbámicos oxamilo y tiodicarb, sugieren que efectivamente interrumpen la integridad cromosómica de estas células.

Con relación al fenómeno de ICH, como se menciona anteriormente se han propuesto varios modelos para explicar su origen.

La mayoría de esos modelos, son inconsistentes con las observaciones experimentales, el más aceptado es el esquema de Painter, el cual está de acuerdo con bases teóricas (estructura y replicación del ADN) y experimentales. Este se basa en la idea de que los rompimientos de doble hebra, o sea de cada hebra progenitora, ocurren frecuentemente en las conjunciones de grupos de replicones adyacentes durante su replicación. Es decir que el ICH se origina en el punto de coincidencia de un replicón completamente duplicado y otro parcialmente duplicado donde se provoca la lesión generándose así un ICH.

Este modelo se apoya en experimentos con agentes que inhiben la síntesis de ADN y bloquean la elongación de la cadena, tales como la mitomicina C, la luz UV y el benzo-a-pireno y predice que estos agentes que dañan al ADN en esta forma, son potentes inductores de ICH.

Este es uno de los mejores modelos propuestos para la formación del ICH y aunque tampoco se tienen evidencias directas del mismo, es de gran valor y presenta buenas expectativas desde el punto de vista molecular.

A pesar de las diversas opiniones sobre el mecanismo que origina el ICH, es evidente que estos tienen relación directa con el daño al ADN, la reparación y la mutagénesis; aunque el vínculo propuesto entre la producción de ICH en las plantas y los animales con el sistema de reparación post-replicación en bacterias es hasta ahora especulativo, ésta no deja de ser una hipótesis sumamente atractiva (Latt *et al.* 1980)

Aunque todavía no se conoce el significado biológico del ICH, el hecho de que se hayan observado en las células de todos los organismos estudiados, sugiere que son un fenómeno común y fundamental en las células (Tice y

Hollaender 1984). Por otro lado, es posible que éstos sean consecuencia de un proceso que permite a la célula dividirse, aun en presencia de lesiones en su ADN; de ser así puede existir una correlación entre el fenómeno y la mutación (Carrano y Thompson 1982), dado que las lesiones persistentes aumentarían la probabilidad de esta última en el ADN. Lo anterior tiene importancia respecto a la formación de las células cancerosas, debido a que hay pruebas que asocian la permanencia de lesiones en el ADN con la inducción de células malignas (Margison y Kleihues 1975).

A pesar de que los experimentos de autorradiografía de Kato (1974) indican que los mutágenos inducen ICH, no es sino hasta la introducción de la técnica dependiente de la 5-BrdU de Latt (1973), cuando se les considera como indicadores del potencial mutagénico y carcinogénico. De hecho, el ICH representa un método de gran sensibilidad para la detección de muchos mutágenos químicos en comparación con las AC y de acuerdo con Latt (1974b), la sensibilidad de la prueba es aproximadamente 10 veces mayor que el método estándar de AC y es necesario enfatizar que parecen no estar relacionadas entre sí y se llevan a cabo mediante mecanismos diferentes (Wolff 1982). La utilización del ICH como una alternativa de ensayo de genotoxicidad es iniciada con el extenso estudio de Perry y Evans (1975). Actualmente existen evidencias de que para muchos agentes químicos, el análisis de ICH proporciona el índice más sensible para detectar daño genético, debido a que se ha encontrado correlación entre la frecuencia de éstos y la concentración del mutágeno (Takehisa *et al.* 1982), como ocurre en este trabajo con el oxamilo y con el tiodicarb, en donde en términos generales se observa un incremento en la frecuencia de ICH al aumentar la concentración hasta 250 ppm para el primero y hasta 500 ppm para el último (Tablas I y II), aunque para 125 ppm de oxamilo se encuentra un índice menor que el obtenido a 62.5 ppm (Tabla I).

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).

Los estudios autorradiográficos iniciales establecen que la incorporación de la timidina tritiada en el ADN puede conducir al incremento del ICH. Experimentos subsecuentes (Perry y Evans 1975) demostraron que éstos podrían ser inducidos con una alta eficiencia por agentes alquilantes así como por colorantes que se unen al ADN. La característica común de estos compuestos y de muchos otros agentes que elevan las frecuencias de ICH, es una

acción directa o indirecta con el ADN, lo que altera la replicación del ADN ó posiblemente la estructura de la cromatina (Latt *et al.* 1981).

Un aspecto relevante desde el punto de vista de la mutagénesis de los pesticidas carbámicos, es su actividad alquilante (Gómez-Arroyo *et al.* 1992). Los agentes capaces de alquilar el ADN han sido extensamente estudiados como inductores de ICH. Una clara relación no ha emergido todavía entre la especificidad con la que reaccionan con el ADN, o el tipo de reparación desencadenada por estos compuestos y la relativa potencia con que el ICH se forma. Entre 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 provoca una amplia variedad de efectos biológicos de importancia a nivel 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 AC, ICH y muerte celular (Natarajan *et al.* 1984).

Se considera que los "huecos" ("gaps") en el ADN resultan de errores en la replicación ("mis-replication") de la hebra patrón alquilada, y que son los causantes de las alteraciones cromosómicas, pero las lesiones específicas de alquilación que forman 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 los efectos biológicos (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 informes sobre 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 compuestos.

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 Tatcher 1970, Beranek *et al.* 1980).

Ha sido establecida la correlación entre estas alquilaciones específicas y diferentes marcadores biológicos, su cinética y su acción mutagénica (Vogel y Natarajan 1979, 1982), la estabilidad de los aductos ADN-grupo alquilo (Den Engelse *et al.* 1986) y su reparación *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, Tannenbaum y Skipper 1984, Osterman-Golkar y Bergmark 1988, Perera 1988), pero aquellas lesiones involucradas en la producción de alteraciones cromosómicas, han sido ambigüamente identificadas (Connell y Medcalf 1982, Bonatti y Abbondandolo 1989) y se conoce poco sobre los mecanismos que causan esta clase de efectos (Bonatti *et al.* 1990).

Diferentes tipos de daño son inducidos en el ADN dependiendo del agente mutagénico empleado (Darrondi *et al.* 1989). Los alquilantes reaccionan con una variedad de sitios nucleofílicos en el ADN y en las 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 alteraciones cromosómicas (Schwartz 1989).

La principal lesión alquilante que se conoce que impide la duplicación es el aducto 3-metil adenina (Larsson *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 proseguir 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 genotóxica se desconoce. El aducto no bloquea la síntesis del ADN, de tal manera que no genera de manera directa algún "hueco" (Larsson *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 alteraciones y letalidad (Bonatti *et al.* 1985), aunque no existen evidencias directas que apoyen esta hipótesis (Schwartz 1989, Bonatti *et al.* 1990).

La remoción enzimática del daño inducido por alquilación en células vivas se realiza principalmente a 3 niveles: (1) des- o trans-alquilación 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 rompimientos 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.

Asimismo, 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 período en particular estudiado (Beranek 1990).

Por otra parte, la proliferación celular 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), como algunas sustancias tales como los nucleósidos de adenina, la azaserina, el bromuro de etidio y la cicloheximida, 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, tales 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 G₁ ó S), así como la separación de las cromátidas (en G₂), 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).

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

En el caso del oxamilo, se observa aumento en la inducción de ICH con el incremento de las concentraciones (Tabla I y figura 11) y por otro lado, alteración en el IR (Tabla III). Las modificaciones en las proporciones de M₁, M₂ y M₃, en los cultivos tratados con diferentes concentraciones de este insecticida fueron significativas, aunque no se encontró una relación con el incremento de éstas (Tabla III). El decremento en el IR de los linfocitos en proliferación fue observado desde la concentración mas baja, 62.5 ppm hasta 250 ppm.

Efectos similares han sido informados con otros pesticidas carbámicos así como organofosforados. Una concentración de 10 µg/ml de carbendazim, afecta la duración del ciclo celular, ya que la frecuencia de M₁ fue significativamente reducida al igual que el correspondiente IR (Singh y Sandhu 1991). Se sospecha que el grupo metil carbamato del carbendazim juega un papel importante en la inhibición de la formación del huso, ha sido reportado como formador de complejos con subunidades proteicas resultando en la producción de metafases anormales, inducción de puentes, C mitosis, cromosomas con centrómero inactivado, poliploidias y micronúcleos (Grover *et al.* 1988, Pandita *et al.* 1988) y de igual manera se encontró capaz de provocar muerte celular y retraso del ciclo celular.

El derivado nitroso del aldicarb causa un ligero decremento en la progresión mitótica de las células en cultivo. Las células tratadas con este insecticida presentan un retraso en el ciclo celular, como lo evidencia la

disminución en la cantidad de células en M_3 y el incremento de M_1 (González-Cid *et al.* 1988).

La mayoría de los organofosforados provocan retraso del ciclo celular. Amaze, metil azinfos, bolstar, DEF-desfoliador, fenetion, monitor y nemaetur, disminuyen el IR, que no necesariamente se correlaciona con la inducción de ICH. Metil azinfos no intensifica el ICH, sin embargo fue altamente tóxico y redujo drásticamente el IR, por otro lado, el metil oxidemeton aumenta de manera significativa el ICH pero no retrasa el ciclo celular (Chen *et al.* 1982).

Chen *et al.* (1981), reportan un incremento relacionado con la concentración del retraso del ciclo celular con metil paration en las líneas celulares de criceto chino V79 y en linfocitos humanos

Fenetion fue el único compuesto que origina elevación de ICH y también un decremento substancial del IR.

En el caso de los compuestos analizados en este trabajo, los dos incrementan la frecuencia de ICH, pero solo el oxamilo, tiene efecto sobre la proliferación celular, observándose mayor cantidad de células M_1 , y disminuye las M_2 y M_3 , al igual que el IR respectivo (Tabla III y figura 13). Por medio de la prueba de "ji cuadrada", se encuentra que las variaciones en los IR son significativas cuando se comparan con el testigo.

En adición a la inducción de ICH, el retraso en el ciclo y la muerte celular pueden ser evidencia del daño biológico causado por agentes químicos (González-Cid y Matos 1984).

La actividad alquilante de los pesticidas carbámicos no solo puede estar afectando al ADN, sino también a grupos proteicos, de tal manera que no es factible encontrar únicamente daños a nivel genético, evidenciados a través de la inducción de ICH (Tablas I y II), sino también otro tipo de alteraciones biológicas como serían los efectos sobre la proliferación celular como sucede con el oxamilo en el presente estudio (Tabla III).

Edmunds (1964), ha demostrado que al impedir 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 sitios apurínicos como la N³-metiladenina intacta, son capaces de suprimir la replicación del ADN *in vitro* (Sagher y Strauss 1983, Larsson *et al.* 1985). Posiblemente en el caso del oxamilo un mecanismo similar ocurre por su parte alquilante.

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 como de las proteínas, reprimen también la proliferación de las células (Donnelly y Siskin 1967, Mueller 1969, Webster y Van't Hof 1970).

Se ha encontrado que en adición o como consecuencia de cambios estructurales provocados por agentes alquilantes, se inducen alteraciones funcionales en varios niveles 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 el probable efecto del oxamilo sobre la cantidad total de metafases de primera división y sobre la proliferación celular (Tabla III y figura 13) ya que a concentración de 500 ppm solo se encuentran células en interfase y a 1000 ppm se provocó muerte celular.

Existen diferencias entre los agentes alquilantes y sus efectos sobre el material genético. Esta situación es evidenciada en el presente trabajo con el oxamilo y el tiodicarb dos agentes químicos similares, que son mutagénicos, en las mismas condiciones de estudio, pero sus efectos a nivel biológico difieren ya que uno altera el IR desde la concentración más baja y el otro no lo hace, aunque ambos provocan la muerte celular a 1000 ppm (Tablas I-IV y Figuras 11-14)

Se ha descrito 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).

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 desigual de los compuestos, gobernada por la estructura de la molécula.

Por otra parte, se sabe que además del tamaño de la molécula, existen otros factores que afectan la difusión de una sustancia a través de la membrana, tales como el coeficiente de partición, la solubilidad en lípidos y la polaridad, que parecen ser otros factores que influyen en su actividad biológica (Wolfe 1981).

Algunos insecticidas organofosforados tienen la capacidad de afectar las membranas celulares, modificando así su permeabilidad y probablemente a bajas concentraciones del plaguicida la permeabilidad de las membranas celulares cambia siendo menos selectiva, pudiendo penetrar éste. Dentro de la célula se acumula y como no se excreta fácilmente produce alta toxicidad y muerte celular evitando la expresión del daño genético (Gómez-Arroyo *et al.* 1987).

Los agentes alquilantes pueden penetrar a 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 posiblemente influyen 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 Rubland 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 Rubland 1984).

La causa de las respuestas diferentes en este efecto citotóxico del oxamilo y del tiodicarb puede ser muy variada. Si se analizan las estructuras de sus respectivas moléculas (Anexos 3 y 6), se observa que las variantes que se encuentran entre estas son los radicales R, R' y R" (Fig. 2). De alguna manera, puede ser que estos radicales influyan en la capacidad citotóxica de estos compuestos y de ahí sus efectos distintos.

Ambos insecticidas fueron eficaces en la inducción de ICH y capaces de provocar la muerte celular a altas concentraciones. Basados en estas observaciones estos plaguicidas pueden ser clasificados como mutagénicos y altamente tóxicos. En vista de que estos pesticidas son ampliamente utilizados en la agricultura y representan un riesgo genético potencial para las personas expuestas es recomendable regular su uso.

REFERENCIAS

- Abe S. 1984. SCE induction by indirect mutagens/carcinogens in metabolically active culture mammalian cell lines. En: Tice R.R y Hollaender A. (Eds.) *Sister Chromatid Exchanges*. Plenum Press, Nueva York. pp 535-545.
- 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) 1985. La industria Agroquímica. Capítulo IX. Asociación Nacional de la Industria Química, Mexico, 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.
- Auerbach C. 1967. The chemical production of mutations. *Science* **158**: 1141-1147.

- 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.
- Barberá C. 1976. *Pesticidas Agrícolas*. 3a edición. Omega, Barcelona, pp. 201-219.
- 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.
- Bender M.A., Griggs H.G. y Bedford J.S. 1974. Recombinational DNA repair and sister chromatid exchanges. *Mutat. Res.* 24: 117-123.
- 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.
- Behrman R.E., Vaughan V.C. y Nelson W.E. 1986. *Tratado de Pediatría*, 9a Edición, Editorial Iberoamericana, México, pp. 139-190.
- Blevins R.D., Lee M. y Regan J.D. 1977a. 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. 1977b. 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.* **340 B**: 237-246.
- Brendel M. y Ruhlman A. 1984. Relationships between functionality and genetic toxicology of selected DNA-damaging agents. *Mutat. Res.* **133**: 51-85.
- 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.
- 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 protected 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.
- Carrano A.V. y Thompson L.H. 1982. Sister chromatid exchanges and single gen mutation. En: S.Wolff (Ed.), *Sister Chromatid Exchange*. Willey, Nueva York, pp. 59-86.

- Chen H.H., Sirianni S.R. y Huang C.C. 1982. Sister chromatid exchanges and cell-cycle delay in Chinese hamster V79 cells treated with 9 organophosphorus compounds (8 pesticides + defoliant). *Mutat. Res.* **103**: 307-313.
- Chen H.H., Hsueh J.L., Sirianni S.R. y Huang C.C. 1981. Induction of sister chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. *Mutat. Res.* **88**: 307-316.
- Chiras D.D. 1991. *Environmental Science. Action for a Sustainable Future*. 3a. edición, Benjamin Cummings Pub., California, pp. 401-422.
- Colvin M. 1981. Molecular pharmacology of alkylating agents. *Cancer and Chemotherapy* **3**: 287-302.
- 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 cell by N-metyl-N-nitrosourea and dimethyl sulfate. *Carcinogenesis* **3**: 385-390.
- Craig-Holmes A.D. 1977. Effects of 6 carcinogens on SCE frequencies and cell kinetics in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* **46**: 375-384.
- Cremlyn R.J.W. 1978. *Pesticides: Preparation and Mode of Action*. Cap. 1. *Introduction*. Willey, Nueva York, pp. 1-11.
- Crossen P.E. y Morgan W.F. 1977. Proliferation of PHA stimulation lymphocyte measured by combined autoradiography and sister chromatid differential staining. *Exp. Cell Res.* **118**: 423-426.
- 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.
- Debuyst B. y Larebeke N.V. 1983. Induction of sister chromatid exchanges in human lymphocytes by aldicarb, thiophanox and methomyl. European Environmental Mutagen Society (abstract). *Mutat. Res.* **113**: 242-243.
- 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.
- 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.
- Du Pont. 1994. 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. *Ann. Rev. Entomol.* **17**: 123-148.
- Dutrillaux B. y Fosse A.M. 1976. Utilization du BrdU dans l'estude du cycle cellulaire de sujets normaux et anormaux. *Am. Genet.* **19**: 95-102.
- 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-naphthylcarbamate (carbaryl). *Food Cosmet. Toxicol.* **13**: 365-367.
- Eisenbrand G., Schmall 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., 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 J.H. y O'Riordan M.L. 1975. Human peripheral blood lymphocytes for analysis of chromosome aberrations in mutagens test. *Mutat. Res.* **31**: 135-148.

- 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.
- Flanders P. 1981. Inductible repair of DNA. *Sci. Am.* 242: 56-77.
- Fleer R. y Brendel M. 1979. Formation and fate of crosslinks induced by polyfunctional anticancer drugs in yeast. *Mol. Gen. Genet.* 176 : 41-52.
- Gentil A., Renault G. y Kinsella A. 1984. Induction of sister chromatid in split-dose and cell-fusion experiments. En: Tice R.R. y Hollaender A. (Eds). *Sister Chromatid Exchanges*. Plenum Press, Nueva York, pp. 469-476.
- Gentile J., Gentile G., Bultman J., Sechrist 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.
- 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.
- Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N., Juárez-Rodríguez D. y Villalobos-Pietrini R. 1987. Sister chromatid exchanges induced by the organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, phoxim and methyl azinfos in cultured human lymphocytes. *Contam. Ambient.* 3: 63-70.
- Gómez-Arroyo S., Rodríguez-Madrid L. y Villalobos-Pietrini R. 1992. Chromosomal alterations induced by the thiocarbamate herbicide molinate (ordram) in *Vicia faba*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 8: 77-80.
- 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**: 9-103.
- González-Cid M., Loria D y Matos E. 1988. Nitroso-aldicarb induces sister chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro*. *Mutat. Res.* **204**: 665-668.
- Grant W.F. 1970. Pesticides and heredity. *Macdonald Journal* **31**: 211-214.
- Grant W.F. 1973. Mutagenic effects of environmental chemicals. *Can. J. Genet. Cytol.* **15**: 658.
- 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
- Grover I.S., Dhingra A.K., Adhikari N. y Ladhar S.S. 1988. Genotoxicity of pesticides. A comparative study using a battery of assays. *Nucleus* **31**: 69-77.
- 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.
- 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. 1987a. 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. 1987b. 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.

- Holliday R.A. 1964. A mechanism for gene conversion in fungi. *Genet. Res.* **5**: 282-304.
- 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.
- Ishii Y. y Bender M.A. 1978. Factors influencing the frequency of mitomycin C-induced sister chromatid exchanges in 5-bromodeoxyuridine substituted lymphocytes in culture. *Mutat. Res.* **51**: 411-418.
- Ishii Y. y Bender M.A. 1980. Effects of inhibitors of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* **79**: 19-32.
- Ivett J.L. y Tice R.R. 1982. Average generation time: a new method of analysis and quantitation cellular proliferation kinetics. *Environ. Mutagen.* **4**: 358.
- Jasinska J. Steffen J. y Michaelowski A. 1970. Studies on *in vitro* lymphocyte proliferation in cultures synchronized by inhibition of DNA synthesis. II. Kinetics of initiation of proliferative response. *Exp. Cell Res.* **61**: 333-341.
- Kaczmarek L., Calabretta B., Elfenbein I.B. y Mercer E. 1987. Cell cycle analysis of human peripheral blood T lymphocytes in long-term culture. *Exp. Cell Res.* **173**: 70-79.
- Kato H. 1974. Spontaneous sister chromatid exchanges detected by BrdU-labelling method. *Nature* **251**: 70-72.
- Kato H. 1977 Mechanism for sister chromatid exchanges and their relation to the production of chromosomal aberrations. *Chromosoma (Berl)* **59**: 179-191.
- Kato H. 1980. Evidence that the replication point in the site of sister chromatid exchanges. *Cancer Genet. Cytogenet.* **2**: 69-70.

- Kihlman B.A. 1966. *Actions of Chemicals on Dividing Cells*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, Nueva Jersey, pp. 260.
- Kihlman B.A. 1977. *Caffeine and Chromosomes*. Elsevier, Amsterdam.
- Kinsella A.R. y Radman M. 1978. Tumor promotor induces sister chromatid exchanges: relevance of carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 75: 6149-6153.
- Kligerman A.D., Erexon G.L. y Wilmer J.L. 1984. Development of rodent peripheral blood lymphocyte culture systems to detect cytogenetic damage *in vivo*. En: Tice R.R. y Hollaender A. (Eds.) *Sister Chromatid Exchanges*. Plenum Press, Nueva York, pp. 569-584.
- 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 G₁/S population. *Radiat. Res.* 48: 95-106.
- Krishna G., Xu J., Nath J., Petersen M. y Ong T. 1985. *In vivo* cytogenetic studies on mice exposed to ethylene dibromide. *Mutat. Res.* 158: 81-87.
- Lambert B., Lindblad A., Holmberg K. y Francesconi, D. 1982. The use of sister chromatid exchange to monitor human populations for exposure to toxicologically harmful agents. En: S. Wolff (Ed.), *Sister Chromatid Exchange* Willey, Nueva York, pp. 149-182.
- Larsson K.S., Amander C., Cekanova E. y Kjellberg M. 1976. Studies of teratogenic effect of the dithiocarbamates maneb, mancozeb and propineb. *Teratology* 14: 171-18.
- Larsson K.S., Salm J., Shenkar R. y Strauss B. 1985. Methylation-induced blocks to *in vitro* DNA replication. *Mutat. Res.* 150: 77-84.

- Latt S. A. 1973. Microfluorometric detection of DNA replication in human metaphase chromosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **70**: 3395-3399.
- Latt S.A. 1974a. Detection of DNA synthesis in interphase nuclei by fluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* **62**: 546-550.
- Latt S.A. 1974b. Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin-C. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **71**: 3162-3166.
- Latt S.A. 1982. Sister chromatid exchanges: new method for detection. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchanges*. Willey, Nueva York, pp. 17-40.
- Latt S.A., Stetten G., Juergens L.A., Buchanan J.R. y Gerald P.S. 1975. Induction by alkylating agents of sister chromatid exchanges and chromatid breaks in Fanconi's anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* **72**: 4066-4070.
- Latt S.A., Schreck R.R., Loveday K.S., Dougherty Ch. P. Y Shuler Ch.F. 1980. **Progress in Human Genetics**. Symposium, Nueva York, pp. 267-331.
- Latt. S.A., Allen J., Bloom S.E., Carrano A. Falke E., Kram D., Schneider E., Schreck R., Tice R., Whitfield B. y Wolff S. 1981. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound. *Science* **205**: 1273-1275.
- 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.

- Lerner R.A. y Dixon F.J. 1973. The human lymphocyte as an experimental animal. *Sci. Am.* 228: 82-91.
- 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.
- Lijinsky W. y Schmäll D. 1978. Carcinogenicity of N-nitroso derivatives of N-methylcarbamate insecticides in rats. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 2: 413-419.
- Ling N.R. y Kay J.E. 1975. *Lymphocyte Stimulation*. 2a Ed. North Holland Publ., Amsterdam.
- Marshall E. 1985. The rise and decline of temik. *Science* 229: 1369-1371.
- Margison G.P. y Kleihues P. 1975. Chemical carcinogenesis in the nervous system: preferential accumulation of O6-methylguanine in rat brain DNA during repetitive administration of N-methyl nitrosourea. *Biochem J.* 148: 521-525.
- Mattem N.R. y Painter R.B. 1979. Dependence of mammalian DNA replication on DNA supercoiling. II. Effects of novobiosin on DNA synthesis in Chinese hamster cells. *Biochem. Biophys. Acta* 563: 306-312.
- Mayer V.W. y Flamm W.G. 1975. Legislative and technical aspects of mutagenicity testing. *Mutat. Res.* 29: 295-300
- 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.
- Meselson M. y Stahl F.W. 1958. The replication of DNA in *E. coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 44: 671.

- Morgan W.F. y Cleaver J.E. 1982. 3-amine benzamide synergistically increases sister chromatid exchanges in cells exposed to methane sulfonate but not to ultraviolet light. *Mutat. Res.* **104**: 361-366.
- Morgan W.F. y Wolff S. 1984. Effect of bromodeoxyuridine on induced sister chromatid exchanges. En: Tice R.R. y Hollaender A. (Eds.) *Sister Chromatid Exchanges*. Plenum Press, Nueva York, pp. 281-293.
- 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.
- Mueller G.C. 1969. Biochemical events in the animal cell cycle. *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.* **26**: 1780-1789.
- Nakanishi Y. y Schneider E.L. 1979. *In vivo* sister chromatid exchanges: a sensitive measure of DNA damage. *Mutat. Res.* **60**: 329-337.
- 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.
- Oikawa A., Thoda H., Kanai M., Miwa M. y Sugimura T. 1980. Inhibitors of poly(adenosine, diphosphate ribose) polymerase induce sister chromatid exchanges. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **97**: 1311-1316.
- 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.

- Painter R.B. 1982. A replication model for sister chromatid exchanges. En: Sandberg A.A. (Ed.). *Progress and Topics in Cytogenetics Sister Chromatid Exchange*. Alan Liss, Nueva York, Vol. 2, pp. 115-121.
- Pandita T.K. 1983. Mutagenic studies on the insecticide metasystox-R with different genetic systems. *Mutat. Res.* **124**: 97-102.
- Pandita T.K. 1988. Assessment of the mutagenic potential of a fungicide bavistin using multiple assays. *Mutat. Res.* **204**: 627-643.
- Perera F.P. 1988. The significance of DNA and protein adducts in human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* **205**: 255-269.
- Perry P.I. y Wolff S. 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* **251**: 156-158.
- Perry P.I. y Evans H.J. 1975. Cytological detection of mutagen, carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* **258**: 121-124.
- 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.
- Rainaldi R. y Mariani T. 1982. The distribution of induced sister chromatid exchanges: a tool for identifying agents directly interacting with DNA. *Mutat. Res.* **103**: 333-337.
- Rasquinha I.A., Wildeman A.G. y Nassar R.N. 1988. Studies on the use of plant extracts in assessing the effects of the plant metabolism on the mutagenicity and the toxicity of pesticides. *Mutat. Res.* **197**: 261-272.
- 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.
- Sarasin A. 1982. El cáncer y la reparación del ADN. *Mundo Científico* 1: 724-737.
- Schmähl D. 1986. Carcinogenicity of anticancer drugs and specially alkylating agents. En: D. Schmähl y J.M. Kaldor (Eds.). *Carcinogenicity of Alkylating Cytostatic Drugs*. IARC Sci. Publ. 78: 143-146.
- Schwartz J.L. 1989. Monofunctional alkylating agent-induced S-phase-dependent DNA damage. *Mutat. Res.* 216: 111-118.
- Schwartz J.L., Banda M.J. y Wolff S. 1982. 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA) induce sister chromatid exchanges and delays in cell progression in Chinese hamster ovary and human cell lines. *Mutat. Res.* 92: 393-397.
- Seiler J.P. 1977. Nitrosation *in vitro* and *in vivo* by sodium nitrite, and mutagenicity of nitrogenous pesticides. *Mutat. Res.* 48: 225-236.
- Shafer D.A. 1982. Alternative replication bypass mechanism for sister chromatid exchanges. En Sandberg A.A. (Ed.). *Progress and Topics in Cytogenetics Sister Chromatid Exchanges*. Alan Liss, Nueva York, Vol. 2 pp. 67-97.
- 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., Tezuka H., Teramoto S., Ohata T. e Inoue I. 1982. Mutagenicity screening studies on pesticides. *Environ. Mutagen. Carcinogen. Proceedings 3rd. Int. Conf. (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.

- Singer B. 1985. *In vivo* formation and persistence of modified nucleosides resulting from alkylating agents. *Environ. Health Perspect.* **62**: 41-48.
- Singh J.R. y Sandhu D.K. 1991. *In vitro* cytogenetic effects of aflatoxin on human lymphocytes with and without metabolic activation. *Cytologia* **56**: 333-341.
- Takehisa S. 1982. Induction of sister chromatid exchanges by chemical agents. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchange*. Willey, Nueva York, pp. 87-148.
- Takehisa S., Kanaya N. y Rieger R. 1982. Induction of SCEs in CHO cells by extracts from *Vicia faba* roots exposed to ethanol. *Mutat. Res.* **105**: 169-174.
- 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.
- Taylor J.H., Woods P.S. y Hughes W.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **43**: 122-128.
- Tice R.R. y Hollaender A. (Eds.) 1984. *Sister Chromatid Exchanges: 25 years of Experimental Research. Part A: The Nature of SCEs*. Plenum Press, Nueva York.
- Tice R.R., Chaillet J. y Schneider E.L. 1975. Evidence derived from sister chromatid exchanges of restricted rejoining of chromatid subunits. *Nature* **256**: 642-643.
- Tice R.R., Schneider E.L. y Rary J.M. 1976. The utilization of bromodeoxyuridine incorporation into DNA for the analysis of cellular kinetics. *Exp. Cell Res.* **102**: 232-236.
- 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.
- Unión Carbide 1994. El insecticida tiodicarb. El insecticida ideal. Manual técnico, México, 52 pp.
- Upshal A. y Johnson P.E. 1981. Thiram induced abnormal chromosome segregation in *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res.* **48**: 225-236.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Aroyo S. y Villalobos-Pietrini R. 1993. Cytological effects of some carbamate insecticides. I. Methomyl and oxamyl in *Vicia faba*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **9**: 65-69.
- 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 eukaryotic systems. Interspecies comparisons. En: F.J. de Serres and A. Hollaender (Eds.). *Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection*. Plenum Press, Nueva York, Vol. 7, pp. 295-336.
- Watson J.D. y Crick F.H.C. 1953. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**: 137.
- 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: requirements for RNA and protein synthesis. *Amer. J. Bot.* **57**: 130-139.
- Wolfe S.L. 1981. *Biology of the Cell*. Woodswarth Pub., Belmont, pp. 248-432.

- Wolff S. 1977a. Chromosome effects induced by low levels of mutagens. *Research in Photobiology*. Plenum Press, Nueva York, pp. 721-732.
- Wolff S. 1977b. Sister chromatid exchanges. *Ann. Rev. Genet.* *11*: 183-201.
- Wolff S. 1982. Chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and lesions that produced them. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchanges*. Willey, Nueva York, pp. 43-86.
- World Health Organization 1984-1985. Recommended classification of pesticides by hazard. VBC 184.2., Genova, pp. 1-30.
- World Health Organization 1986. Carbamate pesticides: a general introduction. *Environ. Health Crit.* No. 64, pp. 11-17.
- 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. 1967a. Chromosomal aberrations induced by pesticides in meiotic cells of barley. *Cytologia* *32*: 31-41.
- Wuu K.D. y Grant W.F. 1967b. 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.
- Yukimasa S. 1977. Some critical studies on the sister chromatid exchanges in human chromosomes. *Proc. Japan Acad. Sci.* *53*: 272-275.
- 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.

Handwritten text or signature.

Handwritten text or signature.

Handwritten text or signature.

TABLA I

INDUCCIÓN DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS*
 EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO DE 72 HORAS
 TRATADOS CON OXAMILO

Concentración ppm	N	EE	ICR	Valor de "T"
0	3.92	0.51		
12.5	3.00	0.51		3.77 **
125	6.28	0.51		2.74 *
250	9.08	0.58		4.30 **
500	INHIBICIÓN DE LA DIVISIÓN CELULAR			
1000	MUERTE CELULAR			

- * Un 50 metáfases (en dos experimentos)
- * Significativo (P < 0.05)
- ** Significativo (P < 0.001)
- † 25 metáfases

TABLA II
 INDUCCION DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS *
 EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO DE 72 HORAS
 TRATADOS CON THIODICARB

Concentración (μ M)	N	EE	ICH	Valor de "t"
0	4.08	0.30		
1.00	6.70	0.32		3.06 *
5.00	8.02	0.52		4.80 *
10.00			MUERTE CELULAR	

* En 50 metafases (en dos experimentos)

* Significativo (P < 0.001)

TABLA III
 EFECTOS SOBRE LA PROLIFERACION CELULAR
 EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO DE 72 HORAS
 TRATADOS CON ONANILLO

Concentración µg/ml	Metáfases			IR	Z ²
	As	Ca	Ca		
0	66	52	32	2.08	
21.3	117	44	24	1.70	n
118	174	52	32	1.50	n
280	24	42	64	1.85	n
500					
1000					

* Significativo p < 0.05
 † Metáfases comparadas

INHIBICION DE LA DIVISION CELULAR
 MUERTE CELULAR

TABLA IV
 EFECTOS SOBRE LA PROLIFERACION CELULAR
 EN LINFOCITOS HUMANOS EN CULTIVO DE 72 HORAS
 TRATADOS CON TIODICARB

Concentración ppm	Metafasas			HC	2 ⁺
	1h	2h	3h		
0	48	62	88	2.20	
100	50	59	91	2.11	
500	45	63	92	2.25	1/10
1000		MUERTE CELULAR			1/10

1H No significativas.
 2H Metafasas consecutivas

W. J. H. VAN



Figura 1. El ácido carbónico es el esqueleto de los carbonatos.



Figura 2. Fórmula general de los ácidos dicarboxílicos.

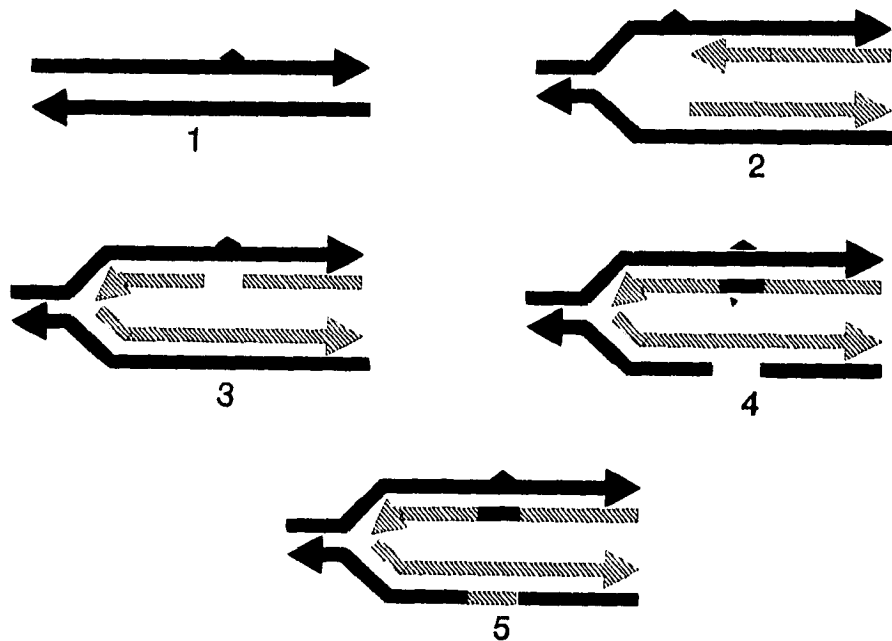


Figura 4. Modelos de reparación post-replicación para explicar el origen de HCH (Sawada 1982)

- 1) Producción de la lesión
- 2) Bloqueo de la replicación del ADN
- 3) Reinicio de la replicación del ADN
- 4) Reparación por recombinación
- 5) Síntesis del ADN sobre la zona deficiente, producción de HCH

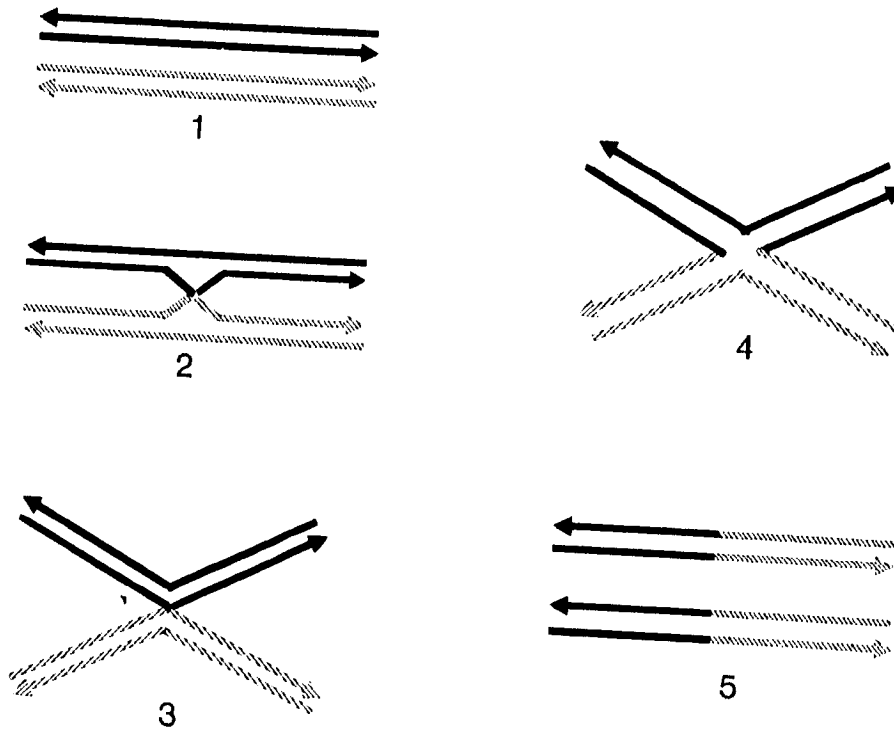


Figura 5. Modelo de recombinación genética de Holliday (1964) propuesto por Kato (1974) para la formación de los CHH

- 1) Cadenas apareadas con las bandas homólogas.
- 2) Intercambio de banda sencilla en bandas del mismo sentido.
- 3) Plegamiento y rotación de las dos cadenas en la zona de recombinación.
- 4) Formación de la estructura de Holliday equivalente a la estructura CHH observada recientemente al microscopio electrónico.
- 5) Separación de las cadenas después de la recombinación de doble banda.

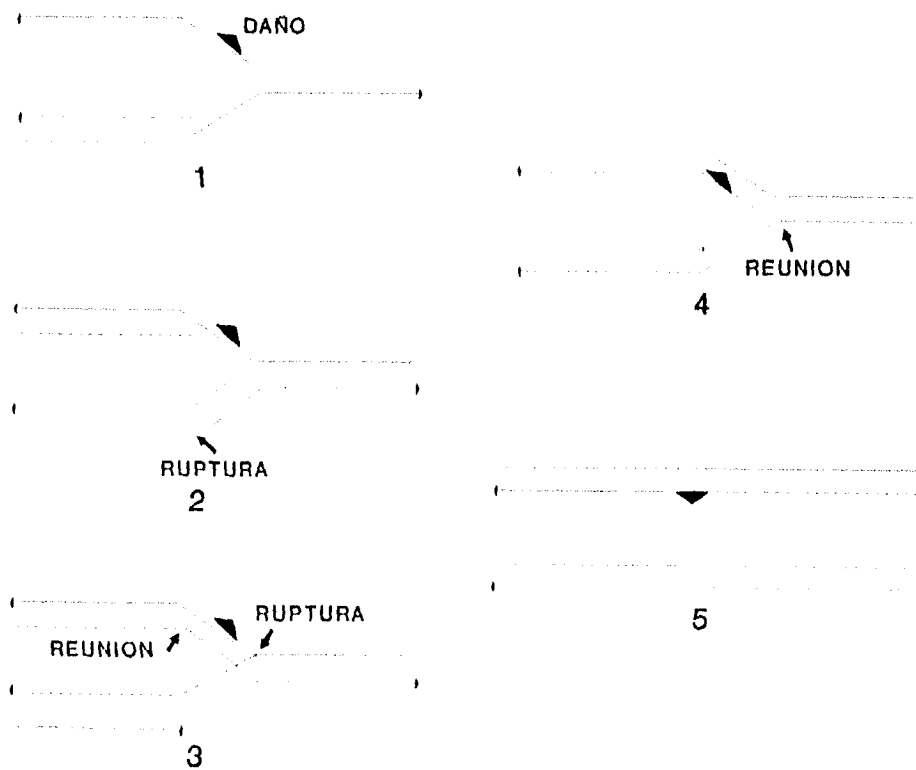


Figura 6. Modelo de desinición duplicadora
(Ishii y Bender 1986)

- 1) Horquilla de replicación del ADN a nivel de una región.
- 2) Rompimiento de la banda progenitora no dañada después de ser copiada a nivel del sitio del daño.
- 3) Reasociación de la banda progenitora que no tiene el daño, originando un intercambio de banda y ruptura de la banda progenitora.
- 4) Reasociación de la banda con el daño con la banda equivalente recién sintetizada.
- 5) Separación de las cadenas después del intercambio de doble banda.

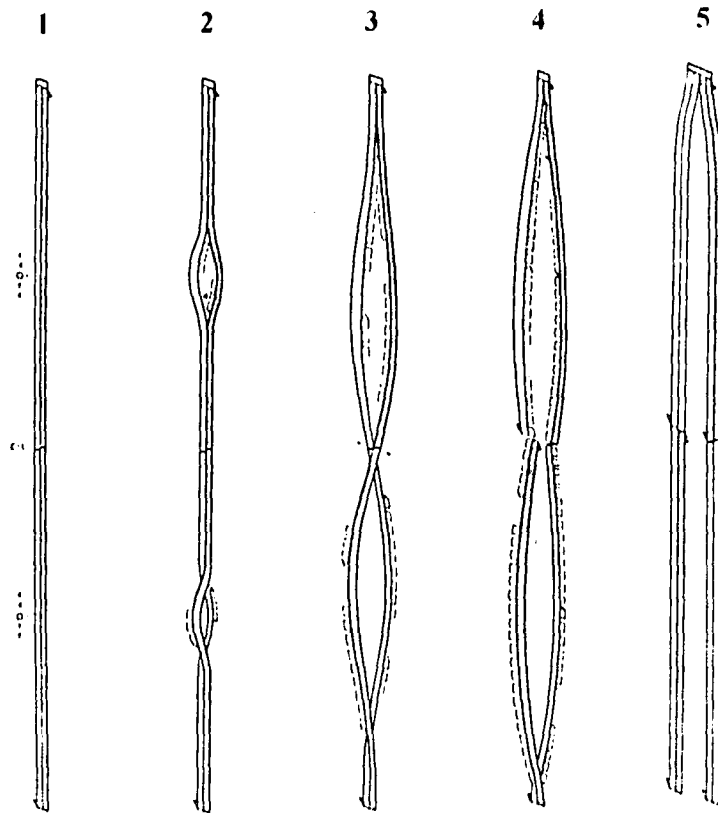
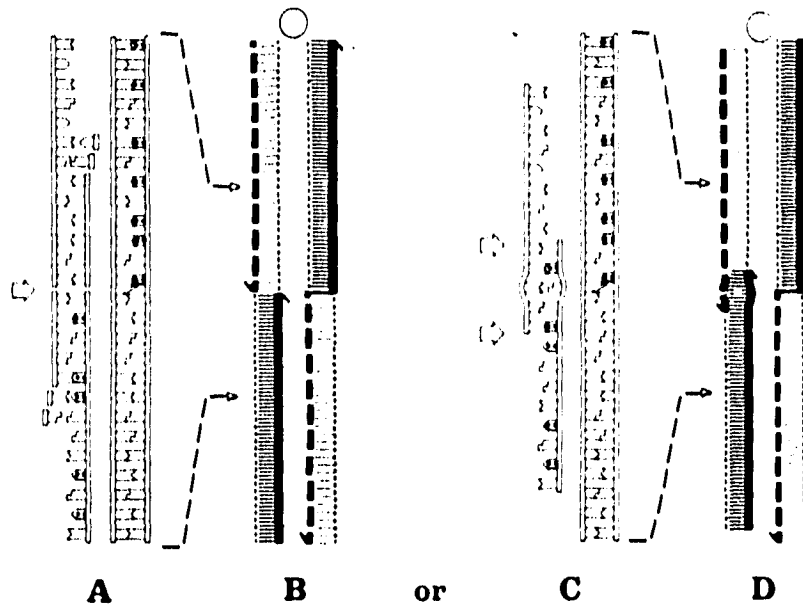


Figura 7. Mecanismo de desviación de la replicación para la formación de un ICH inducido por un enlace cruzado, vía formación de fragmentos de Okasaki (Shafer 1982)

- 1) C-L (enlace cruzado) y puntos de origen de la replicación.
- 2) La replicación bidireccional avanza hacia un enlace cruzado desde dos puntos de origen, con un curso de replicación 3' → 5' a lo largo de las hebras progenitoras.
- 3) El punto de estres (flechas) para incisiones enzimáticas o bioquímicas estaría en las hebras retrogradadas en posiciones 5' contralaterales del enlace cruzado.
- 4) Como se ilustra aquí los extremos libres pueden reunirse por unión terminal vía la formación de nuevos fragmentos de Okasaki retrogradados.
- 5) La complementación de la replicación produce un efecto de ICH que lleva el enlace cruzado intacto para su subsecuente reparación



**Figura 8. Proceso alternativo de reunión
(Shafer 1982)**

La reunión podría ocurrir por unión terminal (A, B), o por complementación del heteroduplex (C, D) en el cual los extremos libres "pegajosos" se sobrelapan. Este último proceso podría ocurrir más fácilmente en las regiones de ADN repetido, resultando un mal apareamiento de bases o pérdida de ellas, en una célula hija en la siguiente generación.

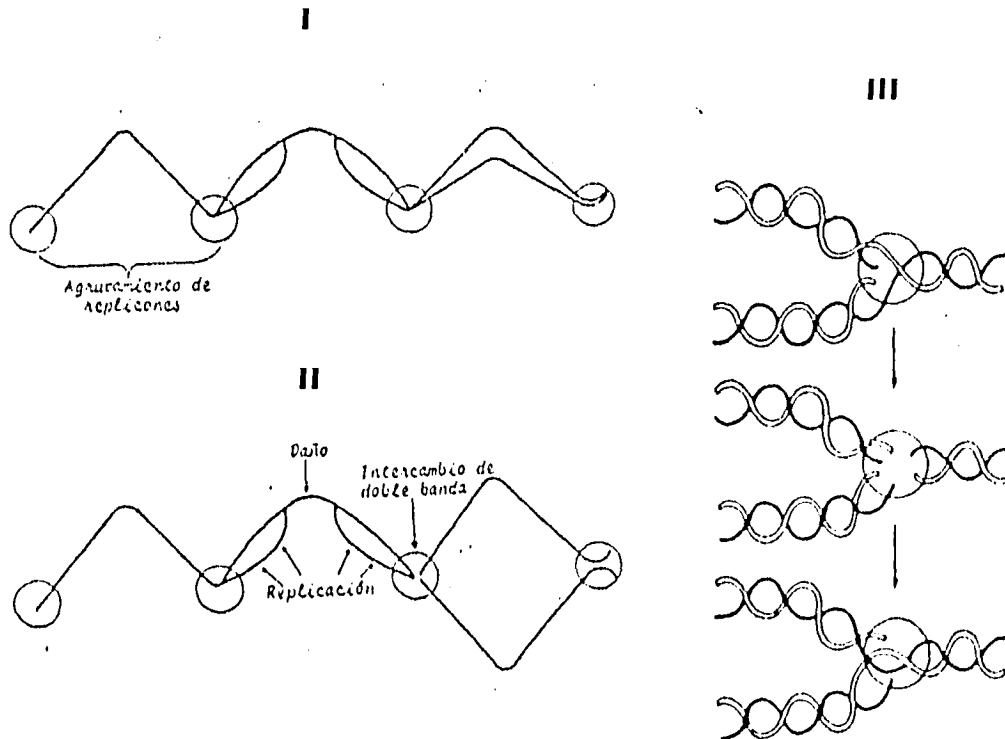


Figura 9. Modelo de inducción de ICH de Painter (1980)

- I** Progresión de la duplicación del ADN entre los agrupamientos de replications (círculos) que separan replicones subsecuentes.
- II** Retardo en la duplicación debido a daño, e incremento de la posibilidad de intercambio de doble banda.
- III** Ruptura de doble banda y reunión de la banda hija de la molécula replicada a la molécula no replicada dando lugar al intercambio de doble banda.

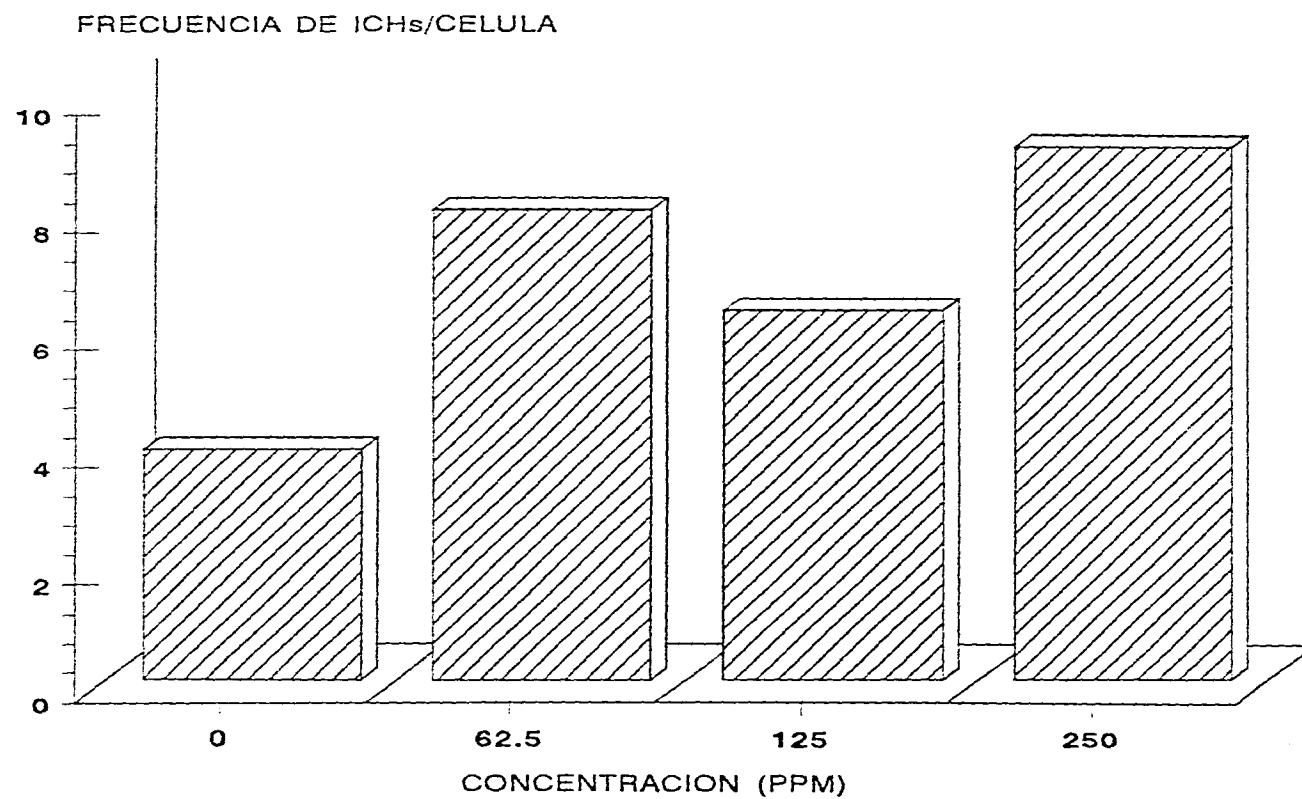


Figura 11. Intercambio de cromátidas hermanas, inducidos por oxamilo, en cultivo de linfocitos humanos.

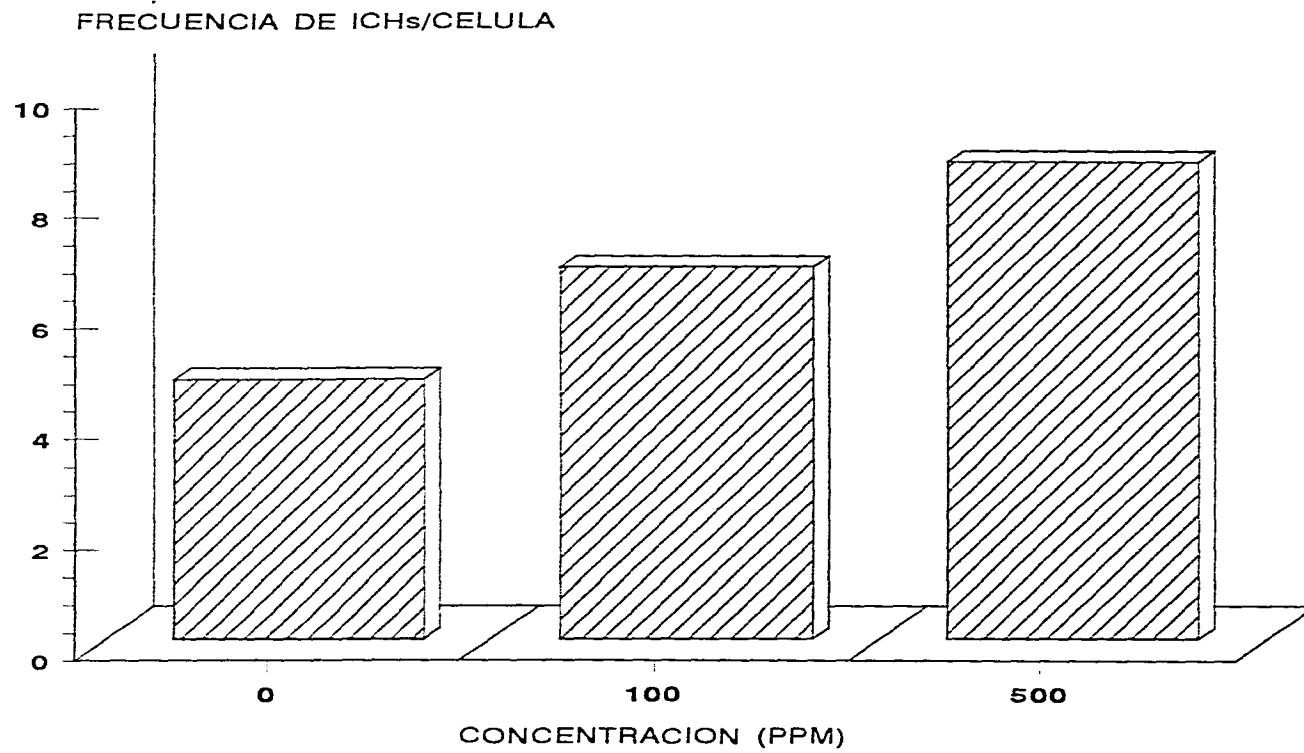


Figura 12. Intercambio de cromátidas hermanas, inducidos por tiodicarb, en cultivo de linfocitos humanos.

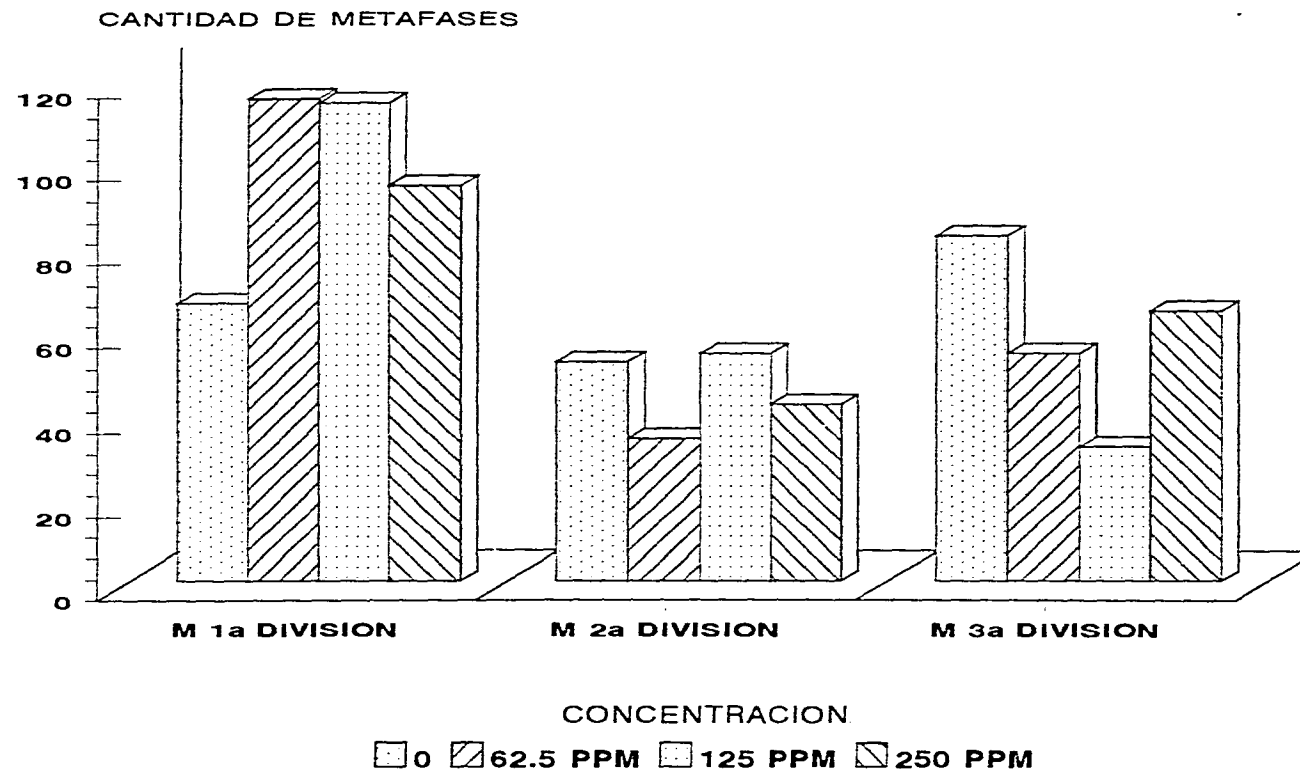


Figura 13. Efectos sobre la proliferación celular, inducidos por oxamilo, en linfocitos humanos en cultivo.

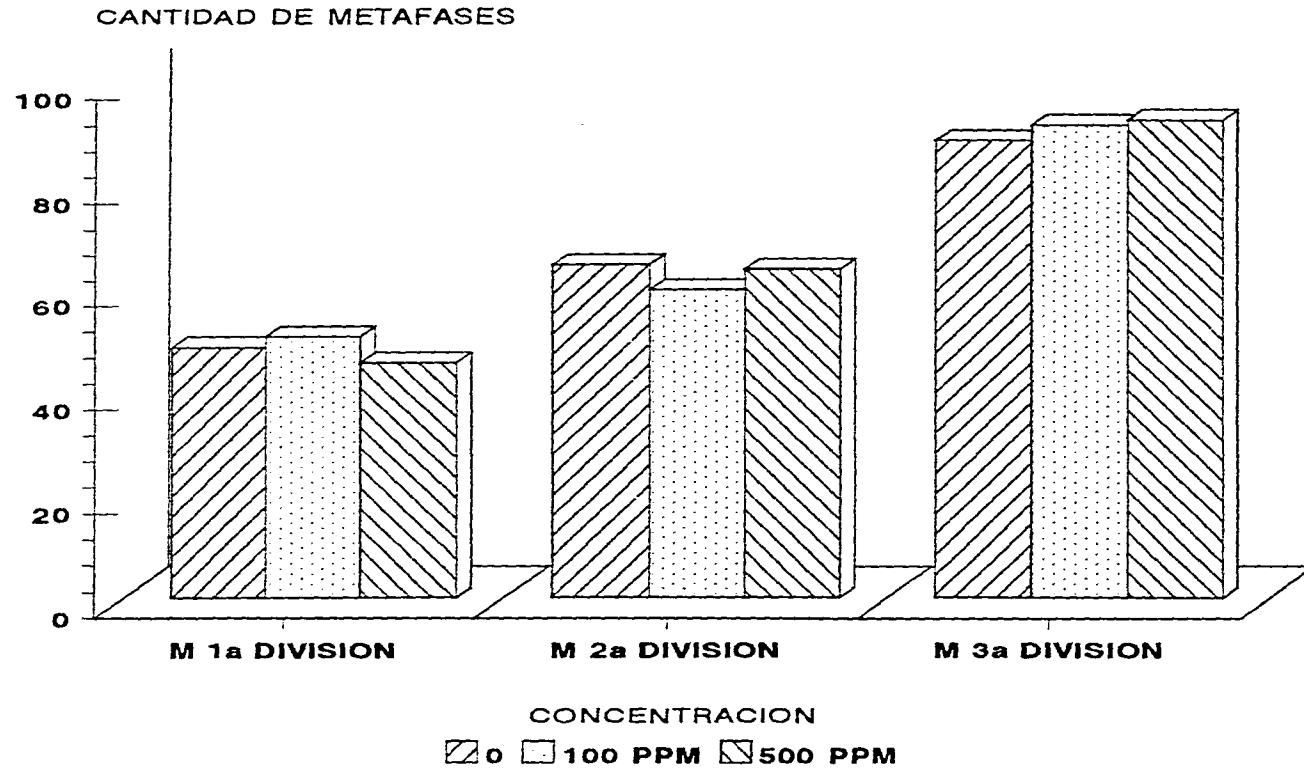


Figura 14. Efectos sobre la proliferación celular, inducidos por tiodicarb, en linfocitos humanos en cultivo.

ANEXOS

ANEXO 1

INTOXICACIONES CON CARBAMATOS

(Du Pont 1994)

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

ANEXO 2

FORMULACIONES DEL THIODICARB (Unión Carbide 1994)

Las formulaciones del insecticida thiodicarb, pueden ser clasificadas en fluides acuosas, fluides secas, polvos humedecibles, polvos y cebos.

Formulaciones fluides acuosas

Las formulaciones de LARVIN 375 y 250 son suspensiones acuosas que contienen 375 y 250 gramos de ingrediente activo por litro de formulación respectivamente. La formulación LARVIN 3.2 es equivalente a la de LARVIN 375 y contiene 3.2 libras de ingrediente activo por galón americano. Ha sido diseñada para uso exclusivo en los Estados Unidos.

Las formulaciones fluides acuosas contienen aditivos que al ser apropiadamente diluidos proporcionan una significativa resistencia al lavado por lluvias. Con el fin de conseguir esta propiedad, las diluciones de líquido por aplicar no deberán contener más de diez partes de agua por cada parte de la formulación fluida. Estas mantienen viscosidad con una vida media mayor de dos años, de acuerdo con estudios de almacenaje. Sin embargo y para asegurar su estabilidad,

es importante almacenarlos en depósitos bien ventilados donde no se permitan temperaturas superiores a -16°C . Estudios de congelación/deshielo no han mostrado efecto adverso en estas formulaciones.

Formulaciones fluides secas

El insecticida LARVIN thiodicarb 80DF consiste en granulos secos fluides que contienen 80 % de ingrediente activo. Esta singular formulación se ajusta bien para ser utilizada en zonas del mundo donde la temperatura de almacenaje pueda exceder los -16°C . Esta formulación tiene ventajas inherentes tales como bajos niveles de polvos, superiores características de fluidez y excelente estabilidad de almacenaje. Cuando se le agrega agua, se dispersa instantáneamente y así forma una suspensión adecuada para la aspersión.

Formulaciones de polvos humedecibles

LARVIN 75 WP es una formulación de polvo humedecible que contiene 75 % de ingrediente activo.

Cebos

Los cebos de LARVIN 2.5 y 5.0 % son secos en forma de perdigón que contienen 2.5 y 5.0 % de ingrediente activo respectivamente. Cuando se formulan en salvado de trigo y concentrado de manzana, estas formulaciones añaden atraerentes al insecticida.

Polvos

LARVIN 2 en polvo, contiene 2 % de ingrediente activo. Otras concentraciones de 1.3 % están disponibles para su uso en ciertos cultivos.

Formulaciones ULV

Actualmente existen varias formulaciones de LARVIN ULV (Ultra Bajo Volumen) en etapa de desarrollo de campo. Estos productos ofrecerán ventajas adicionales como resistencia a la evaporación, grado de deposición superior y eficacia excelente. Cuando estas formulaciones estén disponibles añadirán mayor flexibilidad a la ya existente variedad.

ANEXO 3

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL TIODICARB (Unión Carbide 1994)

Nombre químico	Acido etanimidotioco, N, N- [tiobis- [(metilimino) carboniloxi]] bis-éster dimetilico	
Designaciones (otros nombres)	Nombre vulgar: tiodicarb Número de código: UC51762 UC80502 Nombres comerciales: LARVIN, SEMEVIN	
Fórmula empírica	C₁₀H₁₈N₄O₄S₃	
Fórmula estructural	$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \quad \parallel \\ \text{CH}_3\text{-S-C=N-O-C-N-S-N-C-O-N=C-S-CH}_3 \\ \text{CH}_3 \quad \quad \quad \text{CH}_3\text{CH}_3 \quad \quad \quad \text{CH}_3 \end{array} $	
Peso molecular	354.5 g	
Presión de vapor	4.3 x 10 ⁻⁵ mmHg a 20 °C	
Estado físico	Sólido cristalino	
Pureza técnica	93 %	
Color	Blanco a ligeramente crema	
Olor	Ligeramente sulfuroso	
Punto de fusión	168 °C-172 °C	
Densidad	1.44 g/ml a 20 °C	
Solubilidad	Disolvente	% de peso a 25 °C
	Diclorometano	15.0
	Acetona	0.8
	Metanol	0.5
	Xileno	0.3
	Agua	0.0035

ANEXO 4

TOXICOLOGIA DEL TIODICARB (Unión Carbide 1994)

Cuadro I. Clasificación de insecticidas de acuerdo con su toxicidad

Categoría de toxicidad	Término de alerta en la etiqueta	LD ₅₀ (mg/kg de peso vivos)	
		Oral (ratas)	Dermal (conejos)
I (alta)	Peligro	0-50	0-200
II (moderada)	Advertencia	50-500	200-2000
III (baja)	Cuidado	> 500	> 2000

Cuadro IA. Clasificación de toxicidad relativa para tiodicarb y otros insecticidas comúnmente utilizados

Producto	Toxicidad	
	Oral	Dermal
Tiodicarb	Moderada	Baja
Carbarilo	Baja	Baja
Permetrina	Baja	Baja
Fenvalerato	Baja	Baja
Clorpirifós	Moderada	Moderada
Sulprofós	Moderada	Moderada
Profenofós	Moderada	Moderada
Dimetoato	Moderada	Moderada
Metomilo	Alta	Baja
Carbofuran	Alta	Baja
Endosulfán	Alta	Moderada
Monocrotofos	Alta	Moderada
Metil paratióu	Alta	Moderada
Azinfós metil	Alta	Moderada

ANEXO 4

TOXICOLOGIA DEL THIODICARB
(Unión Carbide 1894)

(CONTINUACION)

Cuadro 2. Toxicidad aguda del thiodicarb en varios mamíferos

Estudio	LD ₅₀ (mg/kg peso vivo)				
	Técnico	Larvin 75 WP	Larvin 375	Larvin 250	Larvin 80 DF
Oral agudo-Ratas	60-120 *	63	136	273	129
Oral agudo-Monos	167 **				
Dermal agudo-Conejos	> 2000	> 2000	> 2000	> 2000	
Inhalación aguda-Ratas †	***	0.85	1.51	No disponible	0.52
Irritación de los ojos-Conejos	Ninguna ****	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna
Irritación dermal-Conejos	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna

* La toxicidad depende del disolvente usado. La concentración del thiodicarb. La LD₅₀ oral aguda de 63 corresponde a thiodicarb técnico administrado con agua y la LD₅₀ de 129 en aceite de maíz.

** Administrado en capsula que contiene thiodicarb sin diluir.

† Durante 4 horas (0.5 mg/l).

*** Las partículas de thiodicarb técnico no son de las dimensiones absorbibles por el tracto respiratorio.

**** Estudio realizado en mono.

ANEXO 4

TOXICOLOGIA DEL DIOICARB

(Unión Carbide 1994)

(CONTINUACION)

Cuadro 3. Toxicidad de diodicarb técnico sobre peces, aves y crustáceos

Tipo de estudio	Nombre vulgar	Especies Nombre científico	LD ₅₀ ó LC ₅₀
Orilagado Dietario	Condoriz	<i>Colinus virginianus</i>	2023 mg/kg de peso vivo
	Pato silvestre	<i>Ana platyrhynchos</i>	5620 mg/kg de alimento
Toxicidad aguda (96 h)	Pez sol	<i>Lepomis macrochirus</i>	1.210 mg/l
	Trucha arcoiris	<i>Salmo gairdneri</i>	2.550 mg/l
	Trucha	<i>Salvelinus fontinalis</i>	4.450 mg/l
	Salmon	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	2.980 mg/l
	Cangrejo	<i>Aco pugilator</i>	2.540 mg/l
	Camarón	<i>Palaeomonetes pugio</i>	0.053 mg/l
	Pulgua de agua	<i>Daphnia magna</i>	0.053 mg/l

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB (Unión Carbida 1994)

Cuadro 1. Resumen de dosis efectivas para plagas de insectos del algodón con el insecticida tiodicarb a nivel mundial

Plagas	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectárea
Gusano bellotero americano	<i>Heliothis armigera</i>	0.200 - 1.000
Gusano de los brotes del tabaco	<i>Heliothis virescens</i>	0.500 - 1.000
Gusano bellotero	<i>Heliothis zea</i>	0.500 - 1.000
Gusano bellotero	<i>Heliothis punctigera</i>	0.750 - 1.000
Gusano de hoja del algodón	<i>Spodoptera littoralis</i>	1.000
Gusano soldado	<i>Spodoptera spp.</i>	0.500 - 1.000
Gusano rosado	<i>Pectinophora gossypiella</i>	0.500 - 1.000
Gusano bellotero moteado	<i>Baryta spp.</i>	0.200 - 0.750
Gusano bellotero rojo	<i>Diparopsis sp.</i>	0.400 - 1.000
Perforador de hoja del algodonero	<i>Bucculatrix thebaniella</i>	0.500 - 1.000
Gusano de hoja	<i>Alabama argillacea</i>	0.150 - 0.375
Gusano medidor	<i>Trichoplusia ni</i>	0.500 - 1.000
Gusano ejército soldado	<i>Prodenia ornithogalli</i>	0.500 - 1.000
Gusano cortador	<i>Agrotis spp.</i>	0.500 - 1.000
Arrebujados manchadora	<i>Dysdercus spp.</i>	0.500 - 1.000

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB (Unión Carbida 1994)

(CONTINUACION)

Cuadro 2. Resumen a nivel mundial de plagas de soya y dosificación efectivas para el insecticida tiodicarb

Plaga	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectárea
Gusano terciopelo	<i>Anitaearia gemmatilis</i>	0,100 - 0,400
Gusano ejército (rosquilla)	<i>Spodoptera sp.</i>	0,300 - 0,500
Gusano medidor	<i>Plutia Pseudaletia</i>	0,300 - 0,500
	<i>Rachiplusia Trichoplusia spp.</i>	
Gusano de la raíz del maíz	<i>Diabrotica spp.</i>	0,500 - 0,750
Borrador	<i>Epinotia apivana</i>	0,500 - 0,750
Gusano de las vainas	<i>Heliothis spp.</i>	0,100 - 0,400
Gusano telaraña	<i>Loxostege spp.</i>	0,375 - 0,500
Gusano verde del trébol	<i>Pisathypena scabra</i>	0,100 - 0,400
Gusano pelado	<i>Estigmene acrea</i>	0,300 - 0,400
Lepidoptera Pieridae	<i>Cottus spp.</i>	0,100
Chinche apastosa *	<i>Nazara viridula</i>	0,500 - 0,750
Conchuela del frijol	<i>Epilachna varivestis</i>	0,500 - 0,750
Gorgono de hoja de frijol	<i>Ceratomya sp.</i>	0,500 - 0,750

* Supresión solamente (50-0 % reducción)

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB

(Unión Carbide 1994)

(CONTINUACIÓN)

Cuadro 3. Eficacia y dosis efectivas del insecticida tiodicarb en el control de plagas de maíz a nivel mundial

Plagas	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectárea
Gusano cortador	<i>Agrotis spp.</i>	0,600
Guzano de la mazorca	<i>Heliothis spp.</i>	0,250 - 0,900
Barreno del maíz	<i>Ostrinia spp.</i>	0,500 - 0,750
Barrenadores	<i>Diatraea spp.</i>	0,600 - 0,750
Gusano cortador	<i>Loxagrotis albicosta</i>	0,400 - 0,750
Gusano ejército (rosquilla)	<i>Spodoptera spp.</i>	0,400 - 0,750
Barrenador del tallo de maíz	<i>Russola fusca</i>	0,500
Barrenador del maíz	<i>Cilo partellus</i>	0,500

Cuadro 4. Resumen de plagas del tabaco y dosis efectivas del insecticida tiodicarb usadas para su control a nivel mundial

Plagas	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectárea
Gusano de los brotes del tabaco	<i>Heliothis spp.</i>	0,250 - 0,500
Escarabajo de las hojas	<i>Epitrix spp.</i>	0,250 - 0,500
Gusano ejército (rosquilla)	<i>Spodoptera spp.</i>	0,250 - 0,500
Gusano cortador (gusano gris)	<i>Agrotis spp.</i>	0,250 - 0,750
Medidores	<i>Plusia spp.</i>	0,250 - 0,500
Gusano comido	<i>Manduca spp.</i>	0,200 - 0,400

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB
(Unión Carbide 1954)

(CONTINUACIÓN)

Cuadro 5. Resumen de plagas de insectos y dosificación de tiodicarb en Vid a nivel mundial

Plaga	Nombre científico	Dosificación kg. de ingrediente activo/hectárea
Peñola de la vid	<i>Lobesia botrana</i>	370 - 500
Peñola de la vid	<i>Epipaschia ambiguaella</i>	370 - 500
Peñola de la vid	<i>Argyrotaenia pulchellana</i>	370 - 500
Barrenador de la vid (Furel)	<i>Sparganathis pilleriana</i>	450
Boarmia	<i>Boarmia gemmaria</i>	370 - 450
Cigarritas	<i>Eriopasta spp. Erythroneura spp.</i>	370 - 450
Oruga arrugada	<i>Acontia carya</i>	370 - 450

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB (Unión Carbida 1994)

(CONTINUACIÓN)

Cuadro 6. Rango de dosis efectivas del insecticida tiodicarb sobre plagas de hortalizas a nivel mundial

Plaga	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectarea
Gusanos del fruto	<i>Felidopsis</i> spp.	0,200 - 0,800
Gusano ciercito (rosquilla)	<i>Escherichia</i> spp.	0,400 - 1,000
	<i>Spodoptera</i> spp.	0,400 - 1,000
Gusano ejército brillante	<i>Mamestra configurata</i>	0,400 - 1,000
Gusano cortador	<i>Agrotis</i> spp.	0,400 - 1,000
Gusano del repollo	<i>Pieris rapae</i>	0,400 - 1,000
Gusano medidor	<i>Plusia</i> spp.	0,400 - 1,000
Gusano cornudo	<i>Manduca quinquemaculata</i>	0,400 - 1,000
Gorgojo de hoja del brócoli	<i>Ceuthorrhynchus</i>	0,500 - 1,000
Pelilla diamante	<i>Plutella xylostella</i>	0,500 - 1,000
Gusano cortador paronado	<i>Pieris brassicae</i>	0,500 - 1,000
Gusano cortador occidental	<i>Loxagrotis albicosta</i>	0,500 - 1,000

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB
(Unión Carbide 1994)

(CONTINUACIÓN)

Cuadro 7. Resumen de rangos de dosis efectivas del insecticida tiodicarb en una variedad de cultivos y plagas a nivel mundial

Cultivo	Plaga	Nombre científico	Dosificación kg. de ingrediente act./hectárea
Cítricos	Gusano de la naranja	<i>Anthonomus grandis</i>	2.000 - 3.000
	Oruga del naranja	<i>A. cyrenella citrana</i>	2.000 - 3.000
	Pierro del naranja	<i>Papilio crespioides</i>	2.000 - 3.000
	Escama roja de California	<i>Aspidiotia perniciosi</i>	2.000 - 3.000
Frutas de hoja caduca y vividas	Gusano de las manzanas y peras	<i>Codina pomonella</i>	1.000 - 2.000
	Gusano enrollador de los frutos	<i>Archips argyrospila</i>	1.000 - 2.000
	Pollita de los brotes del manzano	<i>Pachynota idaeusalis</i>	1.000 - 2.000
	Pollita oriental de fruto	<i>Grapholitha n. olivata</i>	1.000 - 2.000
	Barrenador de panzas del durazno	<i>Anarsia lineatella</i>	1.000 - 3.000
Forrajes Alfalfa, Trébol y Veza Usos forestales	Gusano del ejército (rosquilla)	<i>Spodoptera spp</i>	0.300 - 0.750
	Oruga de la alfalfa	<i>Colias carythome</i>	0.400 - 1.000
	Gusano del brote	<i>Choristoneura spp</i>	0.200 - 0.500
	Pollita gitana (agarta)	<i>Lymantia dispar</i>	0.200 - 0.500
	Pollita del brote	<i>Zenopsis canadensis</i>	0.300 - 0.750
	Gusano de la uvoera	<i>Alysia pomatoria</i>	0.400 - 0.750
	Gusano medidor terciopelo	<i>Lambdina fiscellaria</i>	0.400 - 0.750
	Gusano peludo	<i>Coryta verusta</i>	0.400 - 0.750
	Mosca del pino blanco	<i>Neodiprion pinetum</i>	0.500 - 1.000

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB
(Unión Carbide 1964)

(CONTINUACIÓN)

Cuadro 7. Resumen de rangos de dosis efectivas del insecticida tiodicarb en una variedad de cultivos y plagas a nivel mundial (CONTINUACION)

Cultivo	Plaga	Nombre científico	Dosificación kg de ingrediente activo/hectarea
Maíz	Gusano ejército (mosquilla)	<i>Spodoptera spp.</i>	0.400 - 1.000
	Gusano medidor	<i>Plusia spp.</i>	0.400 - 1.000
	Gusano cortador	<i>Agrotis spp.</i>	0.500 - 1.000
Arroz	Gusano enrollador	<i>Cnyphtoecroc's medinalis</i>	0.800 - 1.500
Sorgo	Gusano mazorquero	<i>Feltiellus zea</i>	0.250 - 0.750
	Gusano ejército	<i>Spodoptera frugiperda</i>	0.250 - 0.750
	Mosquilla del sorpo	<i>Contarinia sorghicola</i>	0.250 - 0.750
	Gusano telaraña del sorpo	<i>Celona sorghella</i>	0.250 - 1.000
Girasol	Polilla de la cabeza del girasol	<i>Homoesoma electellum</i>	0.400 - 0.750
	Lejen del girasol	<i>Neolasiptera murtfeldiana</i>	0.400 - 0.750
	Oruga del girasol	<i>Colias spp.</i>	0.400 - 0.750
Te	Oruga del te	<i>Homona magranina</i>	0.400 - 1.000
	Oruga pequeña del te	<i>Atoxopnyes spp.</i>	0.400 - 1.000
	Enrollador de la hoja del te	<i>Caloptilia theivora</i>	0.400 - 1.000
	Oruga del te	<i>Malacosoma spp.</i>	30-60 g/ 100 litros
Ornamentales	Gusano telaraña	<i>Herpetogramma spp.</i>	30-60 g/ 100 litros
	Enrollador de hoja	<i>Archips spp.</i>	60-90 g/ 100 litros
	Gusano bolsado	<i>Tayidopteryx ephemeriformis</i>	60-90 g/ 100 litros

ANEXO 5

PLAGAS QUE CONTROLA EL TIODICARB
(Union Carbide 1992)

(CONTINUACION)

Cuadro 8. Resumen de plagas de insectos y dosificaciones para el tratamiento de semillas con el insecticida tiodicarb a nivel mundial

Nombre vulgar	Nombre científico	Semillas	Dosificación de semevín g de ingrediente activo/kg de semilla
Mosca de la semilla	<i>Agrocyza pharosi</i>	Soya	1 - 10
Gusano cortador negro	<i>Agrilus psalem</i>	Maíz	1 - 5
Pulgones	<i>Aphis</i> spp.	Cereales/Algodón	1 - 5
Mosca de la semilla del arroz	<i>Antherigona</i> spp.	Arroz (secano)	1 - 10
Gusano del corazón muerto	<i>Elasmopalpus lignosellus</i>	Maíz/Arroz	5 - 10
Larva del repollo (col)	<i>Delia radicum</i>	Repollo (col)	1 - 5
Gusano de la semilla de maíz	<i>Delia plumea</i>	Maíz/judías (frijol)	1 - 5
Gusano alambre	<i>Melanotus</i> spp.	Maíz	1 - 5
Barrenador del maíz Europeo	<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz	1 - 5
Cinche verde	<i>Schizaphis graminum</i>	Cereales	1 - 5
Cinche del maíz del Sur	<i>Sphenophorus callosus</i>	Maíz	1 - 5
Gusano ejército (rosquilla)	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Maíz	1 - 5
"Trips"	<i>Thrips</i> spp.	Algodón	5 - 10
Comejen (subterráneo)	<i>Termitidae</i>	Arroz/ Algodón	1 - 5
			5 - 10

ANEXO 6

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL OXAMILO
(Du Pont 1991)

Nombre comercial	Vydare
Nombre común	Oxamilo
Nombre químico	Metil N', N'-aldimetil-16-(metilcarbamoil)oxi-1-tio-oxamimidato.
Registro SARI-DRISV	
Registro EPA	352-372
Fórmula empírica	$C_{11}H_{16}N_2O_3S$
Fórmula estructural	$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ (\text{CH}_3)_2\text{NC}-\text{C}=\text{NOCN}(\text{CH}_3)_2 \\ \text{SCH}_3 \end{array} $
Peso molecular	249.25
Forma física	Sólido
Color	Claro
Olor	Ligeramente azufrado
Punto de fusión	100-102°C. Cambiando a una forma cristalina diferente que se funde a 145-148°C
Gravedad específica	0.97 - 25°C/4°
Volatilidad	
Presión de vapor	2.3×10^{-1} mm Hg a 25°C 3.7×10^{-1} mm Hg a 30°C 8.4×10^{-1} mm Hg a 40°C 7.6×10^{-1} mm Hg a 70°C
Solubilidad (a 25°C)	97/100 g de disolvente 144 Metanol 133 Etano 108 DCM 108 67 Acetona 29 Ciclohexanona 28 Agua 11 Isopropano 1 Tolueno

ANEXO 7

TOXICOLOGIA DEL OXAMILLO (Du Pont 1994)

Datos obtenidos en el Laboratorio de Toxicología y medicina industrial de
Haskell (Du Pont), Wilmington, Delaware, E. U. A.

Oxamilo es un poderoso agente inhibidor de la acetilcolinesterasa

Toxicidad oral aguda. (ratas blancas machos)	DL ₅₀ = 5.4 mg/kg para oxamilo DL ₅₀ = 37.0 mg/kg para vydate 1-24 DL ₅₀ = 110.0 mg/kg para vydate G-10
Absorción aguda por la piel (machos albinos de conejillos de indias)	DL ₅₀ = 2960 mg/kg para vydate 1-24 Potencial de dermatitis. El oxamilo no irrita la piel de conejillos de indias cuando se aplicó en dosis subletales. No es un sensibilizador de la piel.
Irritación de los ojos (conejos)	Administrado a los ojos del conejo oxamilo sólido o en una suspensión en glicol de propileno causó una marcada constricción pupilar y algo de congestión de iris, pero no daño corneal.
Inhalación (ratas blancas hembras y machos)	CL ₅₀ = 0.11 mg/l y 1.12 mg/l para ratas macho y hembra respectivamente. Ambos se sometieron a una nube de polvo de oxamilo durante una hora (únicamente exposición de la cabeza).
Vida silvestre:	
Perdiz	DL ₅₀ = 1.18 mg/kg para oxamilo
Perdiz	DL ₅₀ = 39.20 mg/kg para vydate 1.
Pato	DL ₅₀ = 10.75 mg/kg para vydate 1.
Perdiz	CL ₅₀ = 2.25 ppm para vydate 1-24 dieta por 8 días
Pato	CL ₅₀ = 1.50 ppm para vydate 1-24 dieta por 8 días
Estudios de campo	Conejos blancos con la comida y el agua expuestas fueron asperjados excesivamente con vydate 1-24 en dosis de 3.30 kg de ingrediente activo por hectárea en cuatro aplicaciones a intervalos de 3 semanas (No hubo efectos letales).
Pez sal	CL ₅₀ = 5.0 ppm oxamilo (96 horas)
Pez dorado	CL ₅₀ = 27.5 ppm oxamilo (96 horas)
Trucha arcoiris	CL ₅₀ = 1.2 ppm oxamilo (96 horas)

ANEXO 8

LISTA PARCIAL DE ALGUNOS INSECTOS, ACAROS Y NEMATODOS QUE CONTROLA EL OXAMILO (Du Pont 1991)

Nombre común	Nombre científico
INSECTOS	
Barrentillo del chile	<i>Anthonomus chrysan</i>
Catamita de la papa	<i>Leptinotarsa deccolmicata</i>
chuslamitas	<i>Empoasca</i> spp.
chunchu (viejito)	<i>Lygus lineolaris</i>
Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.
Mosca blanca	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>
Perforador de la hoja	<i>Bucculatrix thurberculi</i>
Picudo del algaoloneo	<i>Anthonomus grandis</i>
Fulga saltona o del algaoloneo	<i>Pseudatomosepsis scirpatus</i>
Fulgon verde	<i>Myrmica persicae</i>
"Trips" de los cítricos	<i>Scirtothrips citri</i>
ACAROS	
Acaro de dos manchas	<i>Tetranychus urticae</i>
Acaro o vea orilla de los cítricos	<i>Phytoseiopsis chelyon</i>
Acaro o neprilla del peral	<i>Euptromerus pyri</i>
Ácaro rojo	<i>Tetranychus</i> spp.
Ácaro rojo europeo	<i>Pantonychus ulmi</i>
NEMATODOS	
N. barrenador	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
N. de gusano	<i>Helicoverpa</i> spp.
N. de alfiler	<i>Paratylenchus</i> spp.
N. de arillo	<i>Chromadorus</i> spp.
N. de espiral	<i>Helicoverpa</i> spp.
N. de cigar	<i>Xiphosoma</i> spp.
N. de quiste	<i>Heterodera glycine</i>
N. del cañuto negro	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
N. del tallo y bulboso	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
N. de la hoja y vena	<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>Calamagrostis rostenkowskyi</i>
N. lino colorado	<i>Ditylenchus</i> spp.
N. lesionador	<i>Ditylenchus</i> spp.
N. nodulador sobre raíz	<i>Meloidogyne</i> spp.
N. reniforme	<i>Botrydichnus</i> spp.
N. rosado	<i>Aphelenchoides besseyi</i>

ANEXO 9

ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS Y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE
(De Pont 1991)

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO		DOSIS Litros/Hectárea
	Nombre común	Nombre científico	
ALGODONERO	INSECTOS		
<i>Gossypium hirsutum</i>	Pestonador de la hoja	<i>Bucculatrix thurberella</i>	1.0-4.0
	Picudo	<i>Anthonomus grandis</i>	0.5-1.0
	Pulga saltona	<i>Pseudatomoscelis seriatus</i>	0.5-1.0
APIO	INSECTOS		
<i>Apium graveolens</i>	Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.	2.0-4.0
BERENJENA	ACAROS		
<i>Solanum melongena</i>	Araña roja	<i>Tetranychus</i> spp.	2.0-4.0
	INSECTOS		
	Cataminá de la papa	<i>Leptinotarso decemlineata</i>	2.0-4.0
	Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.	
	Pulgón	<i>Myzus persicae</i>	
CACAHUATE	INSECTOS		
<i>Arachis hypogea</i>	Trips	<i>Thrips</i> spp.	2.0-4.0
	NEMATODOS		
	N. de aguijón	<i>Beloniolaimus</i> spp.	2.0-6.0
	N. de millo	<i>Cricoidonemoides</i> spp.	
	N. lesionador	<i>Pratylenchus</i> spp.	
	N. nodulador	<i>Aeloidioxyne</i> spp.	
CAMOTE	NEMATODOS		
<i>Ipomoea batatas</i>	N. de espinal	<i>Helicotylenchus</i> spp.	1.0-3.0
	N. nodulador	<i>Aeloidioxyne</i> spp.	
CHILE	INSECTOS		
<i>Capsicum annuum</i>	Barrizillo del fruto	<i>Anthonomus eugenii</i>	2.0-4.0
	Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp.	
	Pulgón	<i>Myzus persicae</i>	
	NEMATODOS		
	N. de aguijón	<i>Beloniolaimus</i> spp.	
	N. de millo	<i>Cricoidonemoides</i> spp.	
	N. nodulador	<i>Aeloidioxyne</i> spp.	
	N. de raíz de eschola	<i>Trichodorus</i> spp.	
	N. del enquistismo	<i>Triplonchus</i> spp.	
CHICURRIACEAS	INSECTOS		
Calabacita		<i>Liriomyza</i> spp.	2.0-4.0
<i>Cucurbita pepo</i>	Minador de la hoja		
Melon	NEMATODOS		
<i>Cucumis melo</i>	N. de aguijón	<i>Beloniolaimus</i> spp.	2.5-4.0

ANEXO 9

ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS Y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE
(Du Pont 1994)

(CONTINUACION)

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO		DOSIS Litros/Hectarea
	Nombre común	Nombre científico	
CUCURBITACEAS (continuación)	NEMATODOS (continuación)		
Pepino <i>Cucumis sativus</i>	N. de amilo	<i>Circumomulox spp</i>	7.5-15.0
Sandía <i>Citrullus vulgaris</i>	N. modulador	<i>Meloidogyne spp</i>	
	N. de raíz de escoba	<i>Trichodorus spp.</i>	2.0-4.0
	N. del raquitismo	<i>tylenchorynchus spp</i>	
CITRICOS	ACAROS		
Citrus	Araño de los cítricos	<i>Phyllocopritia oleivora</i>	0.125-0.5
	INSECTOS		
	"Trips"	<i>Scirtothrips citri</i>	2.0-5.0
Jitomate	INSECTOS		
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Minador de la hoja	<i>Liriomyza mundula</i>	2.0-4.0
LILIACEAS	INSECTOS		
AJO	"Trips"	"Trips" tabaci	2.0-4.0
<i>Allium sativum</i>		<i>Frankliniella occidentalis</i>	
CEBOLLA		<i>Aceria allii</i>	
<i>Allium cepa</i>	NEMATODOS		
	N. de bulbos y tallos	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	25.0-35.0
MANZANO	ACAROS		
<i>Malus sylvestris</i>	Araña roja	<i>Tetranychus ulmi</i>	1.0-2.0
	Acaro de dos manchas	<i>Tetranychus bimaculatus</i>	
	INSECTOS		
	Minador de la hoja	<i>Liriomyza spp</i>	1.0-2.0
ORNAMENTALES	NEMATODOS		
Azalea	N. barrenador	<i>Rhizoglyphus similis</i>	20.0-30.0
<i>Rhododendron spp.</i>	N. de aguijón	<i>Belonolaimus spp</i>	
Crisantemo	N. lesionador	<i>Pratylenchus spp.</i>	
<i>Chrysanthemum spp.</i>	N. modulador	<i>Meloidogyne spp.</i>	
Filodendron			
<i>Philodendron spp</i>	N. del raquitismo	<i>tylenchostrongylus spp</i>	2.0-4.0
Gardenia			
<i>Gardenia jasminoides</i>			
Glehebra	INSECTOS		
<i>Celastrus spp</i>	chicharrita	<i>Empoasca spp</i>	2.0-4.0
Helecho	chiche	<i>Cyrtus spp</i>	
<i>Asparagus sprengeri</i>	Escamas	<i>Aspidiotus spp</i>	

ANEXO 9

ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS Y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

(Du Pont 1994)

(CONTINUACION)

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	DOSIS	
	Nombre común	Nombre científico	
		Litros/Hectarea	
ORNAMENTALES (continuación)	INSECTOS		
Rosa			
<i>Rosa multiflora</i>	Escarabajo japonés	<i>Popillia japonica</i>	2.0-4.0
	Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> spp	
	Moscas blancas	<i>Bemisia</i> spp <i>Trialeurodes</i> spp.	
	Piojo lanudo	<i>Dasyneutes</i> spp	
	Pulgón saltona	<i>Ugulus</i> spp	
	"Trips"	<i>Frankliniella</i> spp	
	ACAROS		
	Araña roja	<i>Tetranychus idae</i>	
	Araña roja europea	<i>Tetranychus</i>	
PAPA	ACAROS		
<i>Solanum tuberosum</i>	Catarrina de la papa	<i>Lepidoglyphus decemlineatus</i>	2.0-4.0
	Chicharra	<i>Empoasca</i> spp	
	Pulgón saltona	<i>Ugulus</i> spp	
	Pulgón	<i>Aphis persicae</i>	
	NEMATODOS		
	N. de aguijón	<i>Belonolaimus</i> spp.	8.0-16.0
	N. de anillo	<i>Cricanomyces</i> spp	
	N. lesionado	<i>Pratylenchus</i> spp	
	N. modulador	<i>Meloidogyne</i> spp	
PIÑA	INSECTOS		
<i>Ananas comosus</i>	Piojo lanudo	<i>Dasyneutes longipes</i>	3.0-4.0
	NEMATODOS		
	N. modulador	<i>Meloidogyne</i> spp.	8.0-16.0
	N. reniforme	<i>Renkylenchus</i> spp	4.0-8.0
PERAL	ACAROS		
<i>Pyrus malus</i>	Araño de dos manchas	<i>Tetranychus bimaculatus</i>	6.0-8.0
	Araña roja	<i>Tetranychus evansi</i>	
PLATANO	NEMATODOS		
<i>Musa sapientum</i>	N. barrenador	<i>Radiophobus similis</i>	10-15 ml
	N. de espina	<i>Heterodera</i> spp	400 cc/ha
	N. lanudo	<i>Hemidodanus</i> spp	6 por seudobulbo
	N. modulador	<i>Meloidogyne</i> spp	

ANEXO 9

ALGUNOS INSECTOS, NEMATODOS Y ACAROS
QUE CONTROLA VYDATE

(De Penn 1994)

(CONTINUACION)

CULTIVO	INSECTO, NEMATODO O ACARO	DOSES	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	litros/hectárea
PLATANO	INSECTOS		10-15 ml
(continuación)	Picudo negro	<i>Cosmopolites sordidus</i>	(por pseudotallo)
SOYA	NEMATODOS		
<i>Glycine max</i>	N. de anillo	<i>Criconemoides spp</i>	2.0-4.0
	N. de quiste	<i>Heterodera glycine</i>	
	N. del raquitismo	<i>Feltonchorhynchus spp.</i>	
	N. lanceolado	<i>Hoplotaimus spp</i>	
	N. lesionador	<i>Pratylenchus spp</i>	
	N. modulador	<i>Meloidogyne spp</i>	7.0-15.0
TABACO	NEMATODOS		
<i>Nicotiana glauca</i>	N. lesionador	<i>Pratylenchus spp</i>	7.5-22.0
	N. modulador	<i>Meloidogyne spp.</i>	
	INSECTOS		
	Pulgón saltador	<i>Epitrix spp</i>	2.5
ZANAHORIA	NEMATODOS		
<i>Daucus carota</i>	N. de aguijón	<i>Belonitoides spp</i>	7.0-15.0
	N. de espiral	<i>Feltonchorhynchus spp</i>	
	N. del raquitismo	<i>Feltonchorhynchus spp</i>	
	N. lesionador	<i>Meloidogyne spp</i>	

ANEXO 10

PRUEBAS ESTADÍSTICAS UTILIZADAS PARA LA INTERPRETACION DE LOS DATOS

Prueba de "t de Student"

$$t = (X_1 - X_2) / \sqrt{s^2 [(S_1)^2/N_1 + (S_2)^2/N_2]} \quad B$$

Donde:

- X_1 = media poblacional entre los tratamientos
- X_2 = media poblacional entre los testigos
- $(S_1)^2$ = varianza entre los tratamientos
- $(S_2)^2$ = varianza entre los testigos
- N_1 = total de metátesis analizadas en los tratamientos
- N_2 = total de metátesis analizadas en los testigos

Prueba de "ji cuadrada" modificada para muestras pequeñas

$$\chi^2 \text{ (modificada)} = \sum [(O - E)^2 / E]$$

Donde:

- O = valores observados en los tratamientos
- E = valores observados en los testigos