



00361
23
21

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Efectos Biológicos del Radón
en *Drosophila*

T E S I S

Que para Obtener el Grado Académico de:

MAESTRIA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P r e s e n t a

Adalberto Emilio Pimentel Peñaloza

Director de Tesis:

DRA. MA. ESTHER DE LA ROSA DUQUE

México, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADEZCO A LAS AUTORIDADES DEL INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES NUCLEARES, EL APOYO BRINDADO PARA REALIZAR LA
PRESENTE INVESTIGACION.

EXPRESO MI RECONOCIMIENTO Y AGRADECIMIENTO A LA Dra. Ma. ESTHER
DE LA ROSA DUQUE, POR LA ASESORIA, APOYO, CONFIANZA Y
DISPONIBILIDAD QUE ME BRINDO DURANTE TODO EL DESARROLLO DE LA
PRESENTE INVESTIGACION.

EXPRESO MI AGRADECIMIENTO POR LA REVISION DE ESTA TESIS A:

Dra. Ma. ESTHER DE LA ROSA DUQUE
Dra. SANDRA GOMEZ ARROYO
Dra. PATRICIA RAMOS MORALES
Dr. VICTOR MANUEL SALCEDA SACANELLES
Dra. JUDITH GUZMAN RINCON
M. EN C. LETICIA TAVERA DAVILA
M. EN C. MATILDE BREÑA VALLE
M. EN C. PATRICIA GUADALUPE OROZCO SOTO
M. EN C. ALFREDO DELGADO RODRIGUEZ
M. EN C. JUAN CARLOS GAYTAN OYARZUN
FISICO JAVIER REYES LUJAN

MI RECONOCIMIENTO Y AGRADECIMIENTO AL Dr. STANLEY ZIMMERING, POR LA ORIENTACION CIENTIFICA Y CONFIANZA QUE ME BRINDO, PARA EL BUEN TERMINO DE LA PRESENTE.

A LA M. EN C. LETICIA TAVERA DAVILA POR LA ORIENTACION Y APOYO EN LA PARTE FISICA DE ESTA INVESTIGACION.

A LA TECNICO BIOLOGO DORA LUZ BARRON, POR EL EXCELENTE APOYO TECNICO Y A LOURDES OLVERA POR SU APOYO SECRETARIAL.

DEDICO ESTA TESIS CON TODO MI AMOR Y CARIÑO A:

MI ESPOSA: MARTHA PATRICIA.

MI HIJO: ALEJANDRO PIMENTEL CRUCES.

MI SUEGRA: Ma. DE LOURDES.

A MIS PADRES: CORINA Y EMILIO.

A MIS HERMANOS: MARIBEL, MARISOL, CARLOS, SERGIO Y JUAN.

A MIS AMIGOS: DAVID, CARO, LILIA, RAUL, BLANCA Y VLADIMIR

Y A TODAS LAS PERSONAS QUE CONFIAN EN MI

INDICE

RESUMEN	
1. INTRODUCCION	1
1.1 Características del radón.	1
1.2 Efectos mutagénicos de las partículas alfa a nivel celular.	5
1.3 Evidencias experimentales <i>in vivo</i> de inducción de cáncer con emisores alfa en diferentes sistemas animales.	6
1.4 Estudios <i>in vitro</i>	10
1.5 Prueba de mutación y recombinación somáticas en el ala (SMART).	14
1.6 Componentes genéticos de valor adaptativo.	16
2. OBJETIVOS	23
3. MATERIALES Y METODOS	24
3.1 Mutación y recombinación somáticas.	24
3.2 Exposición al radón.	25
3.3 Medición de las concentraciones del radón.	25
3.4 Fecundidad y viabilidad huevo-adulto.	26
3.5 Velocidad de desarrollo.	27
4. RESULTADOS	29
4.1 Mutación y recombinación somáticas.	29
4.2 Fecundidad.	29
4.3 Viabilidad huevo-adulto.	31
4.4 Velocidad de desarrollo.	32
5. DISCUSION	33
6. CONCLUSIONES	41
7. TABLAS	43
8. FIGURAS	50
9. APENDICES	57
10. REFERENCIAS	59

RESUMEN

Se ha considerado que la inhalación del radón y de sus productos de decaimiento es la vía de exposición más importante a partículas alfa, debido a su fácil absorción en el tracto respiratorio. Las estimaciones de la exposición a radón ambiental, han sugerido que producen efectos deletereos en la salud, principalmente en la asociación causal entre exposición y cáncer pulmonar. Para determinar los riesgos de la exposición a radón y su progenie, se ha investigado la naturaleza de las lesiones responsables de su acción mutagénica y recombinogénica, utilizando una variedad de sistemas biológicos de prueba *in vivo* e *in vitro*, sin embargo, en este campo *Drosophila melanogaster* no ha sido considerada con anterioridad.

Con el afán de contribuir al conocimiento de los efectos de las partículas alfa emitidas por el radón y su progenie que pueden causar alteraciones en el ADN heredables a generaciones sucesivas de células y/o inducir un proceso canceroso o modificar la carga genética de las poblaciones expuestas, el objetivo de la presente investigación es: Estudiar los efectos biológicos que pueda tener el radón sobre *Drosophila melanogaster*, considerando que éste organismo puede ser un buen monitor biológico en ambientes con concentración de radón que representan un riesgo para la salud, por medio de la aplicación de las técnicas de mutación y recombinación somáticas en el ala (SMART) y el análisis de algunos factores de valor adaptativo, exponiendo larvas a atmósferas de radón-222.

Mediante la prueba de mutación somática, se observó un efecto mutagénico proporcional al incremento de la concentración de radón, en un rango de 1 ± 0.3 a 111 ± 7.4 kBq/m³ equivalentes a dosis por abajo de 0.0106 Gy. El análisis de correlación indicó que la relación es lineal ($r = 0.800$) con una pendiente positiva de 0.2217. Al comparar estos resultados con los obtenidos con rayos gamma en el rango de 1 a 20 Gy, se encontró que también el incremento de mutaciones es dependiente de la dosis y que la

respuesta se ajusta a una recta ($r = 0.878$). No obstante, la pendiente es mucho menor ($m = 0.003$) que la obtenida con el radón, lo que confirma por un lado, que las partículas alfa inducen más daño que los rayos gamma y por otro lado que el sistema de prueba *Drosophila in vivo* puede detectar los efectos mutagénicos de las partículas alfa emitidas por el radón y su progenie mediante el ensayo SMART.

Con el análisis de los factores de valor adaptativo de las nueve generaciones expuestas sucesivamente, se encontró que la exposición al radón probablemente provocó incremento significativo de letales dominantes durante la gametogenesis y/o una selección de los gametos más aptos en los individuos tratados en estadio larvario, esto se reflejó en la disminución significativa de la fecundidad de la mayoría de las generaciones analizadas. No obstante, los huevos depositados tuvieron un aumento de la viabilidad huevo-adulto, además la velocidad de desarrollo de los individuos tratados con 3 kBq/m^3 fue mayor que la del testigo. Estos resultados sugieren que las concentraciones que según los cálculos equivalentes a dosis asociadas a pulmón, son por abajo de 0.0106 Gy probablemente, fueron capaces de estimular la inducción de mecanismos de reparación que se traducen en el aumento de la viabilidad y velocidad de desarrollo. Estos datos apoya entonces, a la hipótesis de Hormesis que postula que existe un efecto benéfico de las dosis bajas. Es probable que estos efectos simultáneos no permita establecer una relación concentración-efecto, excepto con la velocidad de desarrollo donde se encontró una relación concentración-efecto inversa.

Con lo anterior se puede decir que *Drosophila melanogaster* es un sistema con el que se puede obtener *in vivo* inducción de daño genético dependiente de la concentración de radón y su progenie, así como observar los efectos en una población expuesta continuamente mediante el análisis de los factores de valor adaptativo.

ABSTRACT

It has been considered that inhalation of radon and its decay products is the most important contribution to alpha exposure particles within the human respiratory system exposition. The estimation of environmental radon exposure suggests that it produces deleterious effects on health, mainly in the causal association between lung cancer and exposition. In order to determine the risks of radon and its products, investigations have been done about the nature of the mutagenic and recombinogenic lesions, using different kind of biological in vivo and in vitro systems; however *Drosophila melanogaster* had not been considered before.

In order to contribute to the knowledge on the effects of radon and its decay products, the aim of this investigation is to study the biological effects of radon using *Drosophila melanogaster* through the somatic mutation and recombination test (SMART) and the analysis of some adaptative factors exposing larvae to controlled radon atmospheres, considering that this insect could be used as biological monitor.

Using the somatic mutation test a mutagenic effect was observed proportional to radon concentration, into an interval of 1 ± 0.3 to 111 ± 7.4 kBq/m³ equivalent to doses under 0.0106 Gy. The correlation analysis gives a linear ($r = 0.80$) relationship with a positive slope of 0.2217. The same happens when gamma rays are used in the interval of 1 to 20 Gy, given a linear dose-dependent effect ($r = 0.878$) is obtained, nevertheless the slope is smaller ($m = 0.003$) than for radon. This confirms the fact that alpha particles induced more damage than gamma rays, and on the other hand that the *Drosophila* system in vivo is capable to detect the mutagenic effect of radon and its decay products through the SMART assay.

Analysing the results of adaptative factors of the nine exposed generations, it was found that probably radon exposition induced dominant lethals during gametogenesis or/and a selection of the more competent gametes of the treated individuals in larval state. It was reflected in the significant decrease on fecundity of the generation exposed. Nevertheless the laying eggs had an increase in egg-to-adult viability and the develop velocity was higher than in control for 3 kBq/m³, this suggest that radon concentrations used were able to induce repair mechanisms. These data agree with the Hormesis hypothesis that says: low doses have positive effects on health. It was not possible to obtain a dose-effect relationship except with the develop velocity where it was found a dose-effect inverse proportion.

In conclusion, *Drosophila melanogaster* could be a good system to obtain in vivo damaged induction concentration dependent of radon and its decay products, as well as to study the effects in an exposed population by the analysis of adaptative factors.

1. INTRODUCCION

El comité BEIR (Biological Effects of Ionizing Radiation) reconoce que hay gran incertidumbre en la extrapolación de la curva de inducción de daño, de dosis altas a dosis bajas de radiación, por esto, sus efectos biológicos, siguen siendo objeto de estudio en muchos laboratorios del mundo debido a que es poco el conocimiento que se tiene acerca de su acción a dosis bajas.

Las radiaciones aportan al material que las absorbe, suficiente energía para ionizar los átomos y moléculas que encuentran en su trayecto. Existen radiaciones ionizantes electromagnéticas y de partículas subatómicas de distintas masas y cargas. Las primeras comprenden a los rayos-X, gamma y cósmicos, y las segundas a los electrones, neutrones, protones, núcleos de diversos átomos y partículas alfa.

Una fuente importante de partículas alfa es el radón. Este es un gas natural inerte radioactivo que aunque no existe en formas estables, el isótopo 222 es el único de importancia ambiental (Birrer y David, 1990) por sus efectos en la salud.

1.1 Características del radón

El radón-222 es un producto del decaimiento del uranio-238 uno de los muchos materiales radioactivos que se encuentran en la naturaleza.

Los elementos radioactivos están presentes en el aire, la comida, el agua, el suelo y en nuestro cuerpo. Uno de estos materiales radioactivos naturales y con relativa abundancia en el suelo es el uranio-238. Debido a su vida media tan larga, aproximadamente 4.5 billones de años, la cantidad en el suelo es prácticamente constante y cuando decae, origina una cadena de otros productos radioactivos de vida media más corta, llamada progenie o hijos y termina en plomo-206 el cual no es radioactivo.

El U-238 decae en el suelo y sus primeros 5 hijos son sólidos hasta el radio-226 que también permanece en el suelo. Sin embargo, el siguiente hijo es un gas inerte, incoloro, inodoro e insípido llamado radón-222 (Rn-222) que se difunde parcialmente en la atmósfera. Una vez en el aire, el radón y sus productos de decaimiento, generalmente llamados hijos del Rn o progenie del mismo, son normalmente diluidos en el inmenso volumen de aire de la atmósfera. Esta dilución conserva las concentraciones efectivas de radón y su progenie en niveles relativamente bajos en la atmósfera abierta (CNS, 1987).

El radón-222 tiene una vida media de 3.82 días y decae por emisión alfa (con una energía de 5.49 MeV) en diversos hijos de vida media corta, de los cuales, los emisores de partículas alfa más notables son el polonio-214 y polonio-218 que tienen una vida media de 0.164 milisegundos y 3.1 minutos respectivamente.

El grado con el cual contribuye cualquier fuente (suelo, materiales de construcción, etc.) a la concentración de radón atmosférico, depende de su contenido de radio y de la tasa a la que el radón es distribuido después de generarse, para lo que intervienen factores tales como presión atmosférica, velocidad del viento, densidad de lodos y humedad. Aunque la concentración de radioactividad natural varía mucho, los niveles de precursores de radón tienden a ser altísimos en arcilla negra, algunas fuentes de fosfato, granito y carbón de lignita, respecto a los materiales de construcción, como madera y yeso natural, que tienen las cantidades de radón más bajas, mientras que los fosfatos y el ladrillo rojo tienen niveles intermedios (CNS, 1987).

El radón puede alcanzar niveles significativos en el suelo, donde se distribuye por difusión y filtración en aguas subterráneas y gas natural. Se ha estimado que el 75% del radón que escapa, proviene de los primeros dos metros de profundidad del suelo, e inclusive el agua potable puede contener grandes concentraciones disueltas,

aunque, la cantidad de radón derivada de ella es pequeña. Sin embargo, cuando aquella proviene de rocas ácidas (granito) constituye una fuente importante de radón (Birrer y David, 1990).

El radón fluye de la tierra en todas partes pero sus niveles en el ambiente paradójicamente, cambian mucho de un lugar a otro, sin embargo, el grado de exposición al radón aumenta en lugares cerrados. En las zonas templadas, las concentraciones del gas en el interior de los edificios son, en terminos medios, unas ocho veces superiores a las existentes en el exterior (CSN, 1987).

El gas inerte entra en un ambiente intramuros via materiales de construcción o por liberación de agua subterránea, de tal manera que los niveles de equilibrio que se alcanzan dependen de la tasa de entrada de gas nuevo, del decaimiento radioactivo y de la ventilación, aunque el promedio de las cantidades domésticas de radón intramuros en Norteamérica es bajo 0.001 WL (Work Level, ver Apéndice 1), existen grandes variaciones (Cohen, 1980). Algunas casas habitación tienen radón por arriba de los permisibles en minas subterráneas (1 WL). En los Estados Unidos de América se han registrado niveles tan altos como 60 WL (12,000 pCi/l, ver Apéndice 1) y cada vez más frecuentemente se descubren concentraciones muy elevadas de radón. A finales de los años setenta se encontraron en hogares de Suecia y Finlandia concentraciones 5,000 veces mayores a las normales en el exterior (CSN, 1987).

Una inspección de 11,600 casas en 10 condados en los EUA, indicó que más o menos el 21% de las casas podrían exceder los niveles máximos permisibles de radón (0.02 WL, 4 pCi/l) establecidos por la Environmental Protection Agency (EPA) de los EUA (Birrer y David, 1990). No obstante, existen grandes variaciones dependiendo de la ubicación de las casas y por lo tanto, los niveles acumulables de exposición pueden ser igualmente variables.

La importancia de todas estas mediciones es reconocer la existencia de poblaciones que están expuestas constantemente al radón y dado que éste es un gas que se respira, la exposición a las partículas alfa, emitidas por este agente, es alta.

Hay suficientes evidencias que sugieren que estas partículas de baja energía y alta transferencia lineal de energía (LET) contribuyen significativamente a la inducción de cáncer.

El cáncer en los EUA constituye la segunda causa de muerte (Purchase, 1982) y por esta razón ha sido el objeto de estudio de numerosas investigaciones. Los estudios epidemiológicos en diferentes poblaciones y los movimientos migratorios del hombre de un lugar a otro también sugieren que el cáncer puede ser provocado por factores ambientales y que la prevención del mismo podría realizarse identificando con exactitud los que contribuyen a la incidencia de este mal, aunque, muchas de las causas ambientales pueden estar asociadas con el estilo de vida. Es también evidente que los compuestos químicos naturales y sintéticos y las radiaciones contribuyen a la generación de cáncer. Entonces, es una tarea importante la identificación de estos agentes, así como las dosis de radiación que constituyen un riesgo para la salud.

Por lo anterior se ha estimulado el desarrollo de nuevos estudios sobre el riesgo a la salud del hombre por la inhalación de este gas y la depositación interna de sus hijos en los tejidos humanos. En estos análisis se ha establecido que la inducción de mutaciones en células de mamífero depende del LET o de la radiación usada (Lea, 1955; Barendsen et al., 1960; Wolff et al., 1991). No obstante, los valores observados para los efectos biológicos de la radiación particularmente en la inducción de mutaciones en sistemas de prueba expuestos a altos LET de radiación, varían significativamente de uno a otro (Iliakis, 1984).

1.2 Efectos mutagénicos de las partículas alfa a nivel celular

Las estimaciones de la exposición a radón ambiental, han sugerido que produce efectos deletéreos en la salud, principalmente en la asociación causal entre exposición a radón y cáncer pulmonar (Roscoe et al., 1989). Para determinar los riesgos de la exposición a radón y su progenie, una cantidad importante de laboratorios está investigando la naturaleza de las lesiones responsables de su acción mutagénica y carcinogénica, utilizando una variedad de sistemas biológicos de prueba *in vitro* e *in vivo* expuestos a energías como las de las partículas alfa emitidas por el radón y su progenie.

La inhalación del radón y de sus productos de decaimiento es la vía de exposición más importante (Birrer y David, 1990), por su fácil absorción en el tracto respiratorio. Estos productos de vida media corta pueden introducirse en la mucosa bronquial formando parte de aerosoles (polvo, humo, etc.). De esta manera la energía es depositada en forma directa o indirecta en el ADN causando alteraciones en una o en ambas cadenas. Si el daño no es letal para la célula y si la lesión no se repara espontáneamente, la alteración podría ser transmitida a generaciones sucesivas de células de las que algunas pueden estar ya transformadas (Birrer y David, 1990).

Una partícula alfa es un núcleo de helio con masa de aproximadamente 4 uma (unidades de masa atómica) y carga de +2. Está integrada por dos protones y dos neutrones unidos por fuerzas nucleares. Como partícula alfa, viaja a través de la materia disipando gradualmente su energía a través de los procesos de excitación (desplazando electrones de su órbita a niveles de energía más altos) o de ionización (removiendo completamente electrones de su órbita) ó menos frecuentemente por colisiones con núcleos. Cuando ya toda su energía se ha disipado, cae en reposo y se convierte en un átomo de helio al capturar dos electrones del ambiente.

Las alfas, debido a su carga eléctrica y velocidad relativamente baja, son muy ionizantes. La ionización específica de una partícula alfa, aunque siempre muy alta, incrementa conforme la partícula pierde energía y velocidad a lo largo de su trayecto.

Se han hecho estimaciones acerca de la capacidad mutagénica de las partículas alfa del plutonio-238 en el locus de la enzima hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (*hprt*) de fibroblastos humanos y se ha encontrado que tiene la potencialidad de provocar aproximadamente 16 mutaciones por genoma en el tiempo de la irradiación y que inducen más mutagenicidad por unidad de dosis que los rayos-X (Chen et al., 1984). Lloyd et al., (1979) encontraron que el promedio letal para la célula es de 10 a 20 partículas alfa que equivalen en forma aproximada, a una dosis de 0.6 Gy. Igualmente Raju et al., (1991) con fibroblastos humanos explica que el número promedio de partículas alfa que atraviesan y producen una lesión letal varía de 2 a 6 partículas y que la lesión no letal podría ser la responsable de su alta carcinogenicidad.

1.3 Evidencias experimentales *in vivo* de inducción de cáncer con emisores alfa en diferentes sistemas animales.

El cáncer pulmonar o más propiamente el cáncer bronquial fue el primer tipo de cáncer, atribuible a la exposición a radiación ionizante (BEIR, 1980). En consecuencia se le consideró como uno de los efectos de la radiación más importante, extendiéndose las investigaciones relacionadas con los grupos expuestos. Desde 1972 a la fecha, el conocimiento de la inducción de cáncer bronquial por radiación en el hombre y tumores en animales, se ha incrementado considerablemente (BEIR, 1980). Más aún, se han logrado avances importantes en los conocimientos acerca de la dosimetría de radiación, relacionada al cáncer de pulmón y asociada con la inhalación de radionúclidos. Hay también nuevos experimentos y datos epidemiológicos acerca del papel que juega el humo de cigarro en la inducción de cáncer por radiación.

La producción experimental de cáncer por elementos emisores de partículas alfa en el tracto respiratorio de animales, indica que el origen de los tumores es a partir de regiones adyacentes a los bronquiolos en roedores y perros. En contraste, el cáncer humano causado por humo de cigarro o por exposición a otros agentes ambientales semejantes, siempre se inicia en los epitelios de regiones próximas al árbol bronquial (BEIR, 1980). Debido a éstas diferencias en el sitio de origen, han surgido importantes preguntas acerca de la aplicabilidad de los datos obtenidos con animales a las enfermedades del hombre, lo que hace indispensable diseñar nuevos protocolos de investigación que contribuyan al entendimiento de la inducción de cáncer por emisores alfa.

Perros

En un estudio a largo plazo, Filipy et al. (1977) expusieron tres grupos de 20 perros sabuesos, a la progenie del radón (600 WL) y a polvo de mineral de uranio (15 mg/m³) 4 h/día y 5 d/semana con y sin humo de cigarro (10 cigarros/día, 5 d/semana). Otro grupo fue expuesto a humo solamente. Posteriormente, después del periodo de exposición de 4 a 5 años y una dosis acumulada de más de 11,000 WLM, siete perros de los grupos expuestos a radón y uranio, desarrollaron cáncer: tres, bronquioalveolares; un fibrosarcoma en la periferia del pulmón y tres epidérmicos. Los animales de esos grupos que fueron sacrificados después de 40 meses o más, tuvieron varios adenomas en la unión bronquioalveolar, así como también granulomas y enfisemas. Tres perros presentaron carcinomas escamosos de la mucosa nasal. Entre los perros expuestos a humo de cigarro no apareció cáncer en ningún sitio.

En los estudios con perros también se han observado algunas discrepancias, por ejemplo, Cross et al. (1982) expusieron sabuesos a la inhalación crónica de radón (a 105 ± 20 nCi/l), a hijas del radón (a 605 ± 169 WL), a mineral de uranio (a 12.9 ± 6.7 mg/m³) y a humo de cigarro. La mezcla de estos agentes redujo

significativamente el período de vida de los perros respecto al grupo testigo. Los que presentaron tumores en el tracto respiratorio tenían por lo general acumulación de hijos del radón a concentraciones que excedieron 13,000 WLM. Sin embargo, el tiempo de sobrevivencia fue mayor que el de los animales que no manifestaron tumores. El enfisema y la fibrosis, fueron mucho más frecuentes y graves en los perros expuestos a la mezcla de hijos del radón y mineral de uranio. También tuvieron adenomas que avanzaron a metaplasias escamosas del epitelio alveolar y a carcinomas epidermoides y bronquioalveolares. Los tumores se produjeron pasados los 50 meses a niveles de exposición que no excedían los descritos para los mineros de uranio.

Mays et al. (1987) inyectaron perros sabuesos jóvenes con diferentes emisores de partículas alfa (Pu-239, Am-241, Th-228, Ra-228 y Ra-226) y se les mantuvo en observación durante toda su vida. La incidencia de sarcomas de hueso se incrementó con respecto a la dosis promedio del esqueleto, en forma casi lineal, a dosis altas de Pu-239, Am-241, Th-228 y Ra-226, y de manera sigmoidal para Ra-228. Con relación a la dosis promedio en esqueleto, la toxicidad de los emisores fue: Ra-226 >Pu-239 >Th-228 >Am-241 >Ra-228 y el promedio de vida a dosis altas fue menor en los expuestos que en los testigos.

Roedores

Los estudios experimentales con roedores también han arrojado datos importantes. Chameaud et al. (1974) sometieron ratas a varias concentraciones de progenie del radón, con dosis acumulada en función del número de exposiciones. Las frecuencias de ambos tipos de cáncer, epidermoide y bronquiogénico ó bronquioalveolar ocurrieron en relación a la dosis. A 26 ratas se les expuso a intervalos entre 300 a 500 WLM (grupo con la dosis más baja) y solamente se encontró un cáncer bronquiogénico y uno bronquioalveolar. Al cambiar el régimen de exposición, de 2,500 WL por 5h/día ó cerca de 74 WLM/d por 20 a 60 días (con una dosis

acumulada de 1500 a 4500 WLM) a 3000 WL 16h/día, ó cerca de 286 WLM/d durante 7 a 20 días (dosis acumulada de 2000 a 5500 WLM), se obtuvo un porcentaje mayor de cáncer, a la dosis más prolongada.

Durante 5 meses se trataron cricetos y ratas a hijas del radón con y sin polvo de mineral de uranio, a una dosis total acumulada de aproximadamente 10,000 a 12,000 WLM. En ambos grupos (cricetos y ratas) en contacto sólo con hijos del radón, las metaplasias escamosas de la región nasofaríngea fueron las más comunes y mientras que los cánceres en las células-escamosas del epitelio nasal fueron menos frecuentes. El grupo de ratas expuesto a polvo e hijos del radón manifestó metaplasias pero en la profundidad del pulmón en lugar de la región de la mucosa nasal. Los cricetos así expuestos no tuvieron neoplasias pulmonares pero sí fibrosis, enfisema y adenomatosis. Sin embargo, las ratas expuestas a hijas del radón y polvo de uranio presentaron una elevada proporción de carcinomas bronquioalveolares escamosos y ocasionalmente adenocarcinomas. Es evidente que los cricetos fueron más resistentes que las ratas al desarrollo de neoplasias del tracto respiratorio inferior. Más aún, el contraste de los resultados entre la exposición y no exposición al polvo, indica que las consecuencias de la primera ocurrieron principalmente en las vías superiores, posiblemente debido a la absorción en esa zona de la fracción de los iones libres de las hijas del radón (BEIR, 1980).

Little *et al.* (1975, 1978) han demostrado la inducción de cáncer bronquioalveolar a 0.15 Gy (dosis promedio) de polonio-210 incluido intratraquealmente, en cricetos. Una dosis única producida por 3.7 Bq en 0.2 ml de solución salina al 0.9 % causó tumores en pocos animales, al igual que una dosis acumulada, dada en 15 porciones cada una provocada por 5.6 nCi. Lo más importante de estos datos es que la incitación salina sola, incrementó el efecto del polonio-210. El mismo efecto se presentó con el benzo (a) pireno.

Schoeters et al. (1991), trataron ratones machos de la cepa C57BL con inyecciones de americio-241 de 22 a 58 Bq/g, les indujeron tumores de hueso. En cambio, a dosis de 190, 373 y 1197 Bq /g los ratones murieron a temprana edad por enfermedades no neoplásicas. La tasa de tumores como carcinoma de hígado, linfosarcoma y linforreticulosarcoma fue en proporción al incremento de la dosis. Además el promedio de muerte por tumores de hueso fue 12.9 ± 5.2 veces mayor con la inyección de Am-241 que con la de radio-226 y la frecuencia general de mortalidad fue 20.4 ± 3.6 veces mayor con americio-241 que con radio-226. El americio fue 2.3 ± 0.2 veces más tóxico que el radio-226.

Los resultados mencionados anteriormente, permiten llegar a las siguientes conclusiones:

-Los tumores del tracto respiratorio de los animales expuestos a radiación, se formaron en sitios donde la radiación local fue mayor.

-Los tumores bronquiales y sinusoidales en animales se producen por exposición a radón y sus hijos.

-La sensibilidad del tracto respiratorio de los animales a la inducción de cáncer por radiación, puede ser incrementada por irritantes u otros estimulantes de la proliferación celular, administrados después de la exposición a radiación.

-El tejido bronquial en el pulmón es un compartimiento separado que absorbe y deja de tomar materiales que juegan un importante papel en los carcinomas bronquiogénicos surgidos en el epitelio bronquial.

1.4 Estudios *in vitro*

El interés y la necesidad de conocer el efecto de las partículas alfa en el material genético ha estimulado el desarrollo y uso de técnicas cada vez más modernas y precisas como los cultivos celulares.

Raju et al. (1975) expusieron líneas celulares CHO (Chinese hamster ovary) a partículas alfa de Pu-238 y a rayos-X con LET en la superficie celular de $4.4 \text{ MeV}/\mu\text{m}$ y a $<250 \text{ KeV}/\mu\text{m}$, respectivamente. Sus resultados indicaron que en las células doblemente sincronizadas, la variación de la radiosensibilidad a rayos-X está en función del ciclo celular y del grado de sincronía. En contraste, las células tratadas con partículas alfa fueron más sensibles en S tardía con picos de radioresistencia correspondientes a G₁ y G₂ temprana.

Por su parte Chen et al. en 1984 describieron que la sobrevivencia en fibroblastos de piel humana expuestos a los mismos agentes es exponencial y la dosis letal media (LD₅₀) es de 0.25 Gy para las partículas alfa y de 1.3 Gy para los rayos-X. La inducción de mutación por las partículas alfa, en el locus *hgp_rrt* es lineal, respecto a la dosis y la curva de respuesta a los rayos-X se ajustó mejor a una función cuadrática en el intervalo de 0 a 3 Gy. Cuando graficaron la frecuencia de mutación contra el logaritmo de la sobrevivencia, observaron que era mayor en células expuestas a partículas alfa que en las tratadas con rayos-X.

Igualmente Thacker et al. (1982), demostraron que las partículas del plutonio-238 provocan en el locus *hgp_rrt* una frecuencia de mutación aproximadamente del doble de la obtenida con rayos-X de la misma energía. Shadley et al. (1991) determinaron que las partículas alfa del bismuto-212 son más citotóxicas, clastogénicas y mutagénicas que los rayos-X y aún cuando ambas producen rompimientos de doble banda, los inducidos por las partículas alfa son menos reparables que los causados por rayos-X.

Cornforth y Goodwin (1991) encontraron en fibroblastos humanos no cíclicos que la relación dosis respuesta es lineal en el intervalo de 0.2 a 3.0 Gy tanto para las partículas alfa del plutonio-238 (3.5 MeV) como para la radiación gamma y que el incremento en

promedio de fragmentos por célula, depende de la dosis, siendo éste en ambos tipos de radiación igual, tanto para dosis altas como para bajas (11.1 ± 0.2 y 10.7 ± 2.0 / Gy, respectivamente). Así mismo, la curva dosis-respuesta es la misma para los dos tipos de radiación.

Sin embargo, Barnhart y Cox (1979), cuando compararon la mutagenicidad y citotoxicidad en el locus *hprt* del mismo plutonio-238 con partículas alfa de $100 \text{ MeV}/\mu\text{m}$ en la superficie celular y rayos-X con energía de 250 Kvp, evidenciaron que no existe umbral de respuesta para ninguna de las dos energías y que la frecuencia de mutación, en comparación a la sobrevivencia celular, es menor con partículas alfa que con los rayos-X.

Las partículas alfa de una fuente de curio-247 indujeron dicéntricos en la primera metafase de linfocitos de sangre periférica a las 48 h de cultivo. La producción de aberraciones fue lineal en función de la dosis arriba de 4 Gy, con una pendiente de 28.6×10^4 dicéntricos por célula por 1×10^3 Gy, equivalente a los provocados con radiación gamma de Co-60 ($17.9 \text{ dic./célula}/1 \times 10^2 \text{ Gy}$) (Edwards 1980). Sin embargo, en linfocitos de la sangre periférica de mineros de uranio, se ha reportado que la permanencia de anillos dicéntricos no constituye un buen indicador de la relación dosis-respuesta ya que se ha observado que hay un marcado decremento de deleciones y anillos dicéntricos en los grupos de individuos expuestos a dosis por arriba de 3,000 WLM igual que las translocaciones e inversiones pericéntricas a dosis menores de 100 WLM (Brandom et al. 1978).

A pesar de todos estos estudios, todavía no se ha podido definir la dosis mínima a la que se incrementa la tasa de cáncer pulmonar. No obstante, en cricetos expuestos a 0.15 Gy de partículas alfa de polonio-218, se ha encontrado un exceso de neoplasias (Little et al. 1978). En mineros canadienses de uranio, parece haber una

frecuencia elevada de cáncer pulmonar en los grupos expuestos a dosis más bajas (1 a 30 WLM; en promedio, 10.9 WLM) con una dosis acumulada en los bronquios de 0.04 a 0.09 Gy. En los sobrevivientes de Hiroshima, se ha observado un exceso significativo de cáncer pulmonar en los grupos expuestos a intervalos de dosis entre 0.1 y 0.49 Gy, con un promedio de dosis absorbida en el pulmón de 0.088 Gy de radiación gamma y 0.00095 Gy de neutrones.

Es evidente que la inhalación de partículas alfa, así como la exposición crónica a diferentes tipos de radiación ionizante a dosis mayores de 0.1 Gy, incrementa el riesgo de generar tumores bronquiogénicos que terminan en cánceres graves. No obstante, todavía no hay suficientes estudios que indiquen lo que sucede con el contacto crónico a dosis de exposición menores a 0.1 Gy. No se sabe si realmente existe inducción de daño, dependiente de la dosis o de qué manera influye esto sobre la salud.

Por otro lado, existe poca información acerca del papel de los mecanismos de defensa biológica que prevengan los billones de eventos potenciales de iniciación que desarrollen un cáncer. La hipótesis de hormesis, que postula un efecto benéfico de la exposición a bajas dosis de cualquier agente, en este caso, predice que las dosis bajas de radiación podrían disminuir la incidencia de cáncer y aumentar el promedio de vida. Hay algunas evidencias substanciales que indican que las dosis bajas de radiación, estimulan mecanismos de defensa biológica (Cohen, comunicación personal). Igualmente Rüling y Fischer (1979) sugieren, que las dosis bajas a las que trabajaron podrían inducir la síntesis de enzimas reparadoras, Khandogina et al. (1991) también consideran la producción de un fenómeno de antimutagénesis debido a la exposición a radiación. Wolff et al. (1991) y James et al. (1991) plantearon que las dosis bajas provocan mecanismos de reparación que reducen las aberraciones cromosómicas en linfocitos, Wang et al. (1991) y Kelsey et al. (1991) proponen la inducción por rayos-X de respuestas adaptativas.

Sin embargo, hay grandes diferencias entre los resultados obtenidos con dosis bajas, especialmente con partículas alfa, de tal manera que se han presentado métodos diversos para exponer cultivos celulares y diseñar modelos de dosimetría, que describan la forma como la energía se deposita en diferentes órganos del cuerpo humano (Egon y Rüling, 1977; Egan y Nixon, 1985; Inkret et al. 1990; Falk et al. 1991; Rüling y Pohl, 1990; Eisen et al. 1991; Jostes et al. 1991; entre otros) y que contribuyan al conocimiento de los efectos de la exposición a partículas alfa.

Como ya se menciono anteriormente, las estimaciones de la exposición a radón ambiental, han sugerido que producen efectos deletéreos en la salud, por ello se ha investigado la naturaleza de las lesiones responsables de su acción mutagénica y recombinogénica, utilizando diversos sistemas biológicos, sin embargo, en este campo, *Drosophila melanogaster* no ha sido probada con anterioridad.

Por esto, en la presente investigación se consideró importante contribuir en el conocimiento de los efectos que pueda tener el radón atmosférico y su progenie, sobre las poblaciones expuestas con el sistema de prueba *Drosophila* mediante la prueba de mutación y recombinación somáticas en el ala (SMART) y el análisis de algunos factores de valor adaptativo.

1.5 Prueba de mutación y recombinación somáticas en el ala (SMART)

El sistema de prueba *Drosophila* es uno de los ensayos clasificado por la EPA de los EUA como rutinario debido a que ha demostrado ser bueno para hacer estudios en el campo de la mutagénesis (Würgler 1980) y porque presenta numerosas ventajas importantes, como son:

- Tiene un ciclo de vida de 10 días en condiciones de laboratorio, (25 ° C y 60 % de humedad relativa).

- Se pueden obtener tamaños de muestra grandes en espacios pequeños.
- El costo de su manutención es barato.
- Se pueden probar células de la línea germinal y somática
- Las pruebas se hacen *in vivo* con ensayos bien definidos para analizar diferentes eventos genéticos como mutaciones letales recesivas, pérdida de cromosomas, aberraciones cromosómicas y recombinación.
- Se pueden hacer pruebas en campo.

En años recientes se propuso el uso de células somáticas para detectar la capacidad mutagénica de un gran número de compuestos químicos (Vogel, 1985; Würgler et al. 1984 y Würgler et al. 1986). Este ensayo denominado mutación y recombinación somáticas (SMART), actualmente tiene un buen nivel de validación. La prueba se puede hacer utilizando células del ojo o del ala mediante marcadores determinados.

El ensayo SMART tiene varias ventajas entre ellas están: su bajo costo; la obtención de los resultados en una sola generación en comparación con la prueba de letales recesivos ligados al sexo que requiere de dos; se pueden probar un gran número de células (800 en el ensayo con ojo y 24,500 en el del ala); es capaz de detectar agentes alquilantes, mono y polifuncionales, que con otras pruebas resultan difíciles de detectar y con el se pueden analizar varios eventos genéticos tales como: mutación puntual, deleciones y recombinación. Esta última ventaja es de las más importantes porque gran cantidad de los agentes químicos que han resultado ser carcinógenos, inducen recombinación (Würgler, 1986).

Para esta prueba se utilizan larvas trans-heterocigóticas para dos marcadores de tricomas del ala (*mwh flr⁺ / mwh⁺ flr⁺*). Estos marcadores están en el brazo izquierdo del tercer cromosoma: multiple wing hair (*mwh*) en 3-0.0 y flare (*flr⁺*) en 3-39, como referencia el centrómero está en 3-47.7 y permiten la detección de

la actividad mutagénica y recombinogénica de los agentes químicos y las radiaciones ionizantes. La información de los detalles de estos marcadores genéticos se encuentran en Lindsley y Zimm, (1992). y Garcia-Bellido y Dapena (1974).

Además de la mutagenicidad, en esta investigación se consideró importante estudiar los efectos del radón y su progenie atmosféricos sobre la adaptabilidad de las poblaciones expuestas, mediante el análisis de la fecundidad, viabilidad huevo-adulto y la velocidad de desarrollo. Este tipo de estudio ofrece, por un lado, la posibilidad de ver el efecto del gas en el individuo en forma integral y por consiguiente en la población expuesta y por otro lado, establecer los intervalos de concentraciones del gas que puede detectar *Drosophila* y determinar si son un riesgo para las poblaciones expuestas.

Sobre aquello, hay suficiente información relacionada con la exposición de poblaciones a dosis altas de rayos-X y radiación gamma. No obstante, existe poco conocimiento acerca de los efectos en la adaptabilidad de los emisores alfa, principalmente naturales. Estos estudios, de los cuales hablaremos posteriormente, han demostrado que los factores de valor adaptativo de las poblaciones expuestas se alteran significativamente y que son evidentes después de muchas generaciones o que se expresan a largo plazo, por lo que se dificulta su observación en el hombre dado que tiene un ciclo de vida muy largo. Debido a esto, estimamos que *Drosophila* es un sistema útil para detectar los efectos que tiene el radón sobre algunos factores de valor adaptativo, así como sus posibles efectos mutagénicos, ya que su ciclo de vida es relativamente corto lo que permite analizar en un período breve varias generaciones.

1.6 Componentes genéticos de valor adaptativo

Es probable que en el curso de la evolución, la selección natural haya propiciado el desarrollo de mecanismos que controlen la

mutabilidad. La diversidad genética, necesaria para la adaptación de los organismos a nuevas condiciones ambientales, debe ser restringida dentro de ciertos límites. Una mutabilidad insuficiente podría no proveer la flexibilidad necesaria para la adaptación. Por otro lado, una excesiva tasa de mutación podría dar origen a una gran proporción de alelos deletéreos ó carga genética.

En este sentido, los niveles de radiación que estén por encima de los ambientales pueden tener efectos en las poblaciones naturales de *Drosophila*, debido al incremento en la tasa de mutación inducida. La reacción a dicho aumento de cambios puede ser estimada subdividiendo los valores adaptativos en diversos componentes o factores tales como: fecundidad, viabilidad, productividad, velocidad de desarrollo, etc. También puede ser medida usando la capacidad reproductiva diferencial bajo condiciones estandarizadas.

El estudio profundo de los componentes de valor adaptativo es muy importante, ya que pueden ser buenos indicadores del impacto a largo plazo de un ambiente donde las radiaciones u otros factores desfavorables puedan incrementarse hasta alcanzar niveles que pongan en riesgo el acervo genético de las poblaciones naturales. Los componentes genéticos de una población son aquellos que se moldean por selección natural y abarcan todas aquellas características comunes a un grupo de individuos, que pueden ser cuantificadas y distribuidas en el tiempo y en el espacio. Tales componentes son por ejemplo, la viabilidad (huevo-larva-adulto), la fecundidad, la habilidad para aparearse, la velocidad de desarrollo, la proporción de los sexos, etc.. Su estimación es el primer paso para comprender la evolución de una población (Yamazaki, 1984). De esta manera se considera que cuando algún factor ambiental es alterado por la actividad humana, su efecto se verá reflejado en dichos factores, debido probablemente a alguna modificación en el ADN, ya que todos éstos están determinados genéticamente (Ohnishi 1979; Sewell et al. 1975). A este respecto

existe un gran número de investigaciones realizadas (Parsons et al. 1969; Takano et al. 1987, entre otros).

Estos factores genéticos han sido ampliamente estudiados y caracterizados en diferentes especies de *Drosophila*. Por Barker y Podger (1970a) en *Drosophila melanogaster* y *D. simulans*, Temin (1966) en *D. melanogaster* y Marinkovic (1967) en *D. pseudoobscura*, analizaron la fecundidad y los modificadores de fertilidad que tienen las poblaciones naturales. Ranganath y Krishnamurthy (1972, 1974) en *D. nasuta*, analizaron la tasa de desarrollo y fecundidad. Singh (1973) midió la fecundidad en poblaciones naturales de *D. ananassae* y encontró que había variación genotípica entre ellas. Alvarez y Fontdevila (1981) estudiaron también la fecundidad en *D. melanogaster*.

A partir de los resultados obtenidos por todos ellos se han diseñado modelos de adaptabilidad para diversos genotipos por ejemplo, los de Anderson (1971), Roughgarden (1971), Clarke (1971) y Charesworth (1971), que investigaron el papel de la selección en los diferentes estados desde cigoto hasta la maduración sexual, estableciendo así que la selección ocurre sólo en el componente de viabilidad por ser éste la suma de todos los retos enfrentados por el individuo.

Marinkovic et al. (1973), analizaron el efecto de la edad en la viabilidad huevo-adulto de *D. melanogaster* y encontraron que los grupos de progenitores homocigóticos viejos, tienen baja viabilidad con respecto a los jóvenes, mientras que en los heterocigóticos fue prácticamente igual. Sin embargo, las combinaciones de edades de progenitores homocigóticos para un marcador recesivo en el segundo cromosoma, dieron por resultado una viabilidad semejante a la de las combinaciones entre progenitores heterocigóticos.

El desarrollo de las técnicas moleculares, ha permitido poner de manifiesto la extensa variabilidad genética en las poblaciones naturales (Ayala, 1983; Nevo, 1978; Powell, 1975). No obstante, el

significativo avance alcanzado en la detección de esta variabilidad no evidencia el paralelismo deseado, que se exprese en mayor conocimiento acerca de los mecanismos evolutivos que la mantienen (Santos et al. 1984). Por esta razón, es importante continuar determinando, entre otras cosas, la influencia que los factores físicos del ambiente como la radiación tienen sobre la aptitud relativa de los genotipos en una población.

Se han realizado numerosas investigaciones sobre los efectos biológicos de las radiaciones en poblaciones de laboratorio de *Drosophila* durante el transcurso de los años. Wallace (1956), usó la línea Oregon-R de *D. melanogaster* y tomó moscas cuyo segundo cromosoma estaba exento de genes letales colocando poblaciones en cajas translúcidas. Dos de las poblaciones recibieron una dosis crónica de 5 R/h de radiación gamma, resultando un total de 2,000 R por generación. Después de 130 generaciones, encontró que el 87% de las moscas probadas llevaban ya genes letales recesivos en el segundo cromosoma. Sorprendentemente, al comparar con moscas, cuyo segundo cromosoma era normal, las poblaciones no presentaron signos de extinción, y mucho menos, reducción en la viabilidad huevo-adulto.

Sankaranarayanan (1965, 1966 y 1967) utilizó el testigo de población de Wallace y lo expuso a dosis agudas de rayos-X (2,000, 4,000 y 6,000 R) por generaciones sucesivas, manteniendo a las poblaciones en frascos de cultivo. Posteriormente examinó la viabilidad de las poblaciones por generación y observó que declinaba rápidamente durante las primeras cuatro. Cuando las poblaciones habían recibido una dosis acumulada de 120,000 R, suspendió el tratamiento y analizó cada generación. Con esto observó que la viabilidad de las tres poblaciones, se recuperó aproximadamente en las cinco primeras generaciones después de suspender la irradiación, hasta alcanzar los valores del grupo testigo, pero el grupo que recibió el régimen de dosis más alto, necesitó de mayor tiempo para recuperarse.

Blaylock y Shugart (1972), colocaron igual número de moscas de *D. melanogaster* y *D. simulans* a competir en cajas de población. A los machos de *D. simulans* les dieron durante tres semanas, dosis agudas de 250, 500 y 1000 R de radiación gamma. Simultáneamente determinaron la cantidad de moscas de ambas especies y encontraron que la frecuencia relativa de *D. simulans* fue la misma para la población irradiada con 1000 R, que para testigo. Sin embargo, en los primeros 21 días de muestreo y durante el transcurso del experimento, hubo un aumento significativo en la frecuencia relativa de la población de *D. simulans* expuesta periódicamente a 250 ó 500 R. Este incremento en la adaptabilidad de las poblaciones irradiadas, no está restringido a *Drosophila*, también ha sido observado por Crenshaw (1965) en el escarabajo de harina *Tribolium confusum*.

De la misma forma, Nelson (1973), estudió la radiosensibilidad de *D. melanogaster* y notó que las hembras cruzadas con machos tratados con 50, 120 y 150 Gy producen aproximadamente el mismo número de huevos que el testigo, pero el 68, 93 y 90% respectivamente, no eran viables y la longevidad de los machos fue inversamente proporcional a la dosis de radiación recibida.

Márques (1973), midió el valor adaptativo de poblaciones experimentales de *D. nebulosa* irradiadas cada generación con dosis de 500, 1000 y 2000 R de radiación gamma, con respecto a su habilidad para competir con la población no irradiada de *D. willistoni* y la radioresistencia de *D. nebulosa* con diferentes historias de radiación. Los resultados que obtuvo de la competencia interespecífica fue a través de la fecundidad y viabilidad, siendo la primera de ellas la menos radiosensible de ambas poblaciones. Con esto demostró que *D. nebulosa* tratada fue menos susceptible que el testigo a los efectos nocivos de la radiación y más competitiva.

En los trabajos de Salceda (1970) y Salceda y Ramírez (1970), se analizó la velocidad de desarrollo diferencial de *D. melanogaster*

entre portadores de genes letales y de no letales, y se estableció que los individuos heterocigóticos, se incrementaban más rápidamente que los homocigóticos. Los heterocigotos para cromosomas portadores de genes letales, tenían en todos los casos, un desarrollo más rápido. Finalmente la irradiación confirmó a los heterocigóticos normales, ventaja en este aspecto, igualando a los portadores de genes letales recesivos producidos por una irradiación previa. Aparte, también se ha encontrado que diferente velocidad de desarrollo es característica de poblaciones de *D. simulans* provenientes de varios lugares de México (Salceda, 1990).

En la actualidad se están utilizando algunos factores de valor adaptativo como indicadores para monitorear el impacto ambiental de la planta nucleoelectrónica de Laguna Verde, Ver., México., sobre las poblaciones de *Drosophila* que habitan en ese lugar. Los caracteres que se analizan son resistencia a la desecación, altura de pupación, habilidad de desplazamiento, proporción de pupación larvaria, dispersión y viabilidad huevo-adulto, así como la radiosensibilidad (Levine et al. 1989).

De la Rosa et al. (1989) y Guzmán et al. (1989) comprobaron que *D. melanogaster* presenta consistentemente la mayor viabilidad huevo-adulto, más resistencia a la desecación y más capacidad de desplazamiento que *D. simulans*. De la Rosa et al. (1989) analizaron la radiosensibilidad de ambas especies y observaron que *D. melanogaster* es menos radiosensible que *D. simulans*. Rockwell et al. (1991) observaron a lo largo de tres años que *D. melanogaster* muestra mayor resistencia a la desecación que *D. simulans*. La misma relación se evidenció en cuanto a la capacidad de dispersión (Olvera et al. 1993). Los resultados de muestreos estacionales, inter e intraespecíficos obtenidos durante el período de 1986 a 1993 han sido muy consistentes, por lo que se consideró que los componentes genéticos analizados, puedan ser buenos indicadores del efecto genético del radón sobre las poblaciones de *Drosophila melanogaster* expuestas a este agente.

Por lo anterior y con el afán de contribuir al conocimiento de los efectos de las partículas alfa del radón, que pueden causar alteraciones en el ADN heredables a generaciones sucesivas de células y/o inducir un proceso canceroso o modificar la carga génica de las poblaciones expuestas, se fijó el siguiente objetivo.

2. OBJETIVOS

Estudiar los efectos biológicos del radón en *Drosophila*, considerando que éste organismo pueda ser un buen monitor biológico en ambientes con concentraciones de radón que representan un riesgo para la salud.

Para ello se establecieron los siguientes objetivos particulares.

a) Determinar la relación concentración-respuesta del radón mediante el ensayo de mutación somática y recombinación en el ala de *Drosophila*.

b) Detectar de qué manera influye el radón sobre algunos factores de valor adaptativo como:

- 1) Fecundidad
- 2) Viabilidad huevo-adulto y
- 3) Velocidad de desarrollo

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Mutación y recombinación somáticas

Las cepas que se utilizaron para esta prueba, fueron la *mwh/mwh* y la *flr¹/In(3LR)TM3*, *ri p²sep 1(3)89Aa bx¹⁴* e *Bd¹*.

De la *mwh/mwh* se aislaron hembras vírgenes y de la *flr¹/TM3*, *Bd¹*, machos. Ambos se dejaron madurar 6 días y después se cruzaron entre sí durante 24 h. Se les dejó poner huevos en frascos lecheros de 1/4 de litro durante 4h. Posteriormente los huevos depositados se incubaron 72 h., para obtener larvas transheterocigóticas *mwh flr¹+ / mwh+ flr¹* de segundo estado. Estas constituyen la mitad de la progenie larvaria y la otra mitad son *mwh/TM3*, *Bd¹*. La construcción *TM3* es necesaria para balancear *flr¹* en la siguiente generación ya que éste es letal en condición homocigótica y *Bd¹* sirve para distinguir los dos tipos de descendencia. Sin embargo, las células del ala con el fenotipo *flr¹* en mosaicos somáticos son viables (García Bellido y Dapena, 1974).

Cuando las larvas alcanzaron el segundo estadio, se aislaron por gradiente de densidad con una solución de sacarosa al 20% y se sembraron en grupos de 40 por tubo homeopático (con medio de cultivo) de 3 cm de altura por 2.5 cm de diámetro tanto para los tratados como para los testigos. La cantidad de tubos varió de 7 a 11, dependiendo de la cantidad de larvas. Estos tubos se taparon con organza de un poro de 0.5 mm aproximadamente, y se introdujeron en dos cámaras de acrílico (una para el tratado y otra para el testigo) translúcido de 13.5 x 13.5 x 35 cm quedando perfectamente selladas (Tavera et al. 1991). A ambas cajas se les extrajo el aire a 400 mm de Hg de presión durante 1 minuto. Concluido esto, se dejó pasar el gas radón al grupo tratado y al testigo aire. Ambos permanecieron así durante 72 h.

Al terminar el tratamiento se sacaron de las cajas ambos grupos, se retiró la tapa de organza de los tubos y se añadió un aumento de

tubo para darles una altura total de 9.5 cm. Después se incubaron en condiciones de laboratorio ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, y 60% de humedad relativa). Una vez obtenidos los adultos, se pusieron en alcohol etílico al 70% y se escogieron los individuos con el genotipo *mwh flr⁺* / *mwh⁺ flr⁻*, a los cuales se les disectaron las alas para montarlas en preparaciones fijas con solución de Faure (Graf et al., 1984).

Las alas se analizaron bajo el microscopio compuesto a 400X de aumento y se contaron las manchas encontradas según su tipo: simples *mwh* o *flr* que pueden ser pequeñas de 1 a 2 tricomas o grandes de 3 o más y gemélas *mwh* y *flr*.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente con el programa de computación, versión 2.1, propuesto por Frei y Würzler (1988) SMART que aplica en el procedimiento de la desición la prueba binomial de Kastembaum y Bowman (1970) o la prueba de χ^2 para proporciones a un nivel de significancia de 0.05.

3.2 Exposición al radón

Para controlar la atmósfera de radón se construyeron dos cámaras de lucita. La primera, de 40 cm por lado, contiene 0.987 Kg de mineral de uranio (Pechblenda) que genera en el interior, una concentración máxima del gas, de aproximadamente 909 kBq/m³ (Balcázar et al. 1987) y se conecta a la segunda cámara, ya antes descrita, para introducirle el radón y así exponer los organismos (Tavera et al. 1991).

3.3 Medición de las concentraciones del radón

Para determinar la concentración de radón a la que se exponen las larvas en cada experimento, se utilizan detectores plásticos de trazas nucleares (LR115 fabricados por Kodak Pate, Francia).

El procedimiento para la determinación consiste de los siguientes pasos: hojas de detectores en forma de rectángulos de 2 x 5 cm se colocan en el techo y paredes internas de la cámara de exposición, permaneciendo ahí durante el tratamiento; una vez terminado éste los detectores se someten a un proceso químico para agrandar las trazas que forman perforaciones producidas por la radiación; después se cuantifican automáticamente éstas, con un contador de chispa. El número de perforaciones obtenidas es proporcional a la concentración de radón por un factor de calibración igual a 37 Bq/m³/d/1 perforación (Balcazar, et al, 1986).

3.4 Fecundidad y Viabilidad huevo-adulto

La fecundidad es un factor del potencial reproductor que se refiere a la capacidad para formar gamétos, cuya medida es la producción de huevos (Pimentel, 1988). Complementariamente, la viabilidad huevo-adulto representa la suma de retos que deberán ser superados antes de la maduración sexual para que la reproducción pueda ser activada (De la Rosa et al., 1989) y se define como el porcentaje de individuos que llegan a la etapa adulta o reproductora, del total de aquellos que fueron originados por la unión gamética e indica la frecuencia de genes letales que afectan al individuo en las diversas etapas del desarrollo (Pimentel, 1988). El resultado de estos dos factores representa, en teoría, la suma de las alteraciones inducidas en el genoma de las poblaciones.

Para hacer la prueba se utilizaron individuos de la cepa Canton-S de *D. melanogaster*. Estas moscas se propagaron en frascos lecheros de 1/4 de litro y una vez maduras se pusieron a ovipositar en cajas Petri de 5 cm de diámetro con medio de cultivo regular (harina de maíz-levadura de cerveza-agar-sacarosa) durante 4 h. Los huevos depositados se incubaron 72 h para obtener larvas de segundo estadio, en el cuarto de cultivo a 25 ± 1 °C de temperatura y 60 % de humedad relativa.

La colecta de larvas y la exposición al radón, se efectuaron en la forma anteriormente descrita.

Cuando emergieron las moscas se obtuvo el porcentaje de viabilidad y se tomaron 102 parejas, para tener validez estadística, por grupo e incubarlas 4 días en las condiciones de laboratorio señaladas anteriormente. Una vez maduras, se pusieron 3 de ellas por frasco homeopático con medio de cultivo y se dejaron poniendo huevos por 24 h. Se contó el número de huevos y se continuó la incubación en condiciones similares hasta concluir el desarrollo. De esta manera se obtuvo el dato de fecundidad. Una vez que emergieron los adultos, se contaron por separado hembras y machos de cada grupo, para determinar la viabilidad huevo-adulto.

Se efectuó el mismo proceso durante 4 días para cada una de las 9 generaciones tratadas y los resultados obtenidos se analizaron con un método estadístico paramétrico para fecundidad y uno no paramétrico para viabilidad huevo-adulto. Posteriormente se hicieron las comparaciones con la prueba de homogeneidad de variancias de Bartlett.

3.5 Velocidad de desarrollo

Para medir el efecto del radón sobre la velocidad de desarrollo se utilizaron huevos de la cepa Canton-S, los cuales se colectaron poniendo a ovipositar a la línea, con el procedimiento descrito para el análisis de mutación somática. Los huevos se seleccionaron con ayuda de un microscopio estereoscópico a 8X de aumento y se sembraron en grupos de 40 por tubo.

La exposición al radón se efectuó en las condiciones antes especificadas. Concluido el tratamiento se incubaron en condiciones de laboratorio hasta concluir el desarrollo. Pasados nueve días se procedió a revisar los tubos diariamente, a la misma hora y se contaron los adultos observados.

Los resultados se analizaron mediante el cálculo de la pendiente de cada curva, para así establecer las diferencias entre los grupos tratado y testigo.

4. RESULTADOS

4.1 Mutación y recombinación somáticas

Los resultados se muestran en la tabla 1, junto con las 5 diferentes concentraciones de radón probadas (1 ± 0.3 , 5 ± 1 , 33 ± 6.4 , 44.6 ± 8 y 111 ± 7.4 kBq/m³). El análisis de los resultados con el programa demostró que la primera concentración de 1 ± 0.3 kBq/m³ indujo una frecuencia de manchas gemelas estadísticamente más alta que la del grupo testigo. No obstante, no lo fué en el total de manchas inducidas.

Apartir de la concentración de 33 ± 6.4 kBq/m³ en adelante se noto un aumento significativo en la frecuencia de manchas chicas y totales, no así para las manchas grandes. Sin embargo, en la mayoría de las concentraciones probadas excepto en la de 5 ± 1 kBq/m³ se noto una tendencia a aumentar las manchas gemelas, este incremento fue significativo en la primera y última de ellas.

El análisis de la sumatoria de los resultados, indicó que el radón incremento significativamente las manchas pequeñas, gemelas y totales. En la figura 1 se representa la frecuencia total de mutación inducida en función de la concentración de radón. El análisis de correlación indicó que los datos se ajustan a una recta ($r = 0.800$), por lo que $y = 0.48 + 0.2217x$, donde $y =$ a la frecuencia de mutación y $x =$ concentración de radón en kBq/m³.

Las figuras 2 y 3 representan las frecuencias relativas de manchas simples y gemelas, respectivamente, observándose que la exposición al radón incrementa las frecuencias de ambos tipos de manchas.

4.2 Fecundidad

En *Drosophila melanogaster*, el período con producción máxima de huevos comprende del cuarto al decimotercer día de edad (Birchet al., 1963; Marinkovic, 1967; Barker, 1973), por lo que en la

presente investigación se midió la fecundidad y la viabilidad huevo-adulto entre el 4^o y 7^o día.

Los datos de fecundidad obtenidos se presentan en la tabla 2. A todos ellos se les comprobó su normalidad y se analizaron estadísticamente mediante comparaciones entre las variancias de los grupos testigo y tratado, con la prueba de Bartlett. El análisis se hizo por día y para cada generación. Cabe mencionar que de las diez generaciones estudiadas se eliminó la P (progenitores) debido a que el número de individuos no se ajustó para el análisis estadístico.

Se observó que durante casi todo el intervalo, la fecundidad del grupo tratado fue significativamente menor en las generaciones F2, F4, F10, F14 y F18. No obstante, que en los días 7 para la F2 y 4 y 7 para la F4, no hubo diferencias significativas pero, la tendencia se mantuvo en el mismo sentido.

Por su parte la generación F6 en solo dos de los días 4 y 6, presentó una disminución significativa de la fecundidad y la F12 en uno de ellos (día 5) y en otros solo mantuvo la tendencia a la baja.

Con respecto a la generación F8, la fecundidad también se redujo, en los días 4, 5 y 6 pero las diferencias no fueron significativas. No obstante, en la generación F16 se invirtió el efecto en tres días, es decir que la fecundidad aumentó en el grupo tratado, siendo este incremento significativo sólo en el día 5.

En la figura 4 están representados los promedios acumulados de la fecundidad, de los grupos testigo y tratado. Estos valores se obtuvieron sumando los promedios de fecundidad del 4^o día más el del 5^o se tiene el acumulado del 5^o, luego, los anteriores más el promedio del 6^o se tiene el acumulado del 6^o y finalmente todos los anteriores más el promedio del 7^o se tiene el acumulados del 7^o día de la figura 4. En esta se ve que la curva del grupo testigo

está por encima de la curva del tratado. Al comparar dichas curvas se encontró que las diferencias son muy significativas, a un nivel de 0.05 de probabilidad ($F = 12.37$).

4.3 Viabilidad huevo-adulto

Los huevos utilizados para medir fecundidad, se mantuvieron en condiciones de laboratorio, temperatura, humedad y alimento ya descritas con anterioridad, hasta concluir el desarrollo y así determinar la viabilidad huevo-adulto. En la tabla 3 se muestran los datos obtenidos mediante el análisis no paramétrico por tratarse de un porcentaje cuya bondad de ajuste no obedece a una distribución normal. Una vez comprobada la normalidad de los datos, se hicieron las comparaciones entre las variancias de los testigos y de los tratados aplicando la prueba de Bartlett, para cada día de las generaciones estudiadas. Los resultados están también en la tabla 3, representados con el valor de Z . Las diferencias obtenidas fueron a un nivel de 0.05 de probabilidad.

De esta forma se puede observar que los grupos tratados de las generaciones F4, F8, F10, F12, F14, F16 y F18 presentaron una tendencia a aumentar la viabilidad huevo-adulto. Las diferencias fueron estadísticamente significativas en la mayoría de los días analizados para las siete generaciones (ver tabla 3). Por ejemplo, en la generación F10 en todos los días y en la F18 en tres de ellos.

En las generaciones F2 y F4 el efecto del tratamiento hizo que aumentara muy poco este factor. En la F6 el efecto es ligeramente diferente, en algunos días la tendencia es a disminuir y en otros a aumentar la viabilidad.

La figura 5, representa los promedios acumulados de la viabilidad huevo-adulto, obtenidos de la forma descrita en fecundidad, donde se puede apreciar en el grupo tratado una tendencia al aumento en

este factor. Sin embargo, el análisis estadístico indicó que no fue significativo.

4.4 Velocidad de desarrollo

En la tabla 4 están los resultados de este factor en porcentajes acumulados de viabilidad y las concentraciones de radón probadas así como las pendientes (m) calculadas. Los acumulados se obtuvieron como ya se describió anteriormente pero aquí, se sumó el porcentaje de adultos emergidos diariamente. De esta manera, las pendientes representan la cantidad de individuos emergidos por día.

Las pendientes calculadas (ver apéndice 2) demuestran que a mayor concentración menor velocidad de desarrollo. Así con la concentración 3 ± 0.6 kBq/m³ (radón 1) la pendiente fue de 57% ind/día, con 78 ± 5.8 kBq/m³ (radón 2) de 38% ind/día, con 140 ± 8 kBq/m³ (radón 3) de 25% indiv/día y la del testigo fue de 43% indiv/día. Los porcentajes acumulados de viabilidad contra tiempo, están representados en la figura 6; en donde se notan con mayor claridad las diferencias entre las pendientes de las curvas de velocidad de desarrollo para cada concentración.

5. DISCUSION

Una de las ventajas que tiene el ensayo SMART, es que se puede calcular el número de divisiones mitóticas que transcurrieron después de haberse inducido el daño genético, considerando el tamaño de la mancha observada (Wurgler y Vogel, 1986). En el presente estudio se encontró que la exposición al radón incrementó principalmente la frecuencia de manchas chicas. Este aumento se inició desde la segunda concentración probada 5 ± 1 kBq/m³.

A partir de esta en adelante las frecuencia de manchas pequeñas inducidas fue estadísticamente superior al testigo, este incremento fue directamente proporcional a la concentración de radón probada. Cuando se hizo el análisis de correlación, se encontró una buena relación concentración-dependiente ($r = 0.800$). Este resultado es comparable con la relación dosis-respuesta obtenida con el mismo ensayo para rayos gamma, en el rango de 1 a 20Gy. (Pimentel, 1995 datos no publicados). No obstante, cuando se compararon las pendientes de ambas relaciones se observó que las partículas alfa del radón producen más daño ($m = 0.2217$) que los rayos gamma ($m = 0.0003$).

Cuando se hicieron las estimaciones de la dosis asociadas a pulmón, que pudieron recibir las larvas expuestas, se encontró que estas eran muy bajas (370kBq/m³ equivalen a 0.0106Gy), (Ver apéndice 2), esto quiere decir que la relación dosis-respuesta encontrada esta asociada a dosis por abajo de 0.0106 Gy, lo que confirma que las partículas alfa tienen una eficiencia biológica relativa (RBE) muy alta comparada con los rayos gamma. Así, la recta obtenida con los datos de mutación somática es comparable con la encontrada por Cornforth y Goodwin, 1991 con la técnica de condensación prematura de cromosomas (PCC), quienes encontraron una clara relación dosis-respuesta, en el intervalo de 1.1 a 22.4 Gy de producción de fragmentos PCC. Igualmente concuerda con lo establecido por Taker, et al (1982) y Chen, (1984).

Como se puede ver en la tabla 1, la exposición a radón incrementó principalmente la frecuencia de manchas pequeñas en el rango de las concentraciones probadas (Ver figura 2), este efecto podría indicar que las partículas alfa del radón, tardan en llegar al blanco, en este caso las células del disco imagal que van a dar origen a el ala del adulto y cuando finalmente lo alcanzan provocan el daño en la célula, pero entonces a ésta solo le restan pocas divisiones mitóticas y el resultado es una mancha pequeña en el ala.

Cabe mencionar que una vez que la partícula alfa alcanza las células blanco, el daño puede ser inducido directamente o por un efecto indirecto por medio de radicales libres, ya que éstos son fragmentos muy reactivos, capaces de interactuar con el ADN, o por excitación de las moléculas que encuentra en su trayecto.

Anteriormente se sugirió que las partículas alfa del radón tardan en llegar al blanco, ésta hipótesis está basada en las características del radón. En el protocolo que se utilizó para exponer el material biológico, se tomó en cuenta que el agente en estudio es un gas, por esta razón se decidió exponer larvas, las cuales son muy activas metabólicamente y por lo tanto respiratoriamente. Por otro lado, el radón es muy mizible en agua y el alimento donde están los organismos contiene un alto porcentaje de ésta, esto permite que se mezclen, y de esta manera se tienen dos posibilidades para que el radón entre a las larvas y alcance las células del disco imagal: respiratoria y digestiva. Pero en ambas formas, las partículas alfa del radón pasan por varios procesos metabólicos que requieren tiempo para efectuarse y por esta razón, cuando llegan a las células blanco, a estas les restan pocas divisiones mitóticas, razón por la que se encontró principalmente manchas pequeñas. Por supuesto, no se descarta la posibilidad que este efecto sea debido también a que las partículas provoquen muerte celular o retraso mitótico.

No obstante, en la Tabla 1 se ve que existe tendencia a la inducción de manchas gemelas, aunque no en todas las concentraciones probadas, sin embargo, la producción de este tipo de mutación fue significativamente superior a el grupo testigo cuando se compara el total de estas (ver figura 3) . Este resultado, nos indica que las partículas alfa del radón provocaron recombinación.

Con respecto a la fecundidad, se ha comprobado que la curva puede ser influenciada por: el estado fisiológico de las hembras, la intensidad de la luz y la alimentación (Allemand, 1983 a,b y Allemand y David 1984), Sin embargo, en el presente estudio se consideró que si las radiaciones ionizantes incrementan la carga genética de las poblaciones expuestas crónicamente (Sankaranarayanan 1964, 1965 y 1966) estas también pueden alterar la curva de fecundidad de manera más severa, así como inducir cambios en la viabilidad huevo-adulto de las poblaciones afectadas.

El análisis estadístico de los resultados muestra que en 5 de las 9 generaciones tratadas disminuye significativamente la fecundidad en el período analizado. No obstante, en las generaciones expuestas F6, F8 y F12 sólo tuvieron tendencia a bajar la cantidad de huevos en la mayoría de los días. Considerando que solamente la F16 se comportó en forma inversa, se puede decir que dicha tendencia no es producto de las variaciones normales o esperadas, ya que cuando se analiza la suma de los resultados de cada generación por día, se concluye que la exposición al radón disminuye significativamente la producción de huevos en el período comprendido entre el 4º y 6º día.

Lo anterior sugiere que la disminución de la fecundidad, probablemente, se debe a la inducción de mutaciones letales dominantes durante la gametogénesis de las larvas expuestas desde las 16 h del desarrollo embrionario es posible observar las gónadas y sus primeras divisiones mitóticas tanto en hembras como en machos

(Sonnenblick 1950; Mahowal y Kambysellis, 1980). Catcheside y Lea (1945a) encontraron un alto porcentaje de letales dominantes ya que sólo el 4.1% de los cigotos de padres irradiados con rayos-X a dosis de 90 Gy llegaron al estado larvario; de éstos, el 90% puparon y eclosionaron como adultos.

Es probable que la exposición al radón haya causado daño en cualquier etapa del ciclo celular germinal pudiendo ser cromatídico o cromosómico debido a un solo impacto de una partícula sobre las dos hebras del ADN o a dos impactos que ocasionaron dos rompimientos independientes, causando la muerte de los cigotos durante la embriogénesis. Se ha demostrado que la irradiación del esperma con rayos-X conduce a una considerable mortalidad de los cigotos F1 debida a mutaciones puntuales o rompimientos cromosómicos (Sankaranarayanan, 1974). Aunque las mutaciones puntuales dobles contribuyen indudablemente al incremento de letalidad dominante, en realidad una gran proporción de la letalidad es debida a rompimientos cromosómicos inducidos en el esperma, que pueden provocar tanto fallas en los mecanismos de la reunión después de la fertilización (Pontecoruo, 1941), como producir cromosomas que a consecuencia de la fusión ilegítima de cromátidas hermanas o de dicéntricos no puedan ser transmitidos mitóticamente (Lea y Catcheside, 1945 y Muller, 1954). Por otra parte, Shadley *et al.* (1991) demostraron que las partículas alfa del bismuto-212 inducen rompimientos de doble banda no reparables. El curio-242 provoca la formación de cromosomas dicéntricos durante la primera metafase en linfocitos de sangre periférica (Edwards *et al.*, 1980) así como translocaciones e inversiones pericéntricas (Brandom *et al.*, 1978).

Por otro lado, está comprobado que la radiación ionizante produce retraso en el desarrollo embrionario de los cigotos F1. Al exponer machos a 30 Gy de rayos-X se observa que sólo el 50% de los cigotos F1 eclosionaron en comparación con un 70% en los testigos. Además los embriones de los irradiados tardaron más tiempo en alcanzar su

desarrollo. Tales embriones retrasados indican la presencia de daño reparable en la población tratada. Se considera que el 50% de individuos que no llegan a eclosionar son portadores de letales dominantes (Baumiller y Herskowitz, 1959). En el presente estudio se observa que tanto en las larvas (ver Tabla 6) y huevos expuestos (ver Tabla 5) como en los huevos que estas depositaron (ver Tabla 2), se retrasó el desarrollo, lo que sugiere que el radón indujo daño reparable.

Lo anterior concuerda con la velocidad de desarrollo, es decir el número de individuos que alcanza su crecimiento total por unidad de tiempo, ya que con las tres diferentes concentraciones probadas, se observa que el desarrollo es inversamente proporcional a la dosis. Estos resultados coinciden con lo encontrado en *D. ananassae* irradiada con radiación gamma (Pimentel, 1988).

Cuando se observa el valor de la F calculada por día, se nota una recuperación de la fecundidad conforme a la edad de las moscas. así para el 4º día, $F = 29.12$, para el 5º, $F = 11.0$, para el 6º, $F = 8.02$ y para el 7º $F = 0.95$. Esta diferencia es debida probablemente, a que las células gaméticas que estaban en desarrollo más avanzado fueron más sensibles que las que estaban en etapas más tempranas, este resultado concuerda con el obtenido por Sankaranarayanan (1974), donde el espermatozoide maduro de *D. melanogaster* es más sensible que las espermatidas, a la inducción de letales dominantes por rayos-X y con lo establecido por King et al. (1956) quienes encontraron que existe mayor sensibilidad en ovocitos S14 que en los S7.

Por otra parte, al inducirse letales dominantes en el grupo tratado, probablemente se seleccionaron los gametos más aptos para la unión, tanto masculinos como femeninos, con mayor potencial para concluir su desarrollo en comparación con el grupo testigo. Este efecto se sugiere, porque al observar los resultados de viabilidad huevo-adulto, la tendencia es a incrementar este factor en el grupo

tratado donde 7 de 9 generaciones analizadas coincidieron con las generaciones en donde disminuyó significativamente la fecundidad. No obstante, el análisis por día, demuestra que sólo en algunos de éstos la diferencia es significativa y el efecto sumado de las nueve generaciones no manifiesta diferencia respecto al testigo.

En primera instancia, se puede considerar que, si en el grupo testigo existe más cantidad de huevos depositados, en comparación con el tratado, entonces la competencia por el alimento será mayor y repercutirá disminuyendo la viabilidad huevo-adulto. Para descartar esta posibilidad se examinaron tres diferentes densidades de huevos por tubo homeopático, 25, 45 y 65, por ser éstas las cantidades más frecuentemente puestas por las hembras durante el periodo analizado. Estas cantidades fueron obtenidas al azar, a partir de los datos de fecundidad y se estima el mismo número de huevos para ambos grupos. Cuando se analizaron los datos estadísticamente, se encuentra que efectivamente el grupo tratado presenta una viabilidad huevo-adulto significativamente superior a la del testigo, a un nivel de 0.05, los resultados pueden observarse en la Tabla 5.

El incremento de la viabilidad huevo-adulto en el grupo tratado, puede deberse a un aumento en la actividad de ciertos mecanismos de reparación del daño o a un aumento en la variabilidad genética.

Los efectos de la variabilidad sobre la viabilidad de mutaciones inducidas por radiación ha sido estudiada en *Drosophila* por varios autores. Wallace (1956), afirma que en los individuos tratados con 500 R de rayos-X aumenta la viabilidad de las moscas heterocigóticas, lo que posteriormente confirmaron Maruyama y Crow (1975). Otras evidencias sugieren que los cromosomas irradiados pueden mejorar la viabilidad en condiciones heterocigóticas (Mukai et al., 1966). Sankaranarayanan (1964) demuestra en la misma especie, que bajo la influencia de presiones de inducción de mutación, las poblaciones tienden a acumular letales recesivos y

semiletales y que el promedio de viabilidad del homocigotico es más bajo que el del heterocigoto.

Wallace (1956) utiliza la cepa Oregon-R de *D. melanogaster*, cuyo segundo cromosoma esta exento de genes letales y la mantiene en cajas de población. A dos poblaciones las irradia con 5 R/h de radiación gamma, hasta una dosis acumulada de 2000 R por generación, Después de 130 generaciones nota que el 87 % de las moscas probadas lleva genes letales recesivos, pero no presentan signos de extinción, ni reducción en la viabilidad huevo-adulto al compararlos con las moscas exentas de genes letales en el segundo cromosoma. Marinkovic (1967) evidencia que la fecundidad promedio de las hembras heterocigoticas para el segundo cromosoma es de 207.5 ± 5.9 huevos y la correspondiente a las hembras homocigoticas es de 161.5 ± 5.7 durante el período analizado, mientras que la viabilidad huevo-adulto es de 69.9 ± 1.8 % y 44.9 ± 2.7 % respectivamente. Ranganath y Krishnamurthy (1972 y 1974) confirman en *D. nasuta* que la heterocigosidad del tercer cromosoma influye, acelerando la velocidad de desarrollo de las hembras más fecundas.

Debido a que en la presente investigación se obtienen en el grupo tratado porcentajes de viabilidad huevo-adulto superiores a los del grupo testigo puede pensarse que las partículas alfa del radón estimulan en los huevecillos algún mecanismo de reparación que corrija los daños inducidos posiblemente retrasando la división mitótica de los cigotos dando tiempo a que se reparen los daños y además les proporcione ventajas sobre los no irradiados. Lo que deja considerar que nuestros resultados apoyan a la hipótesis de hormesis. Rülling y Fischer (1979) y Rülling et al. (1991) demuestran que los mecanismos de protección pueden inducirse en los organismos y son capaces de controlar el daño producido por dosis bajas de radiación. Como antes se mencionó, este hecho es conocido como efecto de hormesis ó efecto benéfico de las bajas dosis.

No se observa efecto acumulado durante las generaciones que se irradian sucesivamente, probablemente debido a que las concentraciones de radón son muy bajas como para incrementar la carga genética. Existen evidencias de que los efectos de dosis altas de radiación, son eliminados en pocas generaciones después de suspenderse la exposición. Por ejemplo, Sankaranarayanan (1967) estudiando grupos de poblaciones irradiadas de la cepa Oregón-R de *Drosophila melanogaster*, observa que las diferencias en la viabilidad huevo-adulto, entre los grupos tratado y testigo desaparecían de 3 a 7 generaciones después de suspender el tratamiento. Stone et al. (1962), describen que en poblaciones de *D. ananassae* aumenta la carga genética en moscas que habitan en las islas Marshall y Elastern en Carolina EUA, donde la radiación de fondo ha aumentado debido a las pruebas atómicas. Sin embargo, al mantener subpoblaciones en el laboratorio, esta carga va disminuyendo con el tiempo, hasta alcanzar los niveles anteriores a las pruebas.

6. CONCLUSIONES

- 1) Con el ensayo SMART en el ala se observó una relación lineal concentración-efecto del radón.
- 2) La exposición al radón provoca un incremento significativo de letales dominantes que se refleja en la disminución de la fecundidad.
- 3) Las dosis calculadas asociadas a pulmón o tracto respiratorio a las que fueron expuestas las larvas, fueron menores a 0.0106 Gy, las cuales probablemente estimularon la inducción de mecanismos de adaptación y/o reparación, que además se traducen en un aumento de la viabilidad huevo-adulto.
- 4) Es probable que la inducción de los mecanismos anteriores, impidan a su vez establecer una relación positiva concentración-respuesta, con la fecundidad y la viabilidad huevo-adulto.
- 5) Las dos anteriores conclusiones permiten decir que con estos resultados se apoya a la hipótesis de hormesis. Sin embargo, es conveniente efectuar más estudios para probar esta hipótesis.
- 6) Los datos de fecundidad y viabilidad huevo-adulto sugieren que no hay efecto acumulado en la poblaciones expuestas a radón, durante diez generaciones sucesivas.
- 7) La relación directa concentración-efecto, indica que la velocidad de desarrollo puede ser un buen índice para determinar el efecto de diferentes concentraciones de radón.
- 8) Los resultados obtenidos en la presente investigación, están de acuerdo a otros reportados con anterioridad que establecen que el efecto biológico de las partículas alfa es dosis dependiente, y que estas son más agresivas que la radiación gamma.

9) Todo lo anterior indica que el radón penetra a las larvas posiblemente tanto por la vía oral, como por la respiratoria y que las partículas alfa que ingresan alcanzaron el blanco genético.

Se propone hacer pruebas en campo con *Drosophila melanogaster*, utilizando la velocidad de desarrollo como parámetro para determinar si efectivamente ocurre lo mismo que en el laboratorio a intervalos de exposición que son un riesgo para la salud del hombre.

7. TABLAS

- Tabla 1.** FRECUENCIA DE MUTACION Y RECOMBINACION SOMATICAS DE LARVAS TRANSHETEROCIGAS $mwh\ flr^3+/mwh+\ flr^3$ EXPUESTAS A RADON-222.
- Tabla 2.** FECUNDIDAD DE LA CEPA CANTON-S DE *D. melanogaster* EXPUESTA A Rn-222 EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO (9 GENERACIONES SUCESIVAS).
- Tabla 3.** VIABILIDAD HUEVO-ADULTO DE LA CEPA CANTON-S DE *D. melanogaster* CUANDO LOS PROGENITORES FUERON EXPUESTOS EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO A RADON-222.
- Tabla 4.** VELOCIDAD DE DESARROLLO DE LA CEPA CANTON-S DE *D. melanogaster* EXPUESTOS A RADON-222.
- Tabla 5.** VIABILIDAD HUEVO-ADULTO A DIFERENTES DENSIDADES, DE LA CEPA CANTON-S CUANDO LOS PROGENITORES SE EXPUSIERON A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE Rn-222.
- Tabla 6.** VIABILIDAD DE LARVAS DE LA CEPA CANTON-S EXPUESTAS AL Rn-222 EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO (SUMATORIA DE TRES EXPERIMENTOS).

TABLA 1. FRECUENCIA DE MUTACION Y RECOMBINACION SOMATICAS DE
 LARVAS TRANSHETEROCIGAS $mwh\ flr^3+/mwh+\ flr^3$
 EXPUESTAS A RADON-222

Tra[Rn] kBq/m ³	No. de alas	Manchas por ala			
		pequeñas 1-2 células m=2	grandes >2 células m=5	gemelas m=5	total de manchas m=2
0	1040	0.35(367)	0.07(73)	0.01(9)	0.43(449)
1.0±0.3	80	0.35(28)-	0.05(4)-	0.05(4)+	0.45(36)-
5.0±1	240	0.49(117)+	0.06(15)-	0.01(2)-	0.56(134)+
33.0±6.4	160	0.47(75)+	0.10(16)-	0.02(3)-	0.59(94)+
44.5±8	240	0.54(129)+	0.05(12)-	0.03(7)-	0.62(148)+
111.0±7.4	320	0.63(201)+	0.06(16)-	0.03(9)+	0.71(226)+
TOTAL	1040	0.53(550)+	0.06(63)-	0.02(25)+	0.61(638)+

+ significativo a un nivel de probabilidad de 0.05
 m = factor de multiplicación

TABLA 2. FECUNDIDAD DE LA CEPA CANTON-S DE D. melanogaster EXPUESTA A Rn-222 EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO (9 GENERACIONES, SUCESIVAS)

		EDAD EN DIAS				
GEN	Tr	[Rn] KBq/m ³	4 X ± DE	5 X ± DE	6 X ± DE	7 X ± DE
F2	T		66.7 ± 0.17	37.6 ± 0.12	36.1 ± 0.06	23.8 ± 0.06
	Rn	30 ± 7	50.1 ± 0.12	33.9 ± 0.14	30.3 ± 0.08	22.8 ± 0.06
	F=		23.4 *	2.7 *	21.8 *	1.1
F4	T		46.6 ± 0.11	39.1 ± 0.07	44.8 ± 0.10	27.9 ± 0.11
	Rn	12 ± 2	43.6 ± 0.15	33.8 ± 0.12	40.3 ± 0.08	27.8 ± 0.10
	F=		1.4	9.1 *	6.0 *	0.00
F6	T		125.4 ± 0.11	63.5 ± 0.02	54.0 ± 0.08	43.0 ± 0.07
	Rn	43 ± 5	84.6 ± 0.27	67.7 ± 0.13	50.4 ± 0.06	44.6 ± 0.08
	F=		42.1 *	2.57	5.17 *	1.11
F8	T		80.1 ± 0.17	65.1 ± 0.12	39.7 ± 0.09	45.6 ± 0.11
	Rn	25 ± 7	78.5 ± 0.18	62.7 ± 0.14	38.9 ± 0.11	49.3 ± 0.10
	F=		0.13	0.53	0.33	3.22
F10	T		123.6 ± 0.15	75.9 ± 0.17	51.1 ± 0.10	36.2 ± 0.14
	Rn	14 ± 2	65.4 ± 0.23	63.0 ± 0.13	44.5 ± 0.08	33.2 ± 0.09
	F=		117.27 *	11.68 *	12.71 *	2.68 *
F12	T		65.6 ± 0.19	80.8 ± 0.09	51.7 ± 0.09	43.3 ± 0.10
	Rn	6 ± 2	63.7 ± 0.13	64.8 ± 0.13	52.0 ± 0.08	42.1 ± 0.07
	F=		0.28	28.33 *	0.04	0.46
F14	T		85.0 ± 0.21	57.1 ± 0.13	30.6 ± 0.18	16.3 ± 0.15
	Rn	78 ± 1	74.1 ± 0.16	47.4 ± 0.14	20.7 ± 0.16	26.7 ± 0.21
	F=		5.33 *	11.40 *	15.53 *	16.58
F16	T		80.2 ± 0.17	54.3 ± 0.17	39.9 ± 0.17	27.5 ± 0.14
	Rn	58 ± 5	85.1 ± 0.16	59.7 ± 0.11	36.6 ± 0.11	27.7 ± 0.15
	F=		1.28	3.08 *	0.37	0.01
F18	T		118.1 ± 0.18	64.3 ± 0.09	52.7 ± 0.08	34.6 ± 0.05
	Rn	74 ± 7	70.7 ± 0.21	52.1 ± 0.10	46.2 ± 0.11	39.7 ± 0.09
	F=		70.94 *	29.78 *	10.23 *	14.34 *
TOTAL	T		93.9 ± 0.16	64.8 ± 0.10	46.2 ± 0.10	36.8 ± 0.10
	Rn		68.4 ± 0.17	53.9 ± 0.13	39.9 ± 0.09	34.8 ± 0.01
	F=		29.12 *	11.00 *	8.02 *	0.97

* Significativo a un nivel de 0.05

GEN = Generación

Tr = Tratamiento

F = F de tablas

TABLA 3. VIABILIDAD HUEVO-ADULTO DE LA CEPA CANTON-S DE *D. melanogaster* CUANDO LOS PROGENITORES FUERON EXPUESTOS EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO A RADON-222 (9 GENERACIONES)

GEN.	Tr	[Rn] KBq/m ³	EDAD EN DIAS			
			4 X ± DE	5 X ± DE	6 X ± DE	7 X ± DE
F2	T		78.1± 4.5	78.9± 3.7	81.2± 3.1	79.2± 3.4
	Rn	30 ± 7	73.2± 5.2	78.7± 4.1	85.3± 3.6	80.6± 3.7
	Z=		0.4341	0.9569	0.2702	0.7418
F4	T		71.6± 1.6	85.7± 2.1	85.7± 1.7	87.0± 2.4
	Rn	12 ± 2	87.5± 2.5	85.8± 2.4	86.9± 2.4	88.9± 2.4
	Z=		0.3951	0.8876	0.6155	0.2146
F6	T		72.5± 2.4	86.9± 1.7	86.4± 1.7	87.7± 2.5
	Rn	43 ± 5	79.8± 1.8	84.6± 1.6	87.8± 1.2	84.1± 1.8
	Z=		0.0280 *	0.2200 *	0.9800	0.0300 *
F8	T		81.7± 2.0	82.5± 2.1	86.5± 2.1	83.6± 1.8
	Rn	25 ± 7	85.6± 4.1	88.7± 2.6	83.6± 2.8	85.3± 3.6
	Z=		0.480	0.007 *	0.5102	0.0405 *
F10	T		82.2± 1.9	79.7± 2.3	84.1± 2.4	86.8± 2.0
	Rn	14 ± 2	87.8± 2.3	88.5± 2.8	89.4± 1.8	90.3± 1.6
	Z=		0.0422 *	0.0118 *	0.0523 *	0.3312
F12	T		85.6± 1.6	86.6± 2.5	87.4± 1.8	84.4± 2.1
	Rn	6 ± 2	86.2± 2.3	87.8± 1.9	91.2± 1.7	83.2± 2.7
	Z=		0.2943	0.6809	0.0554 *	0.9461
F14	T		82.5± 2.5	88.1± 1.6	93.8± 1.4	89.0± 2.9
	Rn	78 ± 1	89.2± 0.3	96.7± 0.8	87.6± 2.6	89.2± 2.0
	Z=		0.0046 *	0.0001 *	0.3865	0.4568
F16	T		88.6± 3.3	84.3± 1.7	83.9± 2.4	79.2± 2.4
	Rn	58 ± 5	79.8± 2.0	85.9± 1.8	88.5± 1.7	84.2± 2.6
	Z=		0.0313 *	0.4360	0.2426	0.1780
F18	T		78.3± 1.9	81.3± 1.6	85.4± 1.9	79.4± 2.2
	Rn	74 ± 7	89.0± 1.3	88.3± 1.4	87.4± 1.5	87.0± 1.2
	Z=		0.0001 *	0.0009 *	0.5037	0.0193 *
TOTAL	T		80.1± 4.5	83.7± 3.7	85.0± 3.1	83.9± 3.4
	Rn		84.2± 2.4	87.2± 2.1	87.5± 2.1	85.8± 2.4
	Z		0.1504	0.4001	0.3775	0.2955

* Significativo a un nivel de 0.05

GEN = Generación
Tr = Tratamiento
Z = Z de tablas

TABLA 4. VELOCIDAD DE DESARROLLO DE LA CEPA CANTON-S DE
D. melanogaster EXPUESTOS A RADON-222

TRATA.	[Rn] kBq/m ³	DIAS				m I/d
		12	13	14	15	
		% ACUMULADO				
T		31	79	98	100	38
Rn	3 ± 0.8	2	77	97	100	57
T		25	72	92	100	47
Rn	72 ± 5.8	44	82	96	100	38
T		4	48	93	100	44
Rn	140 ± 8	41	73	94	100	25
Testigo total		20	73	97	100	43

Tr = Tratamiento
I = Individuos
d = Día
m = Pendiente

TABLA 5. VIABILIDAD HUEVO-ADULTO A DIFERENTES DENSIDADES, DE LA
CEPA CANTON-S CUANDO LOS PROGENITORES SE EXPUSIERON A DISTINTAS
CONCENTRACIONES DE Rn-222

Tr.	25		45		65	
	No. DE HUEVOS	ADULTOS VIABLES	No. DE HUEVOS	ADULTOS VIABLES	No. DE HUEVOS	ADULTOS VIABLES
T	2075	1647	1080	783	715	531
Rn	2075	1758	1080	911	715	555
T	1600	1516	4950	4370	2275	2022
Rn	1600	1454	4950	4421	2275	2034
T	2475	2124	3690	3110	2405	1952
Rn	2475	2285	3690	3265	2405	2059
T	6150	5287	9720	8263	5395	4505
Rn	6150	5497	9720	8597	5395	4648
$\chi^2=$	21.0*		25.9*		6.7*	

* Significativo a un nivel de 0.05
Tr = Tratamiento

TABLA 6. VIABILIDAD DE LARVAS DE LA CEPA CANTON-S EXPUESTAS AL Rn-222 EN SEGUNDO ESTADIO LARVARIO (SUMATORIA DE TRES EXPERIMENTOS)

Tr	F	[Rn] KBq/m ³	# LARVAS PROBADAS	LARVAS VIABLES	% DE VIABILIDAD
T	F2		560	508	90.70
Rn		30 ± 7	560	550	98.21
T	F4		360	272	75.55
Rn		12 ± 2	360	331*	91.94
T	F6		440	394	89.54
Rn		43 ± 5	440	414	94.09
T	F8		440	382	86.81
Rn		25 ± 7	440	404	91.81
T	F10		360	295	81.94
Rn		14 ± 2	360	313	86.44
T	F12		360	315	87.50
Rn		6 ± 2	360	337	93.61
T	F14		440	409	92.95
Rn		78 ± 1	440	402	92.22
T	F16		360	330	91.70
Rn		58 ± 5	360	334	92.70
T	F18		280	200	71.42
Rn		74 ± 7	280	265*	94.64

* Significativo a un nivel de $p < 0.05$
Tr = Tratamiento

8. FIGURAS

Figura 1. Relación concentración-respuesta de mutación y recombinación somáticas en los tratamientos con Rn-222.

Figura 2. Distribución de manchas simples inducidas por Rn-222.

Figura 3. Distribución de manchas gemelas inducidas por Rn-222

Figura 4. Fecundidad de Canton-S expuesta a Rn-222.

Figura 5. Viabilidad huevo-adulto de Canton-S expuesta a Rn-222.

Figura 6. Velocidad de desarrollo de Canton-S expuesta a Rn-222.

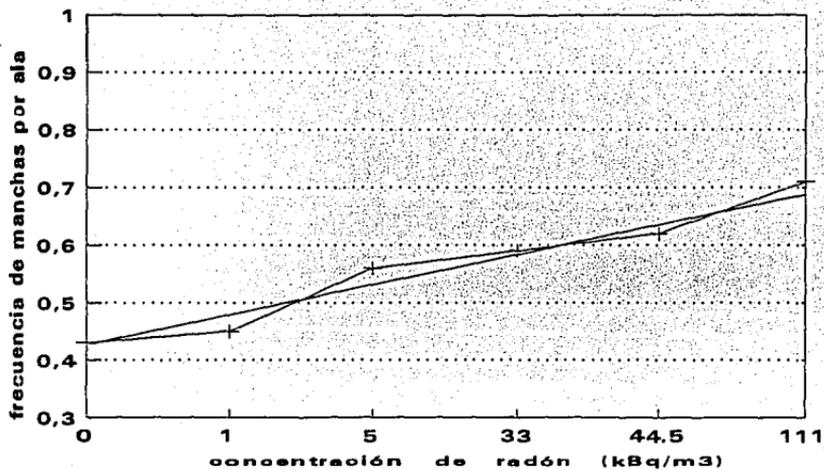


Figura 1. Relación concentración-respuesta de mutación y recombinación somáticas en los tratamientos con Rn-222.

$$m = 0.2217, b = 0.48, r = 0.800$$

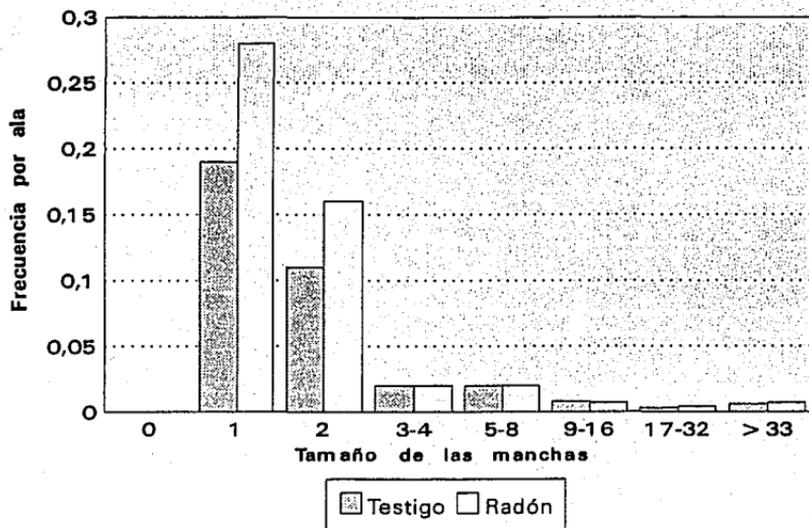


Figura 2. Distribución de manchas simples inducidas por Rn-222.

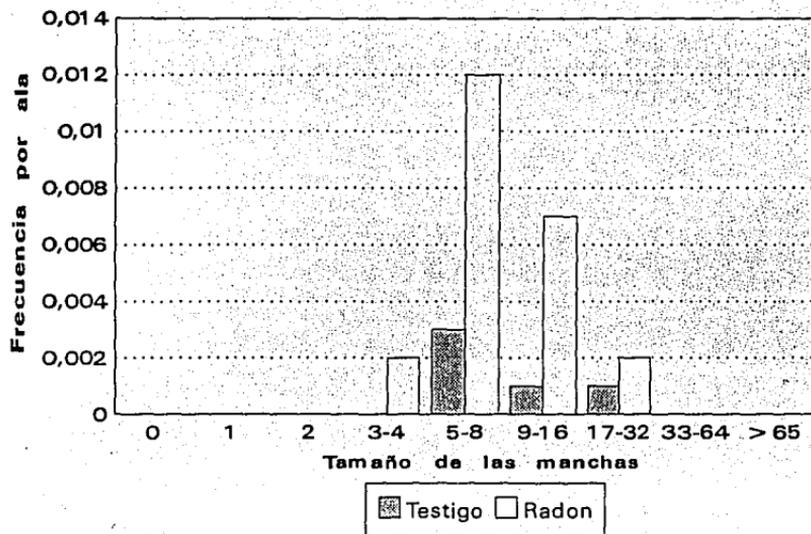


Figura 3. Distribución de manchas gemelas inducidas por Rn-222.

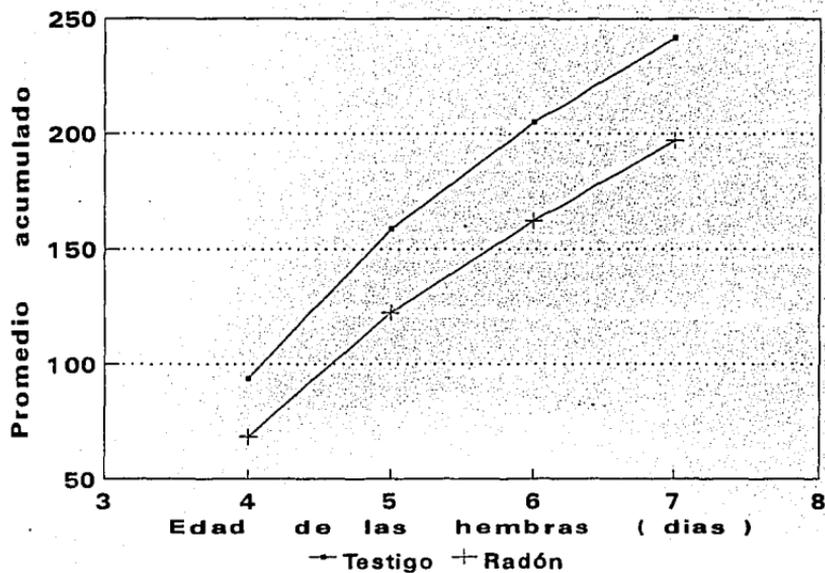


Figura 4. Fecundidad de Canton-S expuesta a Rn-222.

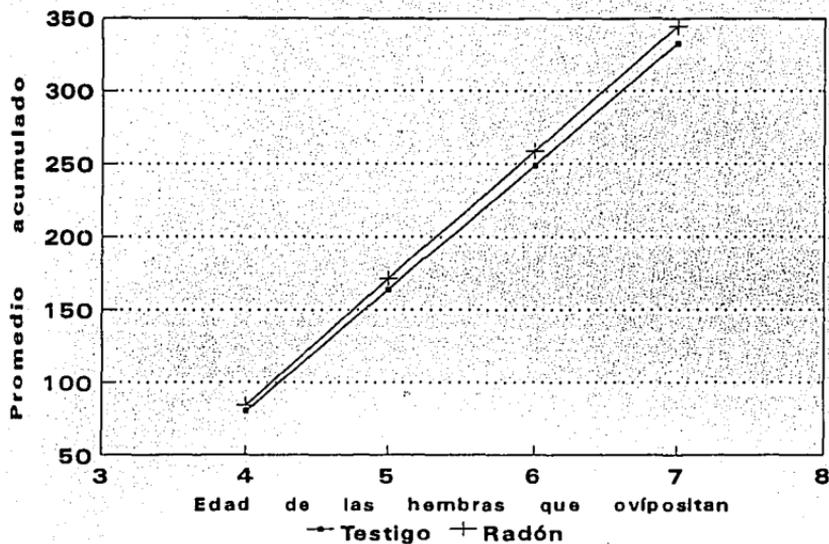


Figura 5. Viabilidad huevo-adulto de Canton-S expuestas a Rn-222.

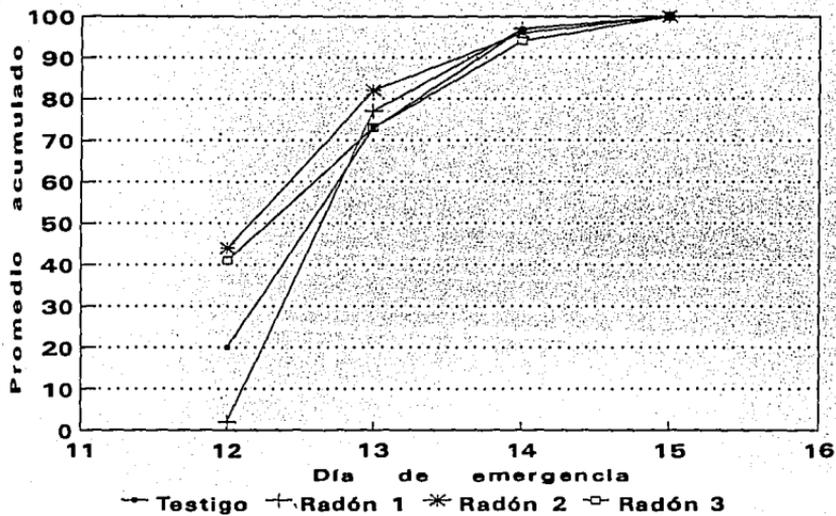


Figura 6. Velocidad de desarrollo de Canton-S expuesta a Rn-222.

$m = Rn 1 = 57, Rn 2 = 38, Rn 3 = 25$ y $T = 43$

9. APENDICES

Apéndice 1. Términos relacionados con la medida del radón

RAYO GAMMA: Es un fotón de radiación electromagnética, similar a un rayo-X.

PARTICULA BETA: Es un electrón energizado.

PARTICULA ALFA: Es un núcleo de helio energizado (dos neutrones y dos protones).

rad: Dosis de radiación absorbida (Una unidad de medida de la radiación ionizante absorbida). Los efectos biológicos de la radiación dependen del tipo de radiación a la que el tejido se expone (100 ergios absorbidos por un gramo de materia, o 0.01 Joule por Kg; también 0.01 Gy (Gray).

CURIE: Unidad de flujo equivalente a 3.7×10^{10} desintegraciones por segundo de cualquier radionúclido.

NANOCURIE (nCi): Una billonésima de un Curie

PICOCURIE (pCi): Una millonésima parte de un Curie (3.7×10^{12})

WORKING LEVEL (WL): Cualquier combinación de la vida corta de los hijos del radón en 1 L de aire que resulta en la última emisión de 1.3×10^4 MeV del potencial de la energía de la partícula alfa.

WORKING LEVEL MONTH (WLM): Exposición acumulada a radón y a su progenie equivalente a la exposición a un WL por un mes trabajado.

Apéndice 2. Memoria de cálculo

La dosis equivalente estimada (McPherson, 1980; Farid, 1993) a la células basales del epitelio bronquial es del orden de:

$$2.58 \text{ mSv/a } / \text{pCi/l}$$

La dosis equivalente producida por 10,000 pCi / l será de

$$2.58 \times 10^4 \text{ mSv/a}$$

ya que el tiempo de exposición de los experimentos fue de 3 días, la dosis equivalente asociada a 3 días de exposición será de

$$2.58 \times 10^4 \text{ mSv } / \text{año } 3 \text{ días} = 212.05 \text{ mSv}$$

si la dosis equivalente es proporcional a la dosis recibida $D_e = QD$, donde:

Q = factor de calidad para alfas y es igual a 20

$$D = D_e / Q = \frac{212.05 \times 10^{-3} \text{ Sv}}{20} = 0.0106 \text{ Gy}$$

20

Para el cálculo de la velocidad de desarrollo se utilizó la fórmula:

$$m = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

donde: m = pendiente

Y_1 = promedio acumulado inicial

Y_2 = promedio acumulado final

X_1 = día de emergencia de moscas inicial

X_2 = día de emergencia de moscas final

10. REFERENCIAS

ALLEMAND, R. (1983a). The circadian oviposition rhythm of *D. melanogaster*. I. Influence of the laying substrate and of experimental conditions. *Biol. Behav.* 8:231-245.

ALLEMAND, R. (1983b). The circadian oviposition rhythm of *D. melanogaster*. II. Influence of biotic factors. *Biol. Behav.* 8:273-288

ALLEMAND, R. Y J.R. DAVID (1984). Genetic analysis of the circadian oviposition rhythm in *D. melanogaster*: Effects of drift in laboratory strains. *Behavior Genetics* 14: 32-43.

ALVAREZ, G. Y A. FONTDEVILA (1981). Effect of the singled locus on the egg production curve of *D. melanogaster*. *Can. J. Genet. Cytol.* 23:327-336.

ANDERSON, W.W. (1971). Genetic equilibrium and population growth under density regulated selection. *Am. Naturalist*, 105: 489-498.

AYALA, F.J. (1983). Genetic polymorphism: From electrophoresis to DNA sequences. *Experientia* 39:813-823.

BALCAZAR, M. A. CHAVEZ, A. LOPEZ Y J. CUATIANQUIZ (1986). Environmental radon monitoring in a radioactive wastw storage, VIII International Conference on Solid State Dosimetry, Oxford.

BALCAZAR, M., M.E. DE LA ROSA, A. LOPEZ Y L. TAVERA (1987). Efectos de bajas dosis en *Drosophila* expuesta a un ambiente controlado de radón, 8º Congreso Latinoamericano de Genética, La Habana Cuba.

BARENDSSEN, G.W., T.L.J. BEUSKER, A.J. VERGROESEN, Y L. BUDKE (1960). Effects of different ionizing radiations on human cells in tissue culture. II. Biological experiments. *Radiat. Res.* 13: 841-849.

BARKER, J.S.F. Y R.N. PODGER (1970a). Interespecific competition between *D. melanogaster* and *D. simulans* effects of larval density on viability, development period and adult body weight. *Ecology* 51: 170-189.

BARKER, J.S.F. (1973). Adult population density, fecundity and productivity in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Ecology* 11: 83-92.

BARNHART, B.J. Y S.H. COX (1979). Mutagenicity and cytotoxicity of 4.4-MeV alpha particles emitted by plutonium-228. *Radiat. Res.* 80: 542-548

BAUMILLER, R.C. Y I.H. HERSKOWITZ (1959). X-ray-induced delay in egg hatching due to eucentric mutations in heterozygous condition. *Drosophila Inf. Service* 33: 122.

BEIR (1980). COMMITTEE ON THE BIOLOGICAL EFFECTS OF IONIZING RADIATIONS. The effects on populations of exposure to low levels of ionizing radiation: National Academy Press, Washington, D.C..

BIRCH, L.C., Th. DOBZHANSKY, P.P. ELLIOT Y R.C. LEWONTIN (1963). Relative fitness of geographic races of *D. serratia*. *Evolution* 17: 72-83.

BIRRER, R.B. Y R.B. DAVID (1990). Radon: Counseling patients about risk. *APP.* 42: 711-718.

BLAYLOCK, B.G. Y H.H. SHUGART (1972). The effect of radiation induced mutations on the fitness of *Drosophila* populations. *Genetics* 72: 449-474.

BRANDOM, W.F., G. SACCOMANNO, V.E. ARCHER, P.C. ARCHER Y A.D. BLOOM (1978). Chromosomal aberrations as a biological dose-response

indicator of radiation exposure in uranium miners. Radiat. Res. 76: 159-171.

CATCHESIDE, D.G. Y D.E. LEA (1945a). The rate of induction of dominant lethals in *Drosophila melanogaster* sperm by X-rays. J. Genet. 47: 1-9.

CHARLESWORTH, B. (1971). Selection in density regulated populations. Ecology 52: 469-474.

CHAMEAUD, J., R. PERRAUD, J. LAFUMA, R. MASSE Y J. PRADEL (1974). Lesions and lung cancers induced in rats by inhaled radon-222 all various equilibriums with radon daughters. In (Eds.) Karbe, E. y Park, J.F.. Experimental lung cancer. Carcinogenesis and Bioassays, Springer-Verlag, Nueva York pp 411.

CHEN, D.J., G.F. STRNISTEN, Y N. TOKITA (1984). The genotoxicity of alpha particles in human embryonic skin fibroblasts. Radiat. Res. 100: 321-327.

CLARKE B. (1972). Density dependent selection. Am. Naturalist. 106:1-13.

CNS (1987). CONSEJO DE SEGURIDAD NUCLEAR. Radiación, Dosis, Efectos. Programa de las Naciones Unidas para Medio Ambiente. Madrid, España. pp 64.

COHEN, B.L. (1988). Health effects of radon in air. American Chemical Society, Los Angeles, California, Sep. 25-30 1988.

COHEN, B.L. (COMUNICACION PERSONAL) Test of linear-no threshold theory of radiation carcinogenesis in the low dose, low dose rate region.

CORNFORTH, M.N. Y E.H. GOODWIN (1991). The dose-dependent fragmentation of chromatin in human fibroblasts by 3.5-MeV alpha particles from ^{238}Pu : Experimental and theoretical considerations pertaining to single-track effects. *Radiat. Res.* 127: 64-74.

CRENSHAW, J.W. (1965). Radiation-induced increases in fitness in the flour beetle *Tribolium confusum*. *Science* 149: 426-427.

CROSS, F.T., R.F. PALMER, R.E. FILIPY, G.E. DAGLE Y B.O. STUART (1982). Carcinogenic effects of radon daughters, uranium ore dust and cigarette smoke in beagle dogs. *Health Phys* 42: 33-52.

DE LA ROSA, M.E., J. GUZMAN, L. LEVINE, O. OLVERA Y R.F. ROCKWELL (1989). Studies of sibling *Drosophila* species from Laguna Verde, Veracruz, México. III. Effects of radiation on viability. *Contam. Ambient.* 5:65-70.

EDWARDS, A.A., R.J. PURROTT, J.S. PROSSER Y D.C. LLOYD (1980). The induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by alpha-radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 38: 83-91.

EGAN, M.J. Y W. NIXON (1985). A model of aerosol deposition in the lung for use in inhalation dose assessment. *Radiat. Protec. Dosimetry* 11: 5-17.

EGON, P. Y J. P. RULING (1977). Dose calculations due to the inhalation of Rn-222 , Rn-220 and their daughters. *Health Physics* 32: 552-555.

EISEN, Y., W.F. HARVEY Y M.R. RAJU (1991). Radiobiology of alpha particles. II. Dosimetry of low-energy alpha particles using parallel-plate ionization chambers and a surface barrier detector. *Radiat. Res.* 128:197-203.

FALK, R., H. MORE, L. NYBLUM Y I. OSTERGREN (1991). Regional deposition of radon decay products in human airways. Fifth international symposium on the natural radiation environment, NRE-V, Salzburg Austria Sep. 22-28 1991.

FARID, S.M. (1993) Equilibrium factor and dosimetry of radon by CR-39 ruder track detector, Radiation Production Dosimetry. 50:57-61

FILIPY, R.E., G.E. DAGLE, R.F. PALMER Y B.O. STUART (1977). Carcinogenesis of inhaled radon daughters with uranium ore dust in beagle dogs, pp 49-55 Pacific Northwest, Lab Annu. Rep. BNWL-2100. Part I.

FONTDEVILA, A. (1973). Interacción genotipo-temperatura en *D. melanogaster* III. Tiempo de desarrollo. Genet. Iber. 25: 69-83.

FREI, H. Y F.E. WÜRGLER (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. Mutat. Res. 203: 297-308.

GARCIA-BELLIDO, A. Y J. DAPENA (1974). Induction, detection and characterization of cell differentiation mutants in *Drosophila*. Gen. Genet. 128: 117-130.

GATES, O. Y S. WARREN (1960). The production of bronchial carcinomas in mice. Amer. J. Pathol. 36: 653-672.

GRAF, U., F.E. WÜRGLER, A.J. KATZ, H. FREI, H. JUON, C.B. HALL, Y P.G. KALE (1984). Somatic mutation and recombination test in *D. melanogaster*. Environ. Mutagen. 6: 153-188.

GUZMAN, J.R., L. LEVINE, O. OLVERA, R.F. ROCKWELL Y M.E. DE LA ROSA (1989). Species abundance, viability, desiccation resistance and

dispersal of sibling *Drosophila* species from Laguna Verde, Ver. Mexico. Am. Midl. Nat. 122: 249-254.

ILIAKIS, G. (1984). The mutagenicity of alpha particles in Ehrlich ascites tumor cells. Radiat. Res. 99: 52-58.

INKRET, W.C., Y. EISEN, W.F. HARVEY, A. M. KOEHLER Y M.R. RAJU (1990). Radiobiology of alpha particles. I. Exposure system and dosimetry. Radiat. Res. 123: 304-310.

JAMES, S.J., S.M. ENGER Y T. MAKINODAN (1991). DNA strand breaks and DNA repair response in lymphocytes after chronic in vivo exposure to very low doses of ionizing radiation in mice. Mutat. Res. 249: 255-263.

JOSTES, R.F., T.E. HUI, A.C. JAMES, F.T. CROSS, J.L. SCHWARTZ, J. ROTMENSCH, R.W. ATCHER, H.H. EVANS, J. MENCL, G. BAKALE Y P.S. RAO (1991). In vitro exposure of mammalian cells to radon: Dosimetric considerations. Radiat. Res. 127: 211-219.

KASTENBAUM, M.A. Y K.O. BOWMAN (1970). Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, Mutat. Res. 9: 527-549.

KELSEY, K.T., A. MEMISOGLU, D. FRENKEL Y H.L. LIBER (1991). Human lymphocytes exposed to low doses of X-rays are less susceptible to radiation-induced mutagenesis. Mutat. Res. 263:197-201.

KENNEDY, A.R., Y J.B. LITTLE. (1977) Histochemical, light and electron microscopic study of polonium-210 induced peripheral tumors in hamster lung. Evidence implicating the Clara cells the cell of origin. Eur. J. Cancer 13: 1325-1340.

KHANDOGINA, E.K., G.R. MUTOVIN, S.V. ZVEREVA, A.V. ANTIPOV, D.O. ZVEREV Y A.P. AKIFIEV (1991). Adaptative response in irradiated

human lymphocytes: radiobiological and genetical aspects. *Mutat. Rés.* 251: 181-186.

KING, R.C., J.B. DARROW, Y N.W. KAYNE (1956). Studies on diferent classes of mutations induced by radiation of *D. melanogaster* females. *Genetics* 41: 890-900.

LEA, D.E. Y D.G. CATCHESIDE (1945). The relation between recessive lethals, dominant lethals and chromosome aberrations in *Drosophila*. *J. Genet.* 47: 10-24.

LEA, D.E. (1955) Actions of radiation on living cell. Cambridge University Press, Cambridge, 2nd Edition.

LEVINE, L., O. OLVERA, R.F. ROCKWELL, M.E. DE LA ROSA Y J. GUZMAN. (1989). Nuclear power plants and natural populations of Mexican *Drosophila*. *Genome* 31: 256-264.

LINDSLEY, D.L. Y G.G. ZIMM (Eds.) (1992). The genome of *D. melanogaster*, Academic Press, San Diego CA, USA, 1133 pp.

LITTLE, J.B., A.R. KENNEDY Y R.B. MCGANDY (1975). Lung cancer induced in hamsters by low doses of alpha radiation from polonium-210. *Science* 188: 737-738.

LITTLE, J.B., R.B. MCGANDY Y A.R. KENNEDY (1978). Interactions between polonium-210, alpha-radiation, benzo-a-pyrene, and 0.9% NaCl solution instillations in the induction of experimental lung cancer. *Cancer Res.* 38:1929-1935

LLOYD, E.L., M.A. GEMMELL, C.B. HENNING, D.S. GEMMELL Y B.J. ZABRANSKY (1979). Cell survival following multiple-track alpha particle irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 35: 23-31.

MAHOWALD, A.P. Y KAMBYSELIS, M.P. (1980). Oogenesis. en The genetics and biology of *Drosophila*. (Eds. Ashburner, M. y T.R.F. Wright), Academic Press, Nueva York y Londres, Vol 2d. pp 441-224

MARGOLIN, B.H., B.J. COLLINGS Y J.M. MASON (1983). Statistical analysis and sample-size determinations for mutagenicity experiments with binomial responses, *Environ. Mutagen.* 5: 705-716.

MARINKOVIC, D. (1967). Genetic loads affecting fecundity in natural population of *D. pseudoobscura*. *Genetics* 56: 61-71.

MARINCOVIK, D., N. TUCIC, V. KEKIC, M. ANDJELKOVIC (1973). Age-associated changes in viability genetic loads of *D. melanogaster* Exp. Geront. 8: 199-206.

MARQUES, E.K. (1973). The development of radioresistance in irradiated *Drosophila nebulosa* populations. *Mutat. Res.* 17: 59-72

MARUYAMA, T. Y J.F.CROW (1975). Heterozygous effects of X-ray induced mutations on viability of *D. melanogaster*. *Mutat. Res.* 27:241-248.

MAYS, C.W., R.D. LLOYD, G.N. TAYLOR Y M.E. WRENN (1987). Cancer incidence and lifespan vs alpha-particles dose in beagles. *Health Physics.* 52: 617-624.

McPHERSON, R.B. (1980). Environmental radon and radon daughter dosimetry in the respiratory tract. *Health Physics* 39: 929-936.

MUKAI, T., I. YOSHIKAWA Y K. SANO (1966). The genetic structure of natural populations of *D. melanogaster*. IV. Heterozygous effects of radiation-induced mutations on viability in various genetics backgrounds. *Genetics* 53: 513-527.

MULLER, H.J. (1954). The nature of the genetic effects produced by radiation. En Radiation biology. High energy radiation (Ed. Hollande, A.), Vol. 1 (part 1), pp. 551-473 McGraw Hill, N.Y.

NELSON, F.R.S. (1973). *Drosophila melanogaster*: Effect of gamma radiation on fecundity and longevity. J. Econ. Entomol. 66: 257-258.

NERO, A.V. (1983). Indoor radiation exposures from Rn-222 and its daughters: A view of the issue. Health Physics 45: 277-288.

NEVO, E. (1978). Genetic variation in natural populations. Patterns and theory. Theor. Pop. Biol. 13: 121-177.

NETTERSHEIM, P., M.G. HANNA, Jr., D.G. DOHERTY, R.F. NEWELL Y A. HELLMAN (1970). Effects of chronic exposure to artificial smog and chromium oxide dust on the incidence of lung tumors in mice. U.S. Atomic Commission Symposium Series 18 pp 305-317.

OHNISHI, S. (1979). Relationship between larval feeding behavior and viability in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. Behaviour Genetics 9: 129-134.

OLVERA, O., R.F. ROCKWEL, M.E. DE LA ROSA, J. GUZMAN, M.J. LAVERDE, Y L. LEVINE (1993). Estudios of sibling *Drosophila* species from Laguna Verde, Ver., México. V. Temporal stability in dispersive behavior. The Southwestern Naturalist 38: 15-18.

PARSONS, P.A., I.T. MACBEAN Y B.T.O. LEE (1969). Polymorphism in natural populations for genes controlling radiresistance in *Drosophila*. Genetics 61: 211-218.

PIMENTEL, P.A.E. (1988). Radiosensibilidad de *Drosophila ananassae* de Laguna Verde, veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México. pp 78.

PIMENTEL, P.A.E. (1995). Relación dosis-respuesta mediante el ensayo de mutación y recombinación somáticas en el ala (SMART), con radiación gamma de una fuente de cobalto-60. Datos no publicados.

PONTECORUO, G. (1941). The induction of chromosome losses in *Drosophila* sperm and their lineal dependence on dosage of irradiation. *J. Genet.* 41: 195-215.

POWELL, J.R. (1975). Protein variation in natural populations of animals. *Evol. Biol.* 8: 79-119.

PURCHASE, I.F.H. (1982). An appraisal of predictive tests for carcinogenicity. *Mutat. Res.* 99: 53-71.

RANGANATH, H.A. Y N.B. KRISHNAMURTHY (1972). Rate of development and fecundity in *D. nasuta*. *Drosophila Inf. Service* 49: 114.

RANGANATH, H.A., Y N.B., KRISHNAMURTHY (1974). Developmental studies in *D.nasuta*. II. Rate of development, inversion polymorphisms and fecundity. *Egypt. J. Genet.* 3: 20-25.

RAJU, M.R., R.A. TOBEY, J.H. JETT Y R.A. WALTERS (1975). Age response for line CHO Chinese hamster cells exposed to X-irradiation and alpha particles from plutonium. *Radiat. Res.* 63: 422-433.

RAJU, M.R., Y. EISEN, S. CARPENTER, Y W.C. INKRET (1991). Radiobiology of alpha particles. III cell inactivation by alpha particle traversals of the cell nucleus. *Radiat. Res.* 128: 204-209.

RAJU, M.R., J.P. FRANK, E. BAIN, T.T. TRUJILLO Y R.A. TOBEY (1977). Repair of potentially lethal damage in chinese hamster cells after X and alpha irradiation. *Radiat. Res.* 71: 614-621.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

69

ROCKWELL, R.F., M.E. DE LA ROSA, J. GUZMAN, M.J. LAVERDE, L. LEVINE Y O. OLVERA (1991). A temporal study of desiccation resistance of sibling *Drosophila* species from Laguna Verde, Veracruz, México. *Am. Midl. Nat.* 126: 338-344.

ROSCOE, R.J., K. STEENLAND, W.E., HALPERIN, J.J. BEAUMONT Y R.J. WAXWEILER (1989). Lung cancer mortality among nonsmoking uranium miners exposed to radon daughters, *UAMA* 262: 629-633.

ROUGHGARDEN, T. (1971). Density dependent natural selection. *Ecology* 52: 453-468.

RÜLING, P. Y P.FISCHER (1979). The dose-effect relationship of chromosome aberrations to alpha and gamma irradiation in a population subjected to an increased burden of natural radioactivity. *Radiat. Res.* 80: 61-81.

RÜLING, P. Y E. POHL (1990). Method for alpha-irradiation of blood cultures with short-lived radón-222 decay products. *Mutat. Res.* 234: 43-45.

RÜLING, P., O. HAAS, A. BROGGER, G. OBE, H. LETTNER, F. DASCHIL, C. ATZMÜLLER, D. LOYD, R. KUBIAK Y A.T. NATARAJAN (1991). The effect on lymphocyte chromosomes of additional radiation burden due to fallout in Salzburg (Austria) from the Chernobyl accident. *Mutat. Res.* 262: 209-217.

SALCEDA, V.M. (1970). Algunos componentes genéticos de cuatro poblaciones experimentales de *D. melanogaster*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, México. pp 61.

SALCEDA, V.M. Y J. RAMIREZ (1970). Velocidad de desarrollo diferencial entre portadores de genes letales y no letales y su importancia en la heterosis. *Rev. Soc. Mex. de His. Nat.* XXXI: 359-370.

SALCEDA V. M. (1990) Componentes de valor adaptativo en *Drosophilas* mexicanas. I. *Drosophila simulans*. *Evolución Biológica* 4: 179-188.

SANKARANARAYANAN, K. (1964). Genetics loads in irradiated experimental populations of *D. melanogaster*. *Genetics* 1: 131-149.

SANKARANARAYANAN, K. (1965). Further data on the genetic loads in irradiated experimental populations of *D. melanogaster*. *Genetics* 52: 153-164.

SANKARANARAYANAN, K. (1966). Some components of the genetics load in irradiated experimental populations of *D. melanogaster*. *Genetics* 54: 221-230.

SANKARANARAYANAN, K. (1967). Influence of selection on the viability of irradiated experimental populations of *D. melanogaster*. *Genetics* 57:687-690.

SANKARANARAYANAN, K. (1974). X-Ray Induction of dominant lethals in late spermatids and mature spermatozoa of *D. melanogaster*, the role of oxygenation. *Mutat. Res.* 24: 307-316.

SANTOS, M., G. ALVAREZ Y C. ZAPATA (1984). La teoría de la estimación de los valores adaptativos y el mantenimiento de la variabilidad genética de las poblaciones. *Genet. Iber.* 36: 165-185

SCHOETERS, G.E.R., J.R. MAISIN, Y L.J. VANDERBORGH (1991). Toxicity of Am-241 in male C57BL mice: Relative risk versus Ra-226. *Radiat. Res.* 126: 198-205.

SEWEL, D., B. BURNEET, Y K. COONOLLY (1975). Genetic analysis of larval feeding behaviour in *D. melanogaster*. *Genet. Res.* 24: 163-173.

SHADLEY, J.D., J.L. WHITLOCK, J. ROTMENSCH, R.W. ATCHER, J. THANG Y J.L. SCHWARTZ. (1991). The effects of radon daughter alfa-particles irradiation in Kl and xrs-5 CHO cell lines. Mut. Res. 248: 73-83.

SINGH, B.N. (1973). Studies on the fecundity of *D. ananassae* *Drosophila* Inf. Service 50: 129.

SONNENBLICK, B.P. (1950). The early embryology of *Drosophila melanogaster* en: Genetics and Biology of *Drosophila* (Eds. Demerec, M. y J. Wiley) Nueva York. pp 62-167

STONE, W.S., M.R. WHEELER Y F.D. WILSON (1962). Genetic studies of irradiated natural populations of *Drosophila*. V. Summary and discussion of tests of populations collected in the Pacific proving ground from 1955. Univ. Texas Pub. 6205: 1-54

TAKANO, T.S., KUSAKABE Y T. MUKAI (1987). The genetic structure of natural populations of *D. melanogaster* XX. Comparison of genotype-environment interaction in viability between a northern and a southern population. Genetics 117: 245-254.

TAVERA, L., M. BALCAZAR, R. VILLALOBOS-PIETRINI, M.A. MENESES, A.R. FLORES Y S. GOMEZ. (1991) Radon-controlled atmosphere chambers for biological treatment, Proceedings of the Second International Symposium on Environmental Chemistry, México D.F.

TEMIN, R.G. (1966) Homozygous viability and fertility loads in *Drosophila melanogaster*. Genetics 53: 27-46.

THACKER, J. A. STRETCH Y D.T. GOODHEAD (1982). The mutagenicity of alpa particles from plutonium-238. Radiat. Res. 92: 343-352.

WALLACE, B. (1956). Studies on irradiated populations of *D. melanogaster*. J. Genet. 54: 280-293.

WANG Z-Q, S. SAIGUSA, Y M.S. SASAKI (1991). Adaptative response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays. *Mutat. Res.* 246: 179-186.

WOLF, F S., R. JOSTES, F.T. CROSS, T.E. HUI, V. AFZAL Y J.K. WIENCKE (1991). Adaptative response of human lymphocytes for the repair of radon-induced chromosomal damage. *Mutat. Res.* 250: 299-306.

WÜRGLER, F. Y E. VOGEL (1986). *In vivo* mutagenicity using somatic cell of *Drosophila melanogaster*. Chemical mutagen, principles and methods for their detection. Premium Press, Nueva York y Londres. 10: 1-25.

YAMAZAKI, T. (1984). Measurement of fitness and its components in six laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 108: 201-211.