

69
20j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTOS DEL HERBICIDA UREICO DIURON EN LA
INDUCCION DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS
HERMANAS EN CELULAS MERISTEMATICAS DE LA
RAIZ DE Vicia faba .

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ALFREDO GUTIERREZ ABAD

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO.



MEXICO, D. F. FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS FUE ELABORADA
EN EL LABORATORIO DE
CITOGENETICA AMBIENTAL,
DEL CENTRO DE CIENCIAS DE
LA ATMOSFERA, DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO, BAJO
LA DIRECCION DE LA DRA.
SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: EFECTO DEL HERBICIDA
UREICO DIURON EN LA INDUCCION DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS
HERMANAS EN CELULAS MERISTEMATICAS DE LA RAIZ DE Vicia faba

realizado por Alfredo Gutiérrez Abad

con número de cuenta 8030112-1 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario DRA. SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO

Propietario DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI

Propietario M. en C. JOSEFINA CORTES ESLAVA

Suplente M. en C. MARIA ELENA CALDERON SEGURA

Suplente BIOL. MIGUEL ANGEL MENESES PEREZ

M. en C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA
Consejo Departamental de Biología

AGRADECIMIENTOS

Agradesco sinceramente a la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo por su gran dirección, por su labor en las correcciones y sugerencias durante el desarrollo de ésta tesis.

Al Doctor Rafael Villalobos Pietrini por haber permitido realizar esta investigación en su laboratorio de Citogenética y Mutagénesis Ambiental del Centro de Ciencias de la Atmósfera y por sus atinadas correcciones y observaciones a este trabajo.

A la M. en C. Josefina Cortés Eslava por su asesoría técnica en el desarrollo experimental, sus acertadas correcciones y comentarios en el desarrollo del proyecto de tesis.

Al Biólogo Miguel Angel Meneses Pérez por la ayuda brindada al desarrollo experimental y por sus objetivas correcciones a esta investigación.

A la M. en C. María Elena Calderón Segura por su valiosa colaboración en la corrección del presente trabajo.

A la M. en C. Ana Rosa Flores Márquez por su apoyo a la elaboración de las preparaciones permanentes.

DEDICATORIAS**A mis padres****A mis hermanos****A mi esposa e hijos**

CONTENIDO

VI

RESUMEN.....	VII
1. INTRODUCCION.....	1
1.1 Plaguicidas.....	1
1.2 Impacto ambiental y toxicidad de plaguicidas.....	4
1.3 Herbicidas.....	6
1.4 Metabolismo de los herbicidas en plantas.....	8
1.5 Herbicidas uréicos.....	11
1.6 Diurón.....	14
1.7 Metabolismo del diurón en mamíferos y en plantas.....	16
1.8 Efectos fisiológicos del diurón.....	17
1.9 Efectos genotóxicos del diurón.....	18
1.10 Ensayo de mutagénesis en plantas.....	19
1.11 <u>Vicia faba</u>	19
1.12 Intercambio de cromátidas hermanas (ICH).....	20
1.13 Modelos de formación de ICH.....	21
2.0 MATERIALES Y METODOS	23
2.1 Características fisicoquímicas del herbicida uréico diurón, fórmula y nombres comerciales.....	23

2.2 Tratamiento de las raíces de <u>Vicia faba</u>	24
2.3 Fijación, tinción y cuantificación de los intercambios de cromátidas hermanas...	25
2.4 Análisis estadístico.....	26
3.0 Resultados y Discusión.....	27
4.0 Referencias.....	32
5.0 Tablas y figuras.....	44

RESUMEN

El herbicida uréico diurón es ampliamente utilizado en la agricultura donde genera grandes beneficios, pero también provoca contaminación del suelo, agua, aire y de los alimentos, de ésta manera alcanza e induce daños a organismos no blanco.

Se ha investigado su metabolismo en la espinaca y con enzimas microsómicas de hígado de ratón encontrando que es degradado por procesos de desmetilación y subsecuente hidrólisis a anilinas.

En su estructura química presenta dos radicales metilo que al ser liberados por procesos de desmetilación pueden alquilar al ácido desoxirribonucleico (DNA) y producir mutaciones .

Se han realizado pruebas que valoran su potencial mutagénico encontrando que no provoca conversión génica en Saccharomyces cerevisiae, tampoco induce cáncer en ratas y perros, no se observó aumento en la frecuencia de micrnúcleos en ratones ni de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos humanos. Sin embargo, algunos investigadores han descrito efectos mutagénicos de este herbicida: ya que genera reversión génica en Nostoc muscorum, causa costillas anormales en fetos de ratas y eleva la frecuencia de aberraciones cromosómicas en células meióticas de Pastinaca sativa.

En esta investigación se verificó el efecto citogenético del herbicida uréico diurón mediante la prueba de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en las células meristemáticas de la raíz del haba Vicia faba, usada como sistema de prueba.

Se expusieron las raíces de Vicia faba a las concentraciones de 20, 40, 50, 100, 150, y 300 ppm de este herbicida, se tiñeron con reactivo de Schiff. A los datos se les aplicó la prueba estadística "t" de student encontrándose que ninguna de las concentraciones incrementó en forma significativa la frecuencia de ICH.

INTRODUCCION

1.1 Plaguicidas

Los plaguicidas son producto del avance de la ciencia y la tecnología, y tienen una función importante en el control de enfermedades transmisibles como el paludismo, el dengue, el tifo y otras más. De la misma manera, influyen en el desarrollo agrícola, ya que los insectos, las malas hierbas y otras plagas destruyen gran parte de los cultivos y compiten por factores como espacio, humedad y nutrientes. Se estima que la magnitud de las pérdidas por plagas en el mundo es de aproximadamente una tercera parte del potencial de la producción. Además, año con año las plagas causan daños a cultivos alimenticios y otros como son el algodón, el tabaco, etc. Hasta ahora, los plaguicidas han sido las armas principales de los agricultores contra este problema.

La industria moderna de los plaguicidas empezó después de la Segunda Guerra Mundial, aprovechando el descubrimiento de las propiedades insecticidas del dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) y el lindano. Desde entonces los laboratorios químicos han proporcionado a los agricultores una serie de poderosos venenos contra los diferentes tipos de plagas (Brown, 1978).

En 1974, los países del tercer mundo importaron 641 millones de dólares en plaguicidas, cuatro años después aumentó casi a mil millones de dólares. Para 1980 esta cifra llegó a 2,817 millones, lo que equivalió al 20% del comercio internacional de plaguicidas (13 mil millones de dólares). Los principales exportadores son Alemania (25%), Estados Unidos de América

(20%), Inglaterra (15%), Suiza (15%), Francia (13%), Japón (5%), e Italia (3%). Estos países surten todas las importaciones de Tercer Mundo. Para 1986 se calculó que el consumo total de plaguicidas se aproximó a los 2.5 millones de toneladas con un valor de 15 mil millones de dólares y que el tercer mundo tuvo un consumo de poco más de medio millón de toneladas con un costo de 3,600 millones de dólares (Restrepo 1988).

Se estimó que los Estados Unidos de América, en 1986 exportaron más de mil millones de dólares en plaguicidas, el 30% de los cuales se compone de productos no registrados para uso interno o bien, cuya marca ha sido cancelada por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). La EPA contabilizó en 1976, 1200 pesticidas en el mercado, de los cuales 275 son herbicidas, 400 insecticidas, 200 fungicidas y nematocidas, 100 raticidas y 225 desinfectantes, siendo contemplados dichos compuestos en 30,000 formulaciones (Brown 1978).

La industria de los plaguicidas elaboró cada año un volumen equivalente a medio kilogramo por cada habitante de la tierra. En México durante 1986 se aplicaron 750 gramos per cápita, pero existen áreas donde la situación es mas grave todavía. En Centroamérica y el Caribe se esparcen cuatro kilogramos por habitante, cifra que supera por mucho, a todos los promedios nacionales y mundiales. El Instituto Centroamericano de Investigaciones y Tecnología Industrial (1977) detectó que los plaguicidas ocasionaron mas de 14000 envenenamientos y 40 muertos solo entre 1972 y 1975 en las regiones algodoneras del Pacífico del área centroamericana. Pero a nivel mundial no existen datos fidedignos sobre el envenenamiento y la muerte causados por plaguicidas. El estudio mas completo realizado por la Organización Mundial de la Salud en 1973, concluyó que tal vez existan 490 mil casos de envenenamiento al

año, con un rango incierto de 250 mil a más de un millón. Estimó también que la tasa de mortalidad es del 1%, cuando se aplica un antídoto, sin embargo, el porcentaje de los fallecimientos en los países del tercer mundo llegó a ser 13 veces mayor.

En México, 35 empresas conforman la industria de los plaguicidas. La Asociación Mexicana de Estudios para la Defensa del Consumidor (1986), calculó que se vendieron alrededor de 60 mil toneladas con un valor cercano a los 57 mil millones de pesos.

En lo que se refiere al destino de los productos elaborados, el 76% lo consume la agricultura, el 12% lo adquiere el sector oficial para sus campañas fitosanitarias, el 7% se dispone a la sanidad industrial, el 3% a la floricultura y a la jardinería y el 2% para uso en el hogar (Restrepo 1988).

En el mercado mundial se conocen aproximadamente 1,600 agroquímicos. En México, la Dirección General de Sanidad Vegetal (1983) tiene autorizados para la agricultura solo 150 compuestos activos. Cabe advertir que existen una gran variedad de formulaciones que contienen el mismo ingrediente activo. Por ejemplo, de los 66 productos del grupo de insecticidas recomendados, 41 dan origen a 178 formulaciones diferentes, las cuales se distribuyen bajo 917 marcas distintas.

Dentro de los volúmenes vendidos, los insecticidas han ocupado un mayor porcentaje del mercado nacional (51%), le siguen los herbicidas con un (31%), los fungicidas (15%) y el restante (3%) corresponde a otros plaguicidas (Restrepo 1988).

En México se comercializan 35 plaguicidas suspendidos o bien sometidos a severas restricciones en sus países de origen, entre ellos DDT, clordano, disulfotón, 2,4-D, 2,4,5-T (Asociación Mexicana de Estudios para la Defensa del Consumidor 1986).

1.2 Impacto ambiental y toxicidad de plaguicidas

Los plaguicidas constituyen un caso especial de contaminantes, ya que son productos químicos que se dispersan en el ambiente en forma deliberada con el fin de explotar sus propiedades tóxicas, sin embargo, al trasladarse a sitios alejados del punto de aplicación o persistir después de cumplir su función, se convierten en contaminantes.

De este modo los plaguicidas contaminan los sistemas bióticos y abióticos convirtiéndose en una amenaza para la existencia de muchos animales y plantas y por lo tanto, para el equilibrio de los ecosistemas (Alpuche 1991).

La humanidad está expuesta diariamente a una amplia variedad de plaguicidas en bajas concentraciones al contaminar los alimentos, el agua, el suelo y el aire. Son pocos los estudios que valoran el efecto tóxico de la exposición a largo plazo y en bajas dosis. Marinovich *et al.* (1996) al emplear concentraciones promedio de plaguicidas organofosforados y organoclorados similares a las que contaminan el agua subterránea y los alimentos en Italia encuentran que todos inhiben la síntesis de proteínas en diferentes grados, así como, la actividad de la enzima acetilcolinesterasa y al mezclarse son más tóxicos.

Asimismo se ha descrito que varios pesticidas tienen efectos adversos en la formación del semen humano, produciendo espermias dañados en su movilidad, reduciendo su capacidad

de fertilización, o bien, provocando anomalías morfológicas y cromosómicas (Bal y Mungkokorn 1978, Khera *et al.* 1978, Martínez y Swartz 1991, Swartz y Corkern 1992, Cummings y Laskey 1993, Mc Nutt y Harris 1994, Seiler *et al.* 1994, Hannelore *et al.* 1996, Tieman *et al.* 1996,).

Debido a que grandes cantidades de pesticidas son liberados diariamente en el ambiente, representan un peligro potencial para el humano. Muchos artículos muestran que varios plaguicidas, usados en la agricultura tienen propiedades genotóxicas (Högstedt *et al.* 1980, Nicholas y Van 1982, Garret *et al.* 1986, Garry *et al.* 1990, Hakoí 1992). Además la exposición humana a los pesticidas ha sido relacionada con un incremento en la incidencia de cáncer (Saftlas *et al.* 1987, Brown *et al.* 1990).

Algunos plaguicidas entran a las cadenas alimenticias se distribuyen a través de ellas, se centran en los nichos ecológicos y se bioacumulan sucesivamente hasta que alcanzan una concentración letal para algún organismo, o bien, hasta que llegan a los niveles superiores de la red trófica (Alpuche 1991).

La bioconcentración depende principalmente de la naturaleza química del compuesto, de la cantidad que está en contacto con el organismo, de la velocidad de absorción, de su metabolismo y de excreción del producto tóxico para cada organismo (Anas 1974).

Varios autores han publicado el almacenamiento de plaguicidas, especialmente los organoclorados en cereales (arroz, maíz y trigo), sedimentos de ríos, moluscos, peces, murciélagos insectívoros recién nacidos y adultos, leche humana y de vaca, así como en tejidos humanos (Geluso *et al.* 1976, Marit de Campos 1982, Slorach y Vaz 1983, Kanja *et al.*

1986, Clark 1988, Clawson y Clark 1989, Thies y McBee 1994, Gold-Bouchot et al. 1995, Gómez-Catalán et al. 1995, Osibanjo y Adeyeye 1995, Zebik et al. 1995, Ejobi et al. 1996 a, b, Thies et al. 1996). Las concentraciones de plaguicidas encontradas en el cuerpo de los peces, leche humana y de vaca en algunos casos rebasaron los límites de absorción diaria establecidos por la FAO/WHO (1985,1990) y FAO/WHO Codex Alimentarius Commission (1986).

1.3 Herbicidas

Los herbicidas son un grupo de compuestos destinados a destruir malas hierbas que compiten con los cultivos por alimento, espacio y luz, así mismo mediante su empleo se evita la posibilidad de que plagas que atacan a las malas hierbas puedan pasar a las plantas cultivadas, además son ampliamente usados para el control de algas y hierbas acuáticas en canales de riego y navegación, en presas, lagos y estanques (Brown 1978).

Los herbicidas pueden ser clasificados por su acción sobre las plantas como totales si destruyen toda la vegetación presente, sin discriminación y como selectivos si sólo anulan a las malas hierbas pero no dañan a la planta cultivada. Por el momento en que se rocian en el campo de cultivo como de presembrado cuando se dispersan antes de sembrar, de preemergencia si se aplican en el mismo tiempo de sembrar o después pero antes de que el cultivo emerja del suelo y de postemergencia cuando se colocan sobre el cultivo que ha brotado. Su uso continuamente va en aumento ya que anulan la labor de deshierbado, el tiempo y dinero invertidos en el cultivo son menores (Barberá 1976).

En general los herbicidas son absorbidos generalmente por la raíz, pero algunos lo hacen por el cuerpo de la planta en estado muy joven, su forma de acción es por la inhibición de la reacción de Hill, la cual se lleva a cabo en la membrana del cloroplasto y está implicada en la formación de NADPH₂ y ATP, lo cual evita la emergencia y el crecimiento, además, produce clorosis, necrosis de los tejidos y muerte (Barberá 1976).

Los herbicidas tienen bajos niveles de solubilidad por ello al ser aplicados se deben regar los terrenos para que se disuelvan y puedan ser absorbidos por las raíces, ya que al no haber humedad son retenidos por el suelo. La absorción es mayor en suelos orgánicos y arcillosos y menor en los arenosos y ligeros (Barberá 1976).

La absorción de los herbicidas en el suelo por semillas en germinación o por las raíces de las plantas depende de la distribución del compuesto alrededor de la raíz y de la eficiencia del transporte a través del suelo a la planta (Kirwood 1991).

Pueden ser lixiviados y llevados a otros puntos de su aplicación original dependiendo de varios factores: solubilidad en agua, persistencia, movilidad, pH, contenido de materia orgánica, hidrólisis, fotólisis, precipitación pluvial, tipo de suelo y otros, por ejemplo carbofurán y clorpirifos han sido clasificados como "altamente móviles" e "inmóviles" respectivamente (McCall *et al.* 1980), carbofurán es detectado a una profundidad de 45 cm después de 130 días con 43.5 cm de precipitación pluvial en un suelo arenoso, mientras que clorpirifos es resistente a la lixiviación en un suelo rico en materia orgánica.

La tasa de degradación de los herbicidas se incrementa al aumentar la temperatura y la humedad del suelo y viceversa. La vida media del linurón en el suelo arenoso y rico en materia

orgánica disminuye a la mitad cuando la temperatura del suelo se incrementa de 5°C a 20°C (Walker 1983).

1.4 Metabolismo de los herbicidas en las plantas

En las plantas superiores los herbicidas son metabolizados involucrando: (1) reacciones de fase I tales como oxidación, reducción e hidrólisis, (2) reacciones de fase II con substratos endógenos de las plantas y (3) reacciones de fase III del herbicida a componentes estructurales del tejido vegetal. La conjugación y la unión a componentes estructurales también se presentan en los metabolitos resultantes del proceso no sintético y contribuyen indirectamente a la "disolución" del herbicida dentro del tejido vegetal, pero en realidad queda almacenado (Kirwood 1991).

1. Reacciones de fase I

La oxidación, reducción e hidrólisis modifican irreversiblemente la estructura química del pesticida y contribuye directamente a la "disipación" del pesticida dentro de la planta. Los procesos no sintéticos involucran reacciones de oxidación, hidrólisis y reducción. Las reacciones bioquímicas más comunes de tipo oxidante son las N-desalquilación, O-desalquilación, aril-hidroxilación y sulfoxidación. Las reacciones de hidrólisis generalmente se llevan a cabo con grupos funcionales éster, amida y nitrito. Las de reducción involucran frecuentemente al grupo funcional nitro aril (Kirwood 1991).

a) Oxidación

La más común de las reacciones de oxidación involucradas en el metabolismo de los herbicidas en general en plantas es la aril hidroxilación. La aril hidroxilación de 2,4-D (Fig. 1) y la detección de sus metabolitos se ha investigado en maíz, trigo, avena y cebada (Hamilton *et al.* 1971, Feung *et al.* 1975). También se ha reportado para diclofop-metil (Fig. 2) en trigo (Jacobson y Shimabukuro 1984), así mismo para clorosulfurón en cebada, trigo y avena silvestre (Sweetser *et al.* 1982). La hidroxilación del anillo metilado ha sido observada con clorotolurón en maíz (Fonné-Pfister y Kreuz 1990).

La N-desalquilación es otra reacción oxidante muy común en plantas (Fig. 3), se ha investigado con atrazina y terbutrine en trigo (Eduards y Owen 1989) y clonolurón en cultivo de células de trigo (Mougin *et al.* 1990). La reacción O-desmetilación (Fig. 4) ha sido mencionada en el metabolismo de clometoxinil y oxadiazón en arroz (Niki *et al.* 1976).

b) Hidrólisis

Los herbicidas que poseen grupos funcionales éster, amida y nitrilo son susceptibles a la hidrólisis. Varios ésteres son hidrolizados al ácido correspondiente en cereales por ejemplo EPTC (Fig. 5) y flamprop-metil en cebada (Roberts 1977). El grupo funcional amida se encuentra en los herbicidas clasificados como acilanilinas, acetanilinas, carbonatos y ureas. La conversión hidrolítica del propanil y diurón a sus correspondientes anilinas se ha realizado en hojas de espinaca y arroz (Susuki y Casida 1981, Hatzios 1991). Los grupos nitrilo (Fig. 6) son hidrolizados a su correspondiente amida y en seguida a su ácido carboxílico. Esta secuencia se

ha observado en cianacina y bromoxinil en trigo y maíz (Beynon *et al.* 1972, Buckland *et al.* 1973).

c) Reducción

La reacción de reducción más conocida es la nitrorreducción (Fig. 4) que fué descrita para el herbicida difenil éter en varias especies de plantas y clometocinil en arroz (Niki *et al.* 1976, Hatzios 1991).

2. Reacciones de fase II

La diversidad de grupos funcionales que se encuentran unidos a los herbicidas, le dan la posibilidad de conjugarse con algún sustrato endógeno de la planta como son azúcares, aminoácidos y glutatión, principalmente. La formación del producto conjugado implica el establecimiento de los enlaces: éster y amida vía los grupos carboxilo, éter con grupos hidroxilo aromáticos, amina con grupos amino aromáticos y sulfuro.

a) Reacción con aminoácidos

La reacción de conjugación más importante con aminoácidos involucra la formación del enlace amida entre el grupo amino del aminoácido y el carboxilo del herbicida (Fig. 1). Se han descrito aminoácidos conjugados de 2,4-D en maíz (Feung *et al.* 1975).

b) Reacción con azúcares

La conjugación de los azúcares sucede con herbicidas ácidos constituyendo un enlace éster. Una segunda reacción de conjugación con los azúcares es la O-glucosilación, la cual generalmente ocurre después de una hidrólisis. La formación del enlace éster glucosídico (Fig. 2) se ha descrito para diclofop en trigo (Jacobson y Shimabukuro 1984). Generalmente ocurre

una reacción de N-glucosilación con aril aminas y se ha demostrado que es una ruta importante en el metabolismo de cloramben en cebada (Frear et al. 1978).

c) Reacción con glutatión

La conjugación con glutatión se ha descrito como la ruta principal de varios pesticidas. Un enlace sulfuro se conforma entre el glutatión y el pesticida, por ejemplo, se han detectado conjugados de glutatión con atrazina en sorgo (Lamoureux et al. 1973) y con EPCT (Fig. 5) en maíz (Hubbell y Casida 1977).

3. Reacciones de fase III

Se refiere a la incorporación del herbicida o sus metabolitos a algún componente estructural del tejido vegetal como lignina, pectina, taninos y polisacáridos. Las cloroanilinas son frecuentemente productos de degradación de herbicidas fenilamida sustituidos, fungicidas e insecticidas. Cuando se trata arroz con 3-cloro y 3,4-dicloroanilina, se producen residuos del mismo asociados a lignina (Still et al. 1981). Nitrofen es metabolizado por arroz, trigo y parte del compuesto marcado se incorpora al almidón de las semillas (Wargo et al. 1975).

1.5 Herbicidas uréicos

Los herbicidas uréicos, triazinas y uracilos llevan a cabo su función herbicida al inhibir el flujo de electrones en el fotosistema durante la fase luminosa de la fotosíntesis, al unirse a la proteína D₁ (que es una proteína Q_b de 32KDa) o cerca del complejo proteico-Q_b parando el flujo de electrones a través del fotosistema, como consecuencia de esto se detiene la fijación de CO₂, la producción de carbohidratos, se provoca daño a la membrana por

peroxidación lipídica, las hojas sufren clorosis, los tejidos se ponen necróticos y la planta muere (Altam 1993).

Debido a su baja solubilidad los productos uréicos permanecen alrededor de un año, pueden ser degradados por microorganismos del suelo entre los que se encuentran hongos y bacterias que lo utilizan como fuente de carbono. El ataque primario origina una monometilurea menos fitotóxica que su antecesor, este derivado a su vez es transformado a una anilina o similar no tóxica a las plantas, que posteriormente sufre una lenta degradación produciendo anhídrido carbónico, amoníaco y alogenuros, según el caso. Dicha degradación asegura, en la mayoría de los casos, la ausencia de residuos en el suelo después de un tiempo prudente (Altman 1993).

La luz ultravioleta inducen cambios químicos en los herbicidas uréicos, especialmente las radiaciones comprendidas entre 200 y 400 milimicrómetros, las reacciones que se realizan no se conocen bien y parece que se llevan a cabo por etapas paulatinas, la primera es una desmetilación parcial y luego una total del grupo dietilamina y después una hidroxilación del núcleo fenílico (Barberá 1976).

La resistencia de los herbicidas a la degradación ocasiona daños a organismos no-blanco (bacterias, hongos, microartrópodos, etc.) y su movimiento por el aire o lixiviación fuera de su área de aplicación contamina otras regiones del ambiente tales como suelos, ríos, lagos, presas, mantos freáticos y los océanos. La degradación de los herbicidas en suelo y agua dependen de varios factores bióticos y abióticos, que varían de una región a otra y por lo mismo la persistencia de los herbicidas en suelo y agua es muy variable (Tena *et al.* 1982).

La presencia de herbicidas en agua potable y de riego constituye ahora un problema de salud pública, porque exponen a la población a sus efectos tóxicos. Varios tipos de herbicidas han sido detectados en pozos de agua (Mehnert *et al.* 1992) y en muestras de agua potable (Taylor 1994). La mayoría de los herbicidas identificados en agua existen en cantidades traza, pero las consecuencias para la salud todavía no han sido valoradas apropiadamente. Biradar y Rayburn (1995) encuentran efecto clastogénico en células de ovario de criceto chino a bajas concentraciones del herbicida atrazina. El herbicida trifluranin causa deformaciones vertebrales a peces (Couch *et al.* 1979, Koyama 1996); alaclor induce la formación de tumores en sitios múltiples en rata y ratón, además su presencia se ha detectado en la orina de campesinos y de personas que se dedican a mezclarla (Biagini *et al.* 1995). También han sido observadas aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea de ratón sometidas a atrazina (Loprieno *et al.* 1980); Simmons *et al.* (1979) encuentran desincronización en la síntesis del DNA en fibroblastos de pulmón humano tratados con simazina; Yoder *et al.* (1973) encuentran un incremento significativo de aberraciones cromosómicas en linfocitos de agricultores expuestos a varios pesticidas; al tratar linfocitos humanos con los herbicidas alacor e hidrazida málica *in vitro*, Ribas *et al.* (1996) encuentran que estos herbicidas inducen intercambio de cromátidas hermanas (ICH), aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (MCN).

Los herbicidas uréicos son derivados de la urea $H_2NC(=O)NH_2$. Todos son cristalinos con baja solubilidad en agua (Barberá 1976, Brown 1978); los microorganismos del suelo (bacterias, hongos) lo degradan por varios procesos que incluyen desalquilación, desmetilación, desmetoxilación, hidroxilación y descarboxilación, además, varios de estos microorganismos,

pueden metabolizar las cloroanilinas producidas (Brown 1978). En los vegetales se ha verificado que después de la desmetilación los productos de las ureas sustituidas experimentan hidrólisis, que involucra desaminación y descarboxilación produciéndose la anilina correspondiente R-NH₂ (Frear 1968, Barberá 1976, Suzuki y Casida 1981). Que son absorbidos por las raíces de los vegetales y translocados a las hojas donde se acumulan inhibiendo la fotosíntesis en el parénquima, presentan poca absorción a través de las hojas (Minshall 1955, Brown 1978).

1.6 Diurón

El diurón es un compuesto del tipo herbicida clasificado dentro del grupo de las ureas sustituidas, fue introducido en 1954 por la compañía du Pont. Su nombre químico es 3-(3,4-diclorofenil) 1,1 dimetilurea (Fig. 7). Es degradado en el suelo por procesos de desmetilación, el 50% se descompone en un periodo de 3 a 6 meses (Wayland y Hayes 1991). Como un inhibidor de la fotosíntesis controla e inhibe el crecimiento de las hierbas no deseadas. Es usado como herbicida de preemergencia y postemergencia en cultivos de algodón, caña de azúcar, alcachofas, fresas, papaya, gladiolas, cebada, avena, trigo, sorgo, alfalfa, plátano, piña, pastos perennes, espárragos, uvas, olivos, maíz, cafetales, manzana, pera y es utilizado como esterilizante del suelo para el control total de las hierbas.

Sus formulaciones disponibles incluyen: 80% de polvo humectante o 40% y 28% de suspensión en agua. Está también en presentaciones que contienen 50% de diurón y 30% de

amitrol o bien, puede estar mezclado con simazina, metaborato de sodio, bromacilo o cloroprotam y otros pesticidas (Wayland y Hayes 1991).

Su tasa de aplicación es de 544 g a 21.70 kg/ Ha, los mayores niveles de aplicación son usados para un control total de la vegetación (Barberá 1976).

Este agente químico permanece cerca de la superficie del suelo debido a su resistencia a la lixiviación puesto que tiene baja solubilidad y es absorbido por el suelo. Es un compuesto no corrosivo y tampoco es volátil. No es lixiviado más de una pulgada cuando es aplicado a una tasa apropiada. Los resultados no son satisfactorios cuando se trata de hierbas perennes de raíz profunda. Es preferido sobre el monurón como esterilizante del suelo en áreas de mucha lluvia o de suelos ligeros arenosos (Wayland y Hayes 1991).

El diurón es uno de los herbicidas uréicos más usados desde 1950 en la agricultura, después de la simazina es el más persistente en el suelo debido a la combinación de tres características: estabilidad química, baja solubilidad y fuerte absorción por el suelo (Alva y Singht 1990). Su permanencia en el suelo es de alrededor de 8 meses después de su aplicación, siendo retenido principalmente entre los primeros cinco centímetros de profundidad (Machado-Neto y Victória-Filho 1995). Lee et al. (1995) han desarrollado una prueba a base de anticuerpos policlonales de oveja mediante la que han detectado bajas concentraciones de diurón en muestras superficiales de agua de canales de riego en Australia, encontrando en agua superficial valores desde 0.086 ppb y en agua por debajo de su superficie de 0.05 ppb.

Al realizar experimentos con microorganismos para observar el efecto del diurón en ellos, se ha descrito que en Saccharomyces cerevisiae éste compuesto inhibe el transporte de

electrones entre los citocromos mitocondriacos b y c (Convent *et al.* 1978) e inhibe la fosforilación oxidante (Mangat *et al.* 1974). Se ha visto que en Chlorella también produce inhibición de la respiración celular (Sargent y Taylor, 1972). Burger y Wolf (1981) al hacer investigaciones con Schizosaccaromyces pombe demuestran que el diurón induce una fuerte reducción del citocromo b mitocondrico. Blake y Kaufman (1975) informan que este herbicida inhibe la enzima propanil amidasa de Fusarium oxysporum pero no las de Fusarium solani.

1.7 Metabolismo del diurón en mamíferos y en plantas

Buchan y Tod (1951) reportan que el diurón actúa rápidamente a través del sistema radicular y es translocado hacia arriba alcanzando las hojas. Haun y Peterson (1953) y Minshall (1955) establecen que cuando se suministra diurón radiactivo a la planta de tomate (Lycopersicon esculentum), este puede detectarse en las yemas en aproximadamente 2 horas, debido a su movimiento a través del xilema, además observan que el diurón radiactivo se acumula lentamente en las raíces pero lo hace rápidamente en las hojas.

Para varios herbicidas N-metil-fenil-urea se ha demostrado que sufren una N-desmetilación y subsecuente hidrólisis a anilinas en plantas o en secciones de tejidos de la planta, como es el caso del monurón que es N-desmetilado por una serie de enzimas microsómicas de la hoja de algodón Gosypium hirsutum (Frear 1968). Pool (1977) encuentra que en vegetales el diurón inhibe la síntesis de almidón en las hojas.

La capacidad de varios agentes químicos para inducir la síntesis de enzimas microsómicas hepáticas para el metabolismo de sustancias naturales y extrañas ha sido bien

establecido (Conney y Burn 1962). Entre los compuestos a los que se expone la población en forma repetida se encuentran los plaguicidas. Se reconoce que la capacidad de un compuesto para inducir enzimas microsómicas hepáticas es un criterio importante para conducir estudios de toxicidad y de metabolismo. Kinoshita y Dubois (1970) al investigar el efecto del diurón en la inducción de enzimas microsómicas hepáticas en ratas macho y hembra, describen que el diurón provoca la síntesis de las enzimas O-desmetilasa y N-desmetilasa y las ratas macho fueron más susceptibles a la inducción enzimática.

El diurón es metabolizado por oxidasas microsómicas del hígado de ratón a 7 metabolitos modificados únicamente en el grupo dimetilamino: $-N(CH_3)CH_2OH$, $-N(CH_3)CHO$, $-N(CH_2OH)_2$, $-NHCH_3$, $-NHCH_2OH$, $-NHCHO$ y NH_2 . Estos metabolitos también se han encontrado en las hojas de espinaca, a excepción de los siguientes: $N(CH_3)CH_2OH$, $N(CH_2OH)_2$ y $NHCH_3$. El 3-(3,4-diclorofenil)-1-metilurea que es llamado DCPMU, resultó ser un potente inhibidor de la reacción de Hill y en grado menor los demás metabolitos, la desmetilación no altera la actividad del diurón (Susuki y Casida 1981).

1.8 Efectos fisiológicos del diurón

Hay un aumento intencional en el uso de los herbicidas para el control directo de plantas acuáticas, pocos datos reales descritos en la literatura mencionan su efecto potencial sobre la microfauna acuática.

El diurón tiene una tasa de aplicación de 2 ppm encontrándose la dosis de inmovilización media (IC_{50}) de 47 ppm para el microcrustáceo *Daphnia magna*, y una dosis

letal media (CL₅₀) de 7.4 ppm para el pez Lepomis macrochirus (Krosby y Tucker 1966) de 3400mg/kg para la rata (Boyd y Krupa 1970). Cuando se aplica a los vegetales el diurón alcanza organismos no blanco, provocando graves efectos como es el caso informado por Caseley y Eno (1966) acerca de que el diurón reduce en forma significativa la cantidad de rotíferos en una población y afecta de la misma manera a las lombrices de tierra (Lumbricus terrestris).

Boyd y Krupa (1970) al administrar diurón a ratas deficientes en proteínas, observan depresión del sistema nervioso central, fallas en el sistema respiratorio, sangrado, aciduria, glucosuria y proteinuria, gastritis, enteritis, cambios degenerantes en riñón, hígado y páncreas. Hodge et al. (1967) e Innes et al. (1969) al trabajar con ratas y perros observan que el diurón provoca debilidad, anemia, eritropoyesis, un pigmento sanguíneo anormal, no encuentran evidencias de carcinogenicidad y no ocurre almacenamiento del diurón ni de sus metabolitos en los tejidos Khera et al. (1979) en estudios con ratas embarazadas evidencian que el diurón induce reducción en el peso, decaimiento en la osificación y fetos con costillas anormales.

1.9 Efectos genotóxicos del diurón

Para este herbicida en diferentes tipos de pruebas y con distintos sistemas biológicos se han encontrado resultados positivos y negativos en la inducción de daños al material genético (Siebert y Lemperle 1974, Colson et al. 1977, Moriya et al. 1983, Golden y Haselkorn 1985, Gómez-Arroyo et al. 1990).

1.10 Ensayo de mutagénesis en plantas

El daño que pueden producir estas sustancias al material genético, a través de la mutagénesis, es uno de los riesgos toxicológicos que no se ha valorado suficientemente. En virtud de que es importante conocer el comportamiento de este tipo de compuestos y debido a que, por problemas éticos y económicos, así como de duración de los estudios no es posible realizar la experimentación directa con el hombre y en vista de que los bioensayos con mamíferos completos para demostrar genotoxicidad son caros, se usa por ello a las plantas superiores como organismos biológicos de prueba para evaluar los efectos de éstos contaminantes sobre los cromosomas (de Serres 1978).

1.11 Vicia faba

Una de las especies de plantas superiores más eficiente y utilizada en estudios de daño cromosómico es el haba (Vicia faba), que ha sido propuesta en una prueba citogenética para evaluar mutágenos ambientales en el programa de genotoxicidad de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (Ma 1982).

Las características de Vicia faba como biomonitor de contaminantes ambientales están basadas en su sensibilidad a tratamientos cortos. Este sistema es barato, de fácil manejo y no requiere equipo sofisticado. El hecho de poseer pocos cromosomas ($2n=12$) y muy grandes, lo hacen un material excelente para estudios citogenéticos (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995). Su cariotipo está constituido por un par de cromosomas metacéntricos, que presentan en uno de sus brazos una constricción secundaria en la región del organizador nucleolar y cinco

pares de cromosomas subacrocéntricos que muestran pocas diferencias entre sí, el promedio de duración del ciclo celular en la raíz principal es de 19.3 horas a 19°C y sus períodos son el presintético (G1) 4.9 horas, el sintético (S) 7.5 horas, el postsintético (G2) 4.9 horas y la mitosis (M) 2.0 horas (Evans y Scott 1964).

1.12 Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)

Una prueba citogenética útil para determinar el daño provocado por los agentes químicos, lo constituye el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) ya que permite detectar el efecto de concentraciones hasta 10 veces menores que las requeridas para inducir aberraciones (Latt 1974, Perry y Evans 1975, Latt et al. 1981). La diferenciación entre cromátidas hermanas, es descrita primeramente por Taylor et al. (1957) no obstante que ésta ya había sido inferida por Mc Clintock (1938), estudiando el comportamiento de los cromosomas en anillo del maíz. Este fenómeno involucra un cambio simétrico en un locus dado entre cromátidas hermanas sin alterar la morfología del cromosoma (Perry y Evans 1975). Los ICH son considerados como indicadores de la presencia de lesiones en el ADN, por ello esta prueba ha sido utilizada para demostrar mutagénesis tanto in vivo como in vitro (Perry y Evans 1975, Stetka y Wolff 1976, Nakinishi y Schneider 1979); diversos autores señalan el incremento de la frecuencia de ICH como evidencia de daño cromosómico en cultivo de linfocitos humanos, producidos por diferentes agentes químicos (Latt 1974, Daoud et al. 1976, Tice et al. 1976, Burgdorf et al. 1977, Morgan y Crossen 1977). Se ha demostrado en una serie de trabajos realizados en Vicia faba, que los agentes que producen aberraciones

cromosómicas aumentan también la frecuencia de ICH (Kihlman y Kronborg 1975, Kihlman y Sturelied 1978). Taylor *et al.* (1957) muestran los intercambios por medio de estudios autorradiográficos de cromosomas marcados con timidina tritiada, desde entonces se han desarrollado diferentes técnicas para distinguir las cromátidas hermanas sin utilizar isótopos radiactivos y autorradiografía. Entre los métodos descritos para plantas está el de fluorescencia mas Giemsa (Kihlman y Kronborg 1975) y el de fucsina leucobásica (Tempelaar *et al.* 1982), estas consisten en la exposición de células a 5-bromo-2-desoxiuridina (BrdUrd), un análogo de la base timina, de tal manera que los cromosomas de la segunda mitosis poseen una cromátida substituida por 5-BrdUrd, en una cadena de ADN, mientras que su cromátida hermana es substituida en sus dos cadenas por BrdUrd, las cromátidas hermanas substituidas tiñen diferencialmente con una combinación de fluorocromo Hoechst 33258 y Giemsa (Perry y Wolff 1974) o con el reactivo de Schiff (Tinción de Feulgen) (Tempelaar *et al.* 1982).

1.13 Modelos de formación de ICH

Existen varios modelos propuestos para explicar la formación de ICH, basados en la recombinación meiótica (Kato 1974), mecanismos de reparación del DNA (Kato 1973, Bender *et al.* 1974), en el desvío de la replicación (Shafer 1977) y en la replicación duplicadora (Ishii y Bender 1980); sin embargo, la mayoría de ellos son inconsistentes (Stetka 1982). El más aceptado es el de Painter (1980), ya que es congruente con las bases teóricas y las experimentales.

Painter (1980) menciona que agentes tales como la mitomicina C, luz ultravioleta, benzo[a]pireno y diol epóxido inhiben la síntesis del DNA principalmente al bloquear la elongación de la cadena afectando a los grupos de replicones que están en varios estados de síntesis, esto conduce a una primera deducción: a mayor demora de aquellos incompletamente replicados se prolonga el tiempo de permanencia de grupos adyacentes replicados y no replicados (Fig. 8). En la unión entre estos grupos, se permite que permanezcan segmentos de DNA replicados junto a otros no replicados por tiempos anormalmente largos (como es normal durante la fase S en la unión de eucromatina y heterocromatina). Painter (1980) propone que los rompimientos de doble hebra en estos lugares tal vez sean catalizados por topoisomerasas tipo II, que se han encontrado en organismos eucarióticos (Liu et al. 1980). Ocasionalmente en lugar de un rearreglo normal, el rompimiento es sellado uniendo las hebras hijas de moléculas replicadas con hebras no replicadas completándose de ésta forma un ICH (Fig. 9).

El modelo de replicación predice que agentes que dañan al DNA retardando o bloqueando la elongación de la cadena serán efectivos inductores de ICH.

En vista de la alta toxicidad y del amplio uso que tienen los pesticidas así como el riesgo genético que representan para el hombre y de los relativamente escasos estudios realizados al respecto, en este trabajo se pretende verificar el efecto del herbicida uréico diurón en la inducción de ICH en las células meristemáticas de la raíz principal de Vicia faba, utilizando la técnica descrita por Tempelaar et al. (1982) así como establecer la relación de la concentración del herbicida con la frecuencia de ICH.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Características fisicoquímicas del herbicida uréico diurón, fórmula y nombres comerciales.

El nombre químico del diurón es 3-(3,4-diclorofenil)-1,1dimetilurea (Fig. 7), presenta varios sinónimos como son ANSI, BSI, CSA, ISO, WSSA. que son de uso general, excepto en la ex Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas es conocido como dichlorfenidión. Este compuesto también es referido como DCMU y DMU. Tiene varios nombres comerciales como Cekiuron (Cequisa), Crisurón, Dailón, Diater, Di-ón, Direx 41, Diurex, Dyncex, Diurón Weed Killer, Kannex, Marmer y Unidrón.

El diurón tiene la fórmula empírica $C_9H_{10}Cl_2N_2O$ y un peso molecular de 233.10. Cuando está puro es un cristal sólido incoloro con un punto de ebullición de 158-159°C y una presión de vapor de 3.1×10^{-6} mmHg a 50°C, su solubilidad en agua es de 42 ppm a 25°C y es baja en hidrocarburos como la acetona donde es de 5.3% a 27°C. Es estable a la oxidación y a la humedad. Su tasa de hidrólisis no tiene importancia a temperatura ambiental y en condiciones de pH neutro. Se descompone a una temperatura de 189-190°C y no es corrosivo (Wayland y Hayes 1991).

2.2 Tratamiento de las raíces de Vicia faba.

Se utilizan semillas de Vicia faba variedad minor, que son lavadas con agua de la llave por 2 horas, posteriormente se mantienen durante 24 horas en un cristizador con agua a temperatura constante (21°C) y en la obscuridad con el propósito de acelerar la germinación, transcurrido este tiempo se lavan nuevamente con agua de la llave y se colocan entre dos capas de algodón humedecido, manteniéndolas en la obscuridad y a temperatura constante hasta que aparezcan las radículas, en ese momento se les remueve la testa para evitar la contaminación por hongos. Cuando las raíces alcanzan de 2 a 3 cm de longitud se incuban en una solución de BrdUrd/100 μ M, fludesoxiuridina (FdUrd) 0.1 μ M y uridina (Urd) 5 μ M, durante un ciclo de replicación (20 horas), cada raíz se introduce en la solución en un tubo de ensayo cubierto de papel aluminio y éstos a su vez se colocan dentro de una cámara oscura evitando la exposición a la luz. Transcurridas las 20 horas se tratan con diurón 3-(3,4 diclorofenil)-1,1-dimetil urea con un 80% de pureza por un periodo de 2 horas con concentraciones de 20, 40, 50, 100, 150 y 300 ppm, las raíces de 8 plántulas por concentración se sumergen en un vaso de precipitado cubierto de papel aluminio, con orificios hechos en la parte superior para ponerlas en contacto con la solución, el testigo correspondiente se mantiene en las mismas condiciones experimentales pero con las raíces dentro de agua destilada durante el periodo de tratamiento en la obscuridad. A continuación las raíces se colocan en una solución fresca de BrdUrd, FdUrd y Urd durante un segundo ciclo de replicación (20 horas). Al término de éste tiempo se

hacen cortes de la raíz de 2 mm y se exponen durante 3 horas a 0.05% de colchicina en la oscuridad.

2.3 Fijación, tinción y cuantificación de los intercambios de cromátidas hermanas

La fijación se realiza en ácido acético al 100% por una hora a 21°C y mas tarde se transfieren a etanol ácido acético (3:1) a -5°C durante dos días. Una vez transcurrido este lapso, los cortes se introducen en etanol al 70% a 28°C por 15 minutos, en seguida se hidrolizan en HCl 5 N durante 80 minutos en baño maria a 28°C. Los meristemos se enjuagan después en agua destilada por lo menos tres veces (10 minutos) y se tiñen con el reactivo de Schiff (tinción de Feulgen), durante 12 minutos en la oscuridad. Los cortes se tratan con pectinasa al 2% disuelta en amortiguador de citratos 0.01M (pH=4.7) por 15 minutos a 28°C, posteriormente se ponen en ácido acético al 45% durante 10 minutos y luego se transfieren a etanol al 70% frío por 30 minutos. Finalmente se hace el aplastamiento en monocapa ("squash") empleando ácido acético al 45% y se hacen preparaciones permanentes por la técnica del hielo seco (Conger y Fairchild, 1953), deshidratando con dos cambios de butanol absoluto y se montan en bálsamo de Canadá. Por cada concentración de los pesticidas se registran 50 cromosomas metacéntricos (M) y 250 subacocéntricos (S), que corresponden al número de cromosomas contenidos en 25 células. Los intercambios terminales se cuantifican como uno y los intersticiales como dos. Para efectuar las observaciones al microscopio y con el fin de evitar prejuicios en el observador, las preparaciones son reetiquetadas. El número de ICH

encontrados en los cromosomas de las 25 células se suman, se obtiene el valor promedio y su error estandar.

2.4 Análisis estadístico

Con el propósito de comprobar la validez de los resultados se hace una repetición del experimento y la confrontación de los resultados obtenidos se hace mediante la prueba estadística de "t" de Student.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla I se muestran las frecuencias de intercambio de cromátidas hermanas obtenidas con el diurón en las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba correspondiente al primer experimento. El grupo testigo presenta una frecuencia de ICH de 28.94 ± 0.52 y los grupos experimentales tienen valores similares, al aplicar la prueba de "t" de Student a los resultados no se obtienen diferencias significativas entre ambos grupos. Los datos que aparecen en la tabla II pertenecen al segundo experimento notándose que no presentan diferencia significativa con los de la tabla I y. En la tabla III se observan los promedios del primero y segundo experimento cuyos valores permiten concluir que el diurón no incrementa en forma significativa la frecuencia de ICH en ninguna de las concentraciones probadas con respecto al testigo, no obstante, que se experimentó con concentraciones muy por encima de los recomendados para su aplicación en el campo. Esto indica que este herbicida no produce daño genético evaluado como ICH en células meristemáticas de la raíz de Vicia faba independientemente de la concentración que se utilice. Estos resultados negativos concuerdan con los obtenidos en otros sistemas biológicos como los de Siebert y Lemperle (1974) quienes reportan que este herbicida no causa alteración genética evaluada como conversión génica en Saccharomyces cerevisiae, con los de Shirasu *et al.* (1976) que no encuentran que este herbicida induzca recombinación génica en Bacillus subtilis cepa H17Rec⁺ y M45Rec⁻, tampoco produce mutaciones revertantes en la bacteria Echerichia coli (B/r Try WP2 y WP2 Try hcr) ni en cuatro cepas de Salmonella typhimurium (TA1535, TA1536, TA1537 y

TA1538) y con los de Moriya et al. (1983) quienes también obtienen una respuesta negativa en cinco cepas de la bacteria Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535, TA1537 y Ta1538) y en una cepa de Echerichia coli (WP2), asimismo Hodge et al. (1967) e Innes et al. (1969) no detectan evidencias de carcinogenicidad en ratas y perros al suministrar diurón en dosis elevadas y por periodos largos, Seiler (1978) tampoco observa incrementos en la frecuencia de micronúcleos en ratones y tampoco Gómez-Arroyo et al. (1990), encuentran inducción de ICH en linfocitos humanos. Tomkins y Grant (1976) no observan producción de aberraciones cromosómicas en células meióticas de Pastinaca sativa, y de Melilotus alba cuando son tratadas con diurón. No obstante, algunos autores describen efectos mutagénicos del diurón: Colson et al. (1977) Claisse et al. (1978), Burger y Wolf (1981) notan inducción de mutantes en Schizosaccharomyces pombe y Schizosaccharomyces cerevisiae, respectivamente Lien et al. (1977), McBride et al. (1977), Vaishampayan (1983), Sutton et al. (1984) y Lundergardh (1985), en este orden, indican que genera reversión génica en Chlamydomonas reinhardi, Nostoc muscorum, Rhodospseudomonas sp y Monoraphidium pusillum. Golden y Haselkorn (1985) señalan que provoca una mutación puntual en el gen psbA de Anacystis nidulans R2 y Kherr et al. (1979) detectan que este herbicida causa costillas anormales en fetos de ratas. Tomkins y Grant (1976) describen aberraciones cromosómicas cuando son tratadas las células somáticas de Pastinaca sativa formándose fragmentos cromosómicos, cromosomas retardados y husos multipolares, en Solidago canadensis sólo provoca fragmentos cromosómicos, en tanto que Vicia cracca es muy sensible al efecto clastogénico ya que se eleva en forma significativa la producción de fragmentos cromosómicos con este herbicida.

El diurón en su estructura química presenta dos grupos metilo (Fig. 7), en el metabolismo de los herbicidas uréicos se menciona que se degradan en parte por desmetilación, liberando grupos metilo que pueden alquilar a las proteínas, al RNA y al DNA y por ello es clasificado como un agente alquilante.

Los agentes alquilantes comprenden un grupo de compuestos que son capaces de reaccionar con las bases púricas y pirimídicas del DNA. El principal producto de la reacción de los agentes alquilantes con el DNA es la 7-metilguanina, que es hidrolizada por el ataque de las endonucleasas y espontáneamente (Straus y Hill 1970, Ljungquist y Lindahl 1974, citados por Hanawalt y Setlow 1975) conduciendo a la ruptura de una de las hebras que está sujeta al sistema de reparación por escisión.

También se produce alquilación del carbono-8 de la adenina o de la guanina, así como, los grupos amino de la citocina, adenina y guanina. La alquilación de los grupos amino en las bases nitrogenadas crea un efecto deformante sobre el eje estructural del DNA, un sistema de reparación por medio de endonucleasas detecta y repara estos defectos (Grunberger et al. 1974, citado por Hanawalt y Setlow 1975). La formación de fosfotriésteres también ocurre como resultado de la alquilación de los grupos fosfato en DNA y RNA con diferentes consecuencias (Bannon y Verly 1972, citado por Hanawalt y Setlow 1975).

Diversos estudios en diferentes sistemas biológicos han demostrado que los agentes alquilantes son potentes inductores de ICH, y lo hacen como una función lineal de la concentración (Perry y Evans, 1975, Carrano et al. 1978, Nakinishi y Schneider 1979, Littlefield et al. 1981).

El efecto que provoca el diurón al DNA con los distintos sistemas biológicos de prueba arroja resultados positivos y negativos, sin embargo, esta discrepancia de respuestas es probable que se deba a diferencias en el metabolismo, en la estructura celular, en el nivel de complejidad y en otras variables intrínsecas a cada organismo.

Es muy probable que el efecto total de los herbicidas involucre más de un sitio blanco (Moreland 1967). Foy y Penner (1965), Mann *et al.* (1965), Mann y Pu (1968), Moreland *et al.* (1969) y Ashton y Krafts (1973) suministran diversos herbicidas a las plantas, e inhiben o estimulan, de acuerdo con las concentraciones aplicadas y con el tiempo de exposición, diferentes procesos metabólicos como la síntesis de DNA, de RNA, de proteínas y de lípidos.

Convent *et al.* (1978) describen en Sacharomyces cerevisiae que el diurón inhibe el transporte de electrones entre los citocromos mitocondrícos b y c y Altman (1993) menciona que esto puede generar una peroxidación de la membrana mitocondríca originando daño a las funciones de la membrana.

Altman (1993) señala que durante el metabolismo en las plantas superiores ocurren procesos de conjugación de los herbicidas o de sus metabolitos con aminoácidos, azúcares y glutatión o bien se puede unir a algún componente estructural del tejido vegetal como lignina, pectina, taninos y polisacáridos, asimismo indica que las cloroanilinas son productos de degradación de los herbicidas fenilamida substituidos y que estos se pueden unir a la lignina como es reportado por Still *et al.* (1981). Susuki y Casida (1981) detectan un metabolito de diurón conjugado con un O-glucósido. Se describe que la conjugación y unión contribuyen

indirectamente a la "disolución" del herbicida dentro del tejido vegetal, pero en realidad queda almacenado.

Además los vegetales incluyen las denominadas enzimas de conjugación secundaria, que forman metabolitos insolubles en agua y que por lo general son biológicamente inactivos y pueden depositarse en compartimientos específicos de la célula vegetal o incorporarse dentro de alguna estructura celular (Shimabukuro *et al.* 1982).

El hecho de que se hayan encontrado tanto resultados positivos como negativos en diversos organismos, permite concluir, que se deben extremar las precauciones en el manejo de este herbicida, ya que ciertos datos muestran que diurón presenta un potencial mutagénico que puede o no manifestarse dependiendo del organismo.

La información obtenida en esta investigación es de gran importancia para la salud humana porque muestran el efecto mutagénico y/o carcinogénico que este tipo de compuestos pueden causar a los diferentes organismos al contaminar el ambiente

4. REFERENCIAS

- Alpuche G. L. 1991. Plaguicidas organoclorados y medio ambiente. Ciencia y Desarrollo. XVI: 45-55.
- Altman J. 1993. Pesticide interaction in crop production. CRC. Press. Nueva York, pp. 14-68.
- Alva A.K. y Singh M. 1990. Sorption of bromacil, diuron, norflurazon, and simazine at various horizons in two soils. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45: 365-374.
- Anas R.E. 1974. DDT plus PCBs in blubber of Harbour seals. Pestic. Monit. J. 8: 12-14.
- Asociación Mexicana de Estudios para la Defensa del Consumidor. 1986. Editorial. Se venden en México 35 plaguicidas prohibidos o severamente restringidos en los países del Primer Mundo. Guía del Consumidor, Año 16, No. 173.
- Ashton F. y Krafts A. 1973. Mode of action of herbicides. Wiley, Nueva York, pp. 20-28.
- Bal H.S. y Mungkorkarn P. 1978. Chronic toxicity effects of methoxychlor on the reproductive system of the rat. Proc. Int. Cong. Toxicol. 1: 446-447.
- Barberá C. 1976. Pesticidas Agrícolas. Omega, Barcelona, pp. 362-412.
- Bender M.A., Griggs H.G. y Bedford J.S. 1974. Mechanisms of chromosomal aberration production. III. Chemicals and ionizing radiation. Mutat. Res. 23: 197-204.
- Beynon K., Stoydin G. y Wright A. 1972. The breakdown of the triazine herbicide cyanazine in soils and maize. Pestic. Sci. 3: 293-298.
- Biagini E.R., Tolos W., Sanderson T.W., Henningsen M.G. y Mackenzie B. 1995. Urinary biomonitoring for alachlor exposure in commercial pesticide applicators by immunoassay. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 54: 245-250.
- Biradar P.D. y Rayburn L.A. 1995. Flow cytogenetic analysis of whole clastogenicity of herbicides found in groundwater. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 28: 13-17.
- Blake J. y Kaufman D.D. 1975. Pestic biochem Physiol 5:305-313. En: Herbicides (L.J. Audus, Ed.). Academic Press, Nueva York, Vol. 1, pp. 103-174.
- Boyd E.M. y Krupa V. 1970. Protein-deficient diet and diuron toxicity. J. Agric. Food Chem. 18: 1104-1107.

- Brown A.W.A. 1978. Ecology of pesticides. Wiley, Michigan, pp. 320-339.
- Brown L.M., Blair A., Gibson R., Everett G.D., Cantor, K.P., Schuman L.M., Burmeister L.F. y Dick F. 1990. Pesticide exposure and other agricultural risk factors for leukemia among men in Iowa and Minnesota. Cancer Res. 50: 6585-6591.
- Buchan H.C. y Todd C.W. 1951. 5-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea. A new herbicide. Science 114: 493-494.
- Buckland J., Collins R. y Pullin E. 1973. Metabolism of bromoxinil octanoate in growing wheat. Pestic. Sci. 4: 149-164.
- Burgdorf W., Kurvin K. y Cervenka J. 1977. Sister chromatid exchange in dyskeratosis congenita lymphocytes. J. Med. Genet. 14: 256-261.
- Burger G. y Wolf K. 1981. Mitochondrially inherited resistance to antimycin and diuron in the petite negative yeast Schizosaccharomyces pombe. Mol. Gen. Genet. 181: 134-139.
- Carrano A.V., Thompson L.H., Lindl P.A. y Minkler J.L. 1978. Sister chromatid exchange an indicator of mutagenesis. Nature 271: 551-558.
- Caseley J.C. y Eno C.F. 1966. Proc. Soil Sci. Soc. Am. 30: 346-350. En: Herbicides (Audus L.J., Ed.). Academic Press, Nueva York, Vol. 1, pp. 359-360.
- Claisse, M.L. Pajot y P.P. Slonnimsky. 1978. Mosaic organization and expression of mitochondrial DNA region controlling cytochrome c reductase and oxidase. II. En: Herbicides Audus L.J., Ed.). Academic Press, Nueva York, Vol. 1, pp. 127-139.
- Clark D.R. Jr. 1988. How sensitive are bats to insecticides? Wild Soc. Bull. 16: 399-403.
- Clawson R.L. y Clark D.R. Jr. 1989. Pesticide contamination of endangered gray bats and their food base in Boone country, Missouri. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42: 431-437.
- Colson A.M., Luu Van Convent B., Briquet M. y Goffeau A. 1977. Mitochondrial heredity of resistance to 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea, an inhibitor of cytochrome by oxidation in Saccharomyces cerevisiae. Europ. J. Biochem. 74: 521-526.
- Conger A.D. y Farchild L.M. 1953. A quick-freeze method for marking smear slides permanents. Stain Technol. 28: 281-283.

- Conney A.H. y Burn J.J. 1962. Factors influencing drug metabolism. *Advan. Pharmacol.* 1:31-58.
- Convent B., Briquet M. y Goffeau A. 1978. Kinetics evidence for two sites in the inhibition by diuron of the electron transport the bc₁ segment of the respiratory chain in Saccharomyces cerevisiae. *Environ. J. Biochem.* 92: 137-145.
- Couch J.A., Winstead J.T., Hansen D.J. y Goodman L.R. 1979. Vertebral displasia in young fish exposed to the herbicide trifluralin. *J. Fish Dis.* 2: 35-42.
- Cummings A.M. y Laskey J. 1993. Effect of methoxychlor on ovarian steroidogenesis: role of early pregnancy loss. *Reprod. Toxicol.* 7: 17-23.
- Daoud C., Shaw M.W. y Craig-Holmes A. 1976. Sister chromatid exchange frequency among normal individuals and breast cancer patients. *Mammal. Chrom. Newslett.* 17: 26-32.
- de Serres F.J. 1978. Introduction: utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens *Environ. Health Perspect.* 27: 3-6.
- Dirección General de Sanidad Vegetal. 1983. Manual de plaguicidas autorizados para 1983. Edición mimeografiada. SARH. México D.F., pp. 6-15.
- Edwards R. y Owen W.J. 1989. The comparative metabolism of the s-triazine herbicides atrazine and terbutryne in suspension cultures of potato and wheat. *Pestic. Biochem. Physiol.* 34: 246-252.
- Ejobi F., Kanja L.W., Kyule M.N., Müller P., Krüger J. y Latigo A.A.R. 1996. Organochlorine pesticide residues in mothers' milk in Uganda. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 873-880.
- Ejobi F., Kanja L.W., Kyule M.N., Müller P., Krüger J., Nyeko P.H.J. y Latigo A.A.R. 1996. Organochlorine pesticide residues in cow's milk in Uganda. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 550-557.
- Evans H.J. y Scott D. 1964. Influences of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by x-rays and maleic hidrazide in Vicia faba. *Genetics* 49: 17-33.
- FAO/WHO. 1985. Pesticide residues in food-1984 evaluation. Report of the joint meeting on pesticides residues, FAO plant production and protection paper 62.
- FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. 1986. Codex maximum limits pesticide residues, 2a edición.

FAO/WHO. 1990. Pesticide residues in food-1989 evaluation. Report of the joint meeting of the experts on pesticide residues in food and environmental and WHO expert group on pesticide residues, FAO plan production and protection paper 99.

Feung C.S., Hamilton R.H. y Mumma R.O. 1975. Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. VII. Comparison of metabolites from five species of plant callus tissue cultures. *J. Agric. Food Chem.* 23: 373-378.

Fonné-Pfister R. y Kreuz K. 1990. Ring-methyl hydroxylation of chlortoluron by an inducible cytochrome-p450-depent enzyme from maize. *Phytochemistry* 29: 2793-2797.

Foy C. y Penner D. 1965. Effect of inhibitors and herbicides on tricarboxilic acid cycle substrate oxidation by isolated cucumber mitochondria. *Weeds* 13: 226-251.

Frear D.S. 1968. Microsomal N-demethylation, by a cotton leaf oxidase system, of 3-(4'-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea (monuron). *Science* 162: 674-675.

Frear D.S., Swanson H.R., Mansager E.R. y Wien R.G. 1978. Chloramben metabolism in plants: isolation and identification of glucose ester. *J. Agric. Food Chem.* 26: 1347-1352.

Garret E. N., Stack H.F. y Waters D.M. 1986. Evaluation of genetic activity profiles of 65 pesticides. *Mutat. Res.* 168: 301-325.

Garry V.F., Nelson R.L., Griffith J. y Harkins M. 1990. Preparation for human study of pesticide applicators: sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes exposed to selected fumigants. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 10: 21-29.

Geluso K.N., Altenbach J.S. y Wilson D.E. 1976. Bat mortality: pesticide poisoning and migratory stress. *Science* 194: 184-186.

Gold-Bouchot G., Silva-Herrera T. y Zapata-Pérez O. 1995. Organochlorine pesticide residue concentration in biota and sediments from rio Palizada Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54: 554-561.

Golden S. y Haselkorn R. 1985. Mutation to herbicide resistance maps within the psba gene of *Anacystis nidulans* R₂. *Science* 229: 1104-1107.

Gómez-Arroyo S., Cortés-Eslava J., Ramírez-Domínguez A., Gutiérrez-Abad A. y Villalobos-Pietrini R. 1990. Cytogenetic effects produced by the ureic herbicides diuron and linuron in *Vicia faba* and human lymphocytes cultures. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 6: 69-74.

Gómez-Arroyo S. y Villalobos-Pietrini R. 1995. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in Vicia faba as genetic monitors of environmental pollutants. En: Biomonitors and biomarkers as indicators of environmental change. (Butterworth, F.M. Corkum L.D. y Guzmán-Rincón J. Eds.). Plenum Press. Nueva York, pp. 95-113.

Gómez- Catalán J., Lesaun M., To-Figueras J. y Corbelle J. 1995. Organochlorine residues in the adipose tissue of the population of Navarra (Spain). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 54: 534-540.

Hakoi K., Cabral R., Hoshiya T., Hasegawa R., Shira T. e Ito N. 1992. Analysis of carcinogenic activity of some pesticides in a medium-term liver bioassay in the rat. Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis 12: 269-276.

Hamilton R. H., Hunter J., Hall J. K. y Ercegovich C.D. 1971. Metabolism of phenoxy acids. Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by bean plants. J. Agric. Food Chem. 19: 480-486.

Hannawalt P.C. y Setlow R.B. 1975. Molecular mechanism for repair of DNA. Plenum Press. Parte A. Washington, pp. 13-24.

Hannelore A., Tieman U. y Tomer H. 1996. Influence of organochlorine pesticides on development of mouse embryos in vitro. Reproduc. Toxicol. 10: 321-326.

Hatzios K. K. 1991. Biotransformation of herbicides in higher plants. En: Environmental Chemistry of Herbicides. (Grover R. y Cessna A. J., Eds.). CRC, Boca Raton, Florida, Vol II, pp. 141-150.

Haun, J.R. y Peterson, J.H. 1953. Translocation of 3-(p-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea in plants. Weeds. Proc. North Central Weed Control Conf. (Abstr.) 10: 28-29.

Hodge H.C., Downs W.L., Panner B.S., Smith D.W. y Maynard E.A. 1967. Oral toxicity and metabolism of diuron (N-(3,4-dichlorophenyl)-N,N-dimethylurea) in rats and dogs. Food Cosmet. Toxicol. 5: 513-531.

Högstedt B., Kolnig A., Mitelman F. y Skerfving S. 1980. Cytogenetic study of pesticides in agricultural work. Hereditas 92: 177-178.

Hubbell J.P. y Casida J.E. 1977. Metabolic fate of the N,N-dialkylcarbamoyl moiety of thiocarbamate herbicides in rats and corn. J. Agric. Food Chem. 25: 404-410.

Innes J.R.M., Ulland B.M., Valerio M.G., Petrucelli L., Fishbein L., Hart E.R. y Pallota A.J. 1969. Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice : a preliminary note. *J. Natl. Cancer Inst.* 42: 1101-1114.

Instituto Centroamericano de Investigaciones y Tecnología Industrial (ICAITI). 1977. Estudios de las consecuencias ambientales y económicas del uso de plaguicidas en la producción de algodón en Centroamérica. En: Naturaleza muerta, los plaguicidas en México. Ediciones Oceano, México, pp. 25-74.

Ishii Y. y Bender M.A. 1980. Effects of inhibitors of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light-induced sister-chromatid exchanges in Chinese hamster cell. *Mutat. Res.* 79: 19-25.

Jacobson A. y Shimabukuro R.H. 1984. Metabolism of diclofop-methyl in root-treated wheat and oat seedlings. *J. Agric. Food Chem.* 32: 742-747.

Kanja L. W., Skaare J.V. y Maitai Lokken P. 1986. Organochlorine pesticide residues in human milk from different areas of Kenya, 1983-1985. *J. Toxicol. Environ. Health* 19: 449-465.

Kato H. 1973. Induction of sister chromatid exchanges by UV light and its inhibition by caffeine. *Exp. Cell. Res.* 82: 383-389.

Kato H. 1974. Spontaneous sister chromatid exchanges detected by BrUdr labeling method. *Nature* 251: 70-76

Khera K.S., Whalen C. y Trivett A. 1978. Teratogenicity studies on linuron, malathion and methoxychlor in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45: 435-444.

Khera S.K., Wallen C., Trivett G. y Angers G. 1979. Teratogenicity studies on pesticidal formulations of dimetoate, diuron and lindane in rats. *Bull. Environ. Toxicol.* 22:522-529

Kihlman B.A. y Kronborg D. 1975. Sister chromatid exchange in *Vicia faba*; I. Demonstration by a modified Fluorescent Plus Giemsa (FPG) technique. *Chromosoma* 51: 1-10.

Kihlman, B.A. y Sturelied, S. 1978. Use of 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanism in the formation of chromosome aberration. *Mutat. Res.* 52: 181-198.

Kinoshita K. F. y DuBois K.P. 1970. Induction of hepatic microsomal enzymes by herban, diuron and other substituted urea herbicides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17: 406-417.

Kirwood R. 1991. Target sites for herbicide action. Plenum Press, Washington. pp. 245-283.

- Koyama J. 1996. Vertebral deformity susceptibilities of marine fishes exposed to herbicide. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 655-662.
- Krosby G.D. y Tucker R.K. 1966. Toxicity of aquatic herbicides to Daphnia magna. *Science* 154: 289-290.
- Lamoureux G.L., Stafford L.E., Shimabukuro R.H. y Zayiskie R.G. 1973. Atrazine metabolism in sorghum: catabolism of the glutathione conjugate of atrazine. *Plant Cell Physiol.* 21: 1020-1026.
- Latt S.A. 1974. Localization of sister chromatid exchange in human chromosomes. *Science* 185: 74-77
- Latt S.A., Allen J., Bloom S.E., Carrano A., Kram D., Schneider E., Schreck R., Tice R., Whitfield B.L. y Wolf S. 1981. US EPA Gene-tox workshop report: sister chromatid exchange. *Mutat. Res.* 82: 17-26.
- Lee N., Skerritt J.H., Thomas M., Korth W., Browner K.H., Larkin K.A. y Ferguson B.S. 1995. Quantification of the urea herbicide, diuron, in water by enzyme immunoassay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55: 479-486.
- Lien S., Mc Bride J.C., Togasaky R.K. y Sanprietio A. 1977. A comparative studies of photosystem II specific inhibitors: the differential action on a DCMU resistant mutant strain of Chlamidomonas reinhardi. *Plant Cell Physiol.* 3: 243-256.
- Littlefield L.G., Colyer S.P., DuFrain R.J. 1981. Physical, chemical and biological factors affecting sister-chromatid exchange induction in human lymphocytes exposed to mitomycin C prior to culture. *Mutat. Res.* 81: 377-389.
- Liu L.F., Liu C-C. y Alberts B.A. 1980. Type II DNA topoisomerases: enzymes which unknot a topologically knotted DNA molecule via a reversible double strand break. *Cell.* 19: 697-706.
- Loprieno N., Barela R., Mariani L., Presciuttini S., Rossi A.M., Sbrana L. y Zaccaro A. 1980. Results of mutagenicity test on the herbicide atrazine. *Mutat. Res.* 74: 250.
- Lundergardh, B. 1985. Differences in photosynthesis between a diuron-resistant, and atrazine-resistant and susceptible biotype of the green-alga Monoraphidium pussillum. (PRINTZ). *Physiol. Plant.* 64: 10-13.
- Ma T.H. 1982. Vicia cytogenetic test for environmental mutagens. A report of the US Environmental Protection Agency gene-tox program. *Mutat. Res.* 92: 257-271.

- Machado-Neto G.J. y Victória-Filho R. 1995. Dissipation of herbicide residues in the soil of a citrus orchard (*Citrus sinensis* L.Osbesk) after the ninth consecutive annual application. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 55: 309-315.
- Mangat B.S., Levin W.B. y Bidwet R.G.S. 1974. The extent of dark respiration in illuminicence leaves and its control by ATP leaves. Can. J. Bot. 52: 673-680.
- Mann J., Jordan L. y Day B. 1965. A survey of herbicides for their effect upon protein synthesis. Plant Physiol. 40: 840-844.
- Mann J.D. y Pu M. 1968. Inhibition of lipid synthesis by certain herbicides. Weed Sci. 16: 197-201.
- Marinovich F.M., Ghilardi C.L. y Galli C.L. 1996. Effect of pesticide mixtures on *in vitro* nervous cells: comparison with single pesticides. Toxicology 108: 201-206.
- Marit de Campos C. 1982. Resíduos de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo humano en Guatemala. X Congreso Nacional de Salud. Guatemala, 27-29 de Octubre.
- Martínez E.M. y Swartz W.J. 1991. Effects of methoxychlor on the reproductive system of the adult female mouse. 1. gross and histological observations. Reprod. Toxycol. 5: 139-147.
- Mc Bride J.C., Mc Bride A.C. y Togasaky R.K. 1977. Isolation of *Chlamydomonas reinhardtii* mutants resistant to the herbicide, DCMU. Plant Cell Physiol. 3: 239-241.
- McClintock B. 1938. The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. Genetics 23: 315-318.
- McCall P.J., Swam R.L., Laskowski D.A., Unger S.M., Vrona S.A. y Dishburger H.J. 1980. Estimation of chemical mobility in soil from liquid chromatographic retention times. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24: 190-196.
- Mc Nutt T.L. y Harris C. 1994. Lindane embryotoxicity and differential alteration of cysteine and glutathione levels in rat embryos and viscerals yolk sacs. Reprod. Toxicol. 8: 351-362.
- Mehnert E., Chous S., Dreher G., Valkenburg J., Shock S. y Caughey M. 1992. Pilot study: agricultural chemical in rural private wells. Illinois Agricultural Pesticide Conference 92, pp. 146-154.
- Minshall H.W. 1955. Translocation path and place of 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea in bean and tomato. Can. J. Bot. 33: 795-798.

- Moreland D. 1967. Mechanisms of action of herbicides. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **18**: 365-368.
- Moreland D., Malhotra S., Gruenhagen R. y Shikrai E. 1969. Effects of herbicides on RNA and protein synthesis. *Weed Sci.* **17**: 556-560
- Morgan W.F. y Crossen P.E. 1977. The incidence of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* **42**: 305-309.
- Moriya M., Ohta T., Watanabe K., Miyazawa T., Kato K. y Shirasu Y. 1983. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assays systems. *Mutat. Res.* **116**: 185-216.
- Mougin C., Cabanne F., Canivenc M.C. y Scalla R. 1990. Hydroxylation of chlorotoluron by wheat microsomal enzymes. *Plant Sci.* **66**: 195-203.
- Nakinishi T. y Schneider E.L. 1979. In vivo sister chromatid exchange: a sensitive measure of DNA damage. *Mutat. Res.* **60**: 329-335.
- Nicholas A.H. y Van Den Berghe. 1982. Sister chromatid exchanges and pesticides, with emphasis on organophosphates. En: Sister Chromatid Exchanges. (Sanderberg A.A., Ed.). Alan Liss. Nueva York, Vol 2, pp. 327-354.
- Niki Y., Kuwatsuka S. y Yokomichi I. 1976. Absorption, translocation and metabolism of chlomethoxynil (x-52) in plants. *Agric. Biol. Chem.* **40**: 683-687.
- Organización Mundial de la Salud. 1973. Occupational exposures in pesticides application. En: Naturaleza muerta los plaguicidas en México. Ediciones Oceano. México. pp. 25-74
- Osibanjo O. y Adeyeye A. 1995. Organochlorine pesticide residues in cereals in Nigerian markets. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **54**:460-465.
- Painter R.B. 1980. A replication model for sister-chromatid exchange. *Mutat. Res.* **70**: 337-342.
- Perry P. y Evans H.J. 1975. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchanges. *Nature* **258**: 121-127.
- Perry P. y Wolff S. 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* **25**: 156-158.
- Pool F.A.R. 1977. A rapid bioassay for pesticide phytotoxicity. *J. Agric. Food Chem.* **25**: 1216-1218.

- Restrepo I. 1988. Naturaleza Muerta, los Plaguicidas en México. Ediciones Oceano. México, pp. 25-74.
- Ribas G., Surrallés J., Carbonell E., Xamena N., Creus A. y Marcos R. 1996. Genotoxicity of the herbicides alachlor and maleic hydrazide in cultured human lymphocytes. Mutagenesis **6**: 221-227.
- Roberts T.R. 1977. The metabolism of the herbicide flomprop-isopropil in barley. Pestic. Biochem. Physiol. **7**: 378-382.
- Saftlas A.F., Blair A., Contor K.P., Hanrhan L. y Anderson H.A. 1987. Cancer and their causes of death among Wisconsin farmers. Am. J. Ind. Med. **11**: 119-129.
- Sargent D.F. y Taylor C.P.S. 1972. Light-induced inhibition of respiration in DCMU-poisoned Chlorella sp. caused by photosystem I activity. Can. J. Bot. **50**: 167-172.
- Seiler J.P. 1978. Herbicidal phenylalkylureas as possible mutagens. I. Mutagenicity tests with some urea herbicide. Mutat. Res. **58**: 353-359.
- Seiler P., Fisher B., Lindenau A. y Beier H.M. 1994. Effects of persistent chlorinated hydrocarbons on fertility and embryonic development in the rabbit. Human Reprod. **9**: 1920-1926.
- Shafer D.A. 1977. Replication bypass model of sister chromatid exchanges and implication for Bloom's syndrome and Fanconi's anemia. Human. Genet. **39**: 177-190.
- Shimabukuro R. H., Lamoureux G.L. y Frear F.S. 1982. Pesticide metabolism in plants reactions and mechanisms. En: Biodegradation of Pesticides (Matsumura F. y Murti C.R.K., Eds.). Plenum Press, Nueva York, pp. 21-66.
- Shirasu Y., Moriya M., Kato K., Furuhashi A. y Kada T. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in the microbial system. Mutat. Res. **40**: 19-30.
- Siebert D. y Lemperle E. 1974. Genetic effects of herbicides: induction of mitotic gene conversion in Saccharomyces cerevisiae. Mutat. Res. **22**: 111-120.
- Simmons V.F., Poole D.C., Riccio E.S., Robinson D.E., Mitchell A.D., Waters M.D. 1979. In vitro mutagenicity and genotoxicity assays of 38 pesticides. Environ. Mutagen. **1**: 142-143.

- Slorach A.S. y Vaz R. 1983. Assessment of human exposure to selected organochlorine compounds through biological monitoring. Global environmental monitoring system (GEMS) UNEP/WHO. Prepared by: the Swedish National Food Administration, Uppsala, pp. 1-77
- Stetka D.G. y Wolff S. 1976. Sister chromatid exchanges as an assay for genetic damage induced by mutagenic carcinogens. II. In vitro test for compounds requiring metabolic activation. *Mutat. Res.* 41: 343-347.
- Stetka D.G. 1982. Operative and non-operative mechanisms of sister chromatid exchange. En: Sister chromatid exchanges. (Sandberg A.A., Ed.). Alan Liss, Nueva York, Vol. 2, pp. 99-114.
- Still G.G., Balba H.M. y Mansager E.R. 1981. Studies on the nature and identity of bound chloroaniline residues in plants. *J. Agric. Food Chem.* 29: 739-746.
- Susuki T. y Casida J.E. 1981. Metabolites of diuron, linuron and methazole formed by liver microsomal enzymes and spinach plants. *J. Agric. Food Chem.* 29: 1027-1033.
- Sutton W.F., Brown A.E. y Truelvo B. 1984. Atrazine and diuron resistant strain of Rhodospseudomonas sphaeroides. *Weed Sci.* 32: 644-669.
- Swartz W.J. y Corkern M. 1992. Effect of methoxychlor treatment of pregnant mice on female offspring of the treated and subsequent pregnancies. *Reprod. Toxicol.* 6: 431-437.
- Sweetser P.B., Schow G.S. y Hutchinson J.M. 1982. Metabolism of chlorsulfuron by plants: biological basis for selectivity of a new herbicide for cereals. *Pestic. Biochem. Physiol.* 17: 18-23.
- Taylor J.H., Woods P.S. y Hughes M.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 43: 122-127.
- Taylor A. G. 1994. Pesticides in Illinois public water supplies: a year of compliance monitoring. *Agricultural Pesticides Conference 94*, pp. 94-99.
- Taylor J.H. 1958. Sister chromatid exchanges in tritium labeled chromosomes. *Genetics* 43: 515-517.
- Tempelaar M.J., de Both M.T.J. y Versteegh J.E.G. 1982. Measurement of SCE frequencies in plant: a simple feulgen-staining procedure for Vicia faba. *Mutat. Res.* 103: 321-326.
- Tena M, Magallanes M. y Garrido R. 1982. Soil persistence of selected sugar-beet herbicides and their combinations with lenacil. *Weed Res.* 22: 245-249.

- Thies M.L. y McBee K. 1994. Cross-placental transfer of organochlorine pesticides in Mexican free-tailed bats from Oklahoma and New México. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 27: 239-242.
- Thies M.L., Thies K. y McBee K. 1996. Organochlorine pesticide accumulation and genotoxicity in Mexican free-tailed bats from Oklahoma and New México. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 30: 178-187.
- Tice R., Chaillet J. y Schneider E.L. 1976. Demonstration of spontaneous sister chromatid exchanges *in vivo*. Exp. Cell. Res. 102: 426-430.
- Tiema, U., Schneider F. y Tuchsherer A. 1996. Effect of organochlorine pesticides on DNA synthesis of cultured oviductal and uterine cells and on estrogen receptor of uterine tissue from bovine. Arch. Toxicol. 70: 490-496.
- Tomkins J.D. y Grant W.F. 1976. Monitoring natural vegetation for herbicide-induced chromosomal aberrations. Mutat. Res. 36: 73-83.
- Vaishampayan A. (1983). Growth of *Nostoc muscorum* mutants in the presence of diuron (DCMU) and L-methionine-DL-sulfoximine. *Experientia* 41: 137-139.
- Vaishampayan A. 1984. Strong mutagenic action of a bipyridylum herbicide in a N₂-fixing blue-green alga. *Experientia* 40: 1016-1019.
- Walker A. 1983. The fate and significance of herbicide residues in soil. *Sci. Hortic.* 34: 35-40.
- Wargo J.P., Honeycutt R.C. y Adler L.L. 1975. Characterization of bound residues of nitrofen in cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 23: 1095-1099.
- Wayland J. y Hayes E. R. 1991. *Handbook of pesticide toxicology*. Academic Press, San Diego, California, pp. 1349-1350.
- Yoder J., Watson M. y Benson W.W. 1973. Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. *Mutat. Res.* 21: 335-340.
- Zebik E.M., Zabik M.J., Mooren A.M., Daubenmire S., Pascall M.A., Welch R. y Humphey H. 1995. Pesticide and total polychlorinated biphenyls residues in raw and cooked wall eye and white bass harvested from the great lakes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54: 396-402.

**TABLA I. FRECUENCIAS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS
OBTENIDAS EN LOS TRATAMIENTOS CON EL DIURON EN *Vicia faba*¹
(EXPERIMENTO I)**

TRATAMIENTO (ppm)	ICH/célula $\bar{x} \pm EE$	VALOR DE "t"
0	28.94 \pm 0.52	
20	29.20 \pm 0.51	0.252 NS
40	29.56 \pm 0.70	0.508 NS
50	29.84 \pm 0.80	0.683 NS
100	31.52 \pm 0.94	1.698 NS
150	26.64 \pm 0.83	0.970 NS
300	29.12 \pm 0.42	0.191 NS

¹ n = 25 METAFASES

NS= NO SIGNIFICATIVO

**TABLA II. FRECUENCIAS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS
 OBTENIDAS EN LOS TRATAMIENTOS CON EL DIURON EN *Vicia faba*¹
 (EXPERIMENTO II)**

TRATAMIENTO (ppm)	ICH/célula $\bar{x} \pm EE$	VALOR DE "t"
0	28.30 \pm 0.70	
20	29.14 \pm 0.83	0.549 NS
40	30.12 \pm 0.80	1.151 NS
50	28.40 \pm 0.60	0.769 NS
100	30.92 \pm 0.78	1.770 NS
150	27.00 \pm 0.63	1.023 NS
300	27.80 \pm 0.52	0.409 NS

¹ n = 25 METAFASES

NS= NO SIGNIFICATIVO

**TABLA III. FRECUENCIAS PROMEDIO DE LOS EXPERIMENTOS I Y II
 DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS OBTENIDAS
 EN LOS TRATAMIENTOS CON EL DIURON EN *Vicia faba*¹**

TRATAMIENTO (ppm)	ICH/célula $\bar{x} \pm EE$	VALOR DE "t"
0	28.62 ± 0.61	
20	29.41 ± 0.67	0.560 NS
40	29.68 ± 0.75	0.044 NS
50	29.12 ± 0.70	0.370 NS
100	31.22 ± 0.86	1.768 NS
150	26.82 ± 0.73	1.340 NS
300	28.46 ± 0.47	0.088 NS

¹ n = 50 METAFASES EN DOS EXPERIMENTOS

NS= NO SIGNIFICATIVO

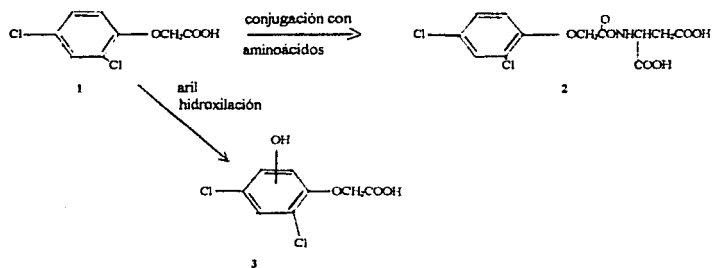


Fig. 1. Metabolismo de 2, 4-D (1) en maíz para formar el conjugado de ácido aspártico (2) y metabolitos aril hidroxilados (3) (Hamilton *et al.* 1971, Feung *et al.* 1975).

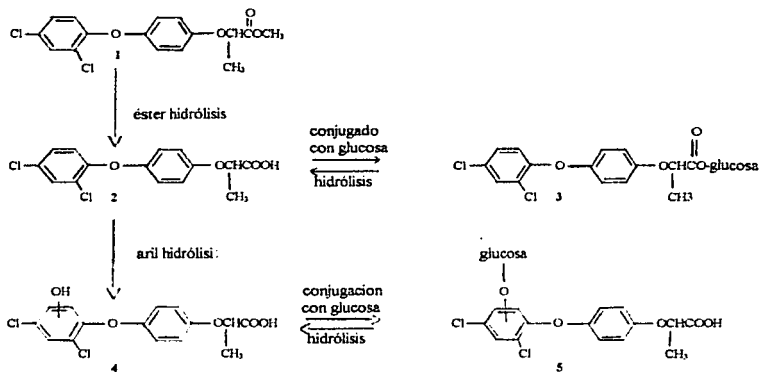


Fig. 2. Metabolismo de diclofop-metil (1) a diclofop (2), conjugado de diclofop con glucosa (3) y el conjugado 0-glucosido (5) de su metabolito aril hidroxilado (4) en trigo (Jacobson y Shimabukuro 1984).

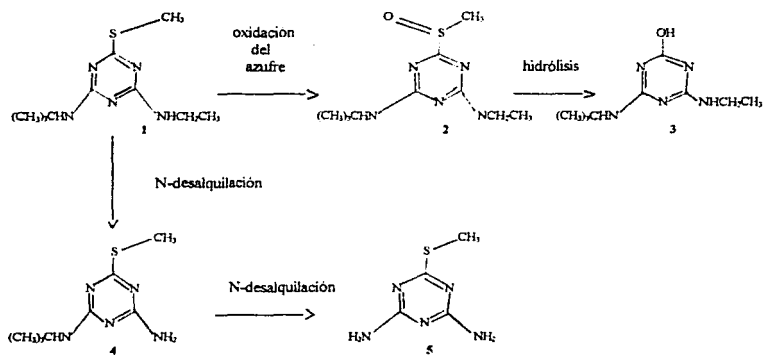


Fig. 3. Metabolismo de terbutrine (1) en trigo via sulfoxidación (2) al hidroximetabolito (3), al monodesalquilado (4) y al metabolito desalquilado (5) (Edwards y Owen 1989).

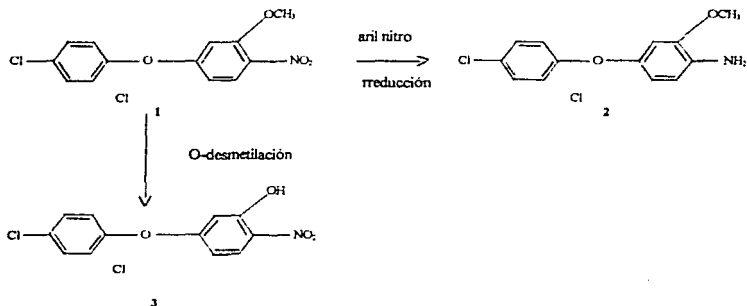


Fig. 4. Metabolismo de clometoxinil (1) a aminoclometoxinil (2) e hidroxiclometoxinil (3) en arroz (Niki *et al.* 1976).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

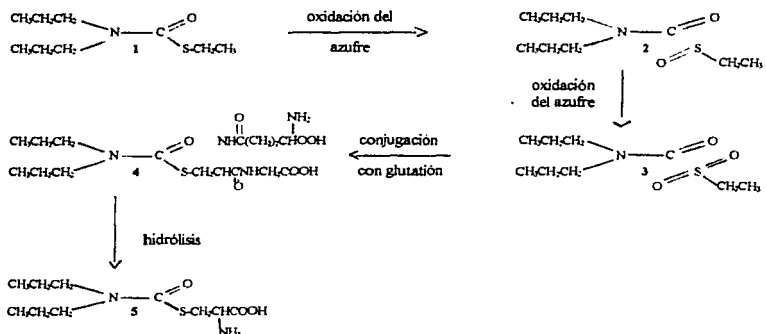


Fig. 5. Metabolismo de EPTC (1) en maíz vía sulfoxidación: sulfóxido de EPTC(2) sulfonato (3) y formación del conjugado de glutatión (4) que es catalizado al conjugado S-cistina (5) (Roberts 1977).

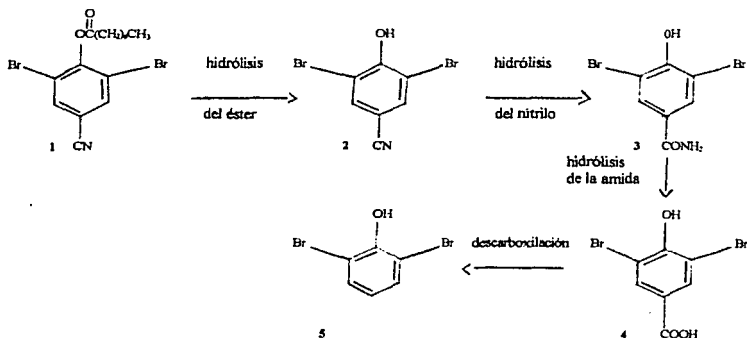


Fig. 6. Metabolismo de bromoxinil octanoato (1) a bromoxinil (2) a hidroxidibromobenzamida (3), a ácido hidroxidibromobenzoico (4) y a dibromofenol (5) en trigo (Beynon et al. 1972, Buckland et al. 1973).

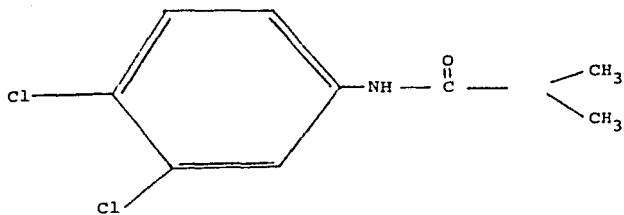


Fig. 7. Fórmula estructural del diuron.

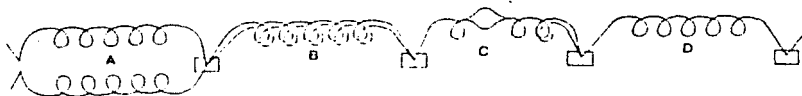


Fig. 8. Un arreglo de los grupos de replicones. Las líneas representan moléculas de DNA de doble hebra y su proteína asociada en la cromatina. Las asas representan cinco replicones individuales dentro de cada grupo (en realidad hay probablemente 20 o más replicones por grupo). Los rectángulos indican las uniones donde RNA y/o proteína que separan a los grupos contiguos. En A la duplicación y la segregación ya acontecieron. En B la cromatina se ha replicado pero no segregado. En C la replicación de la cromatina ha comenzado y la región del lado derecho está concluida, la forma de ojo indica que la replicación de dos replicones adyacentes está sucediendo. En el grupo D todavía no comienza la replicación. El daño a un grupo puede causar la situación del grupo C y que persista creando un sitio tal que involucre la unión entre los grupos B y C, donde una región de DNA replicada se encuentra adyacente a otra no replicada por un tiempo anormalmente largo. Este sitio es donde ocurre el rompimiento de doble hebra (Painter 1980).

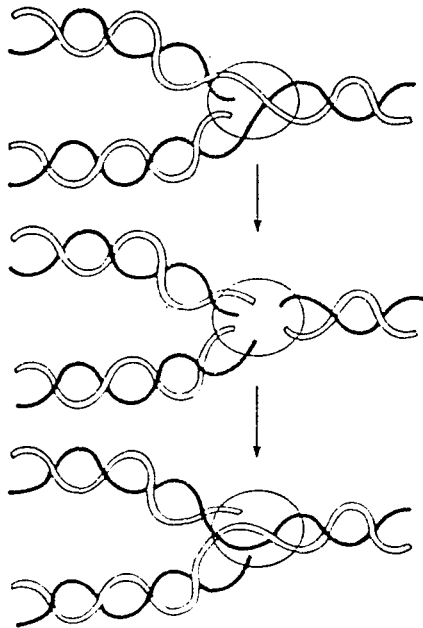


Fig. 9. Recombinación de doble hebra en la unión entre grupos de replicones. El intercambio mostrado en la base del diagrama se realiza entre hebras formadas recientemente del grupo replicado y hebras progenitoras del no replicado. El sistema responsable del sellado del DNA en la union formará más tarde el ICH (Painter 1980).