



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTACALA**



**INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS
INDUCIDOS POR CADMIO EN *Vicia faba***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A

JULIO CESAR ABARCA HERNANDEZ

REALIZADA BAJO LA DIRECCION DE LA
DRA. SANDRA GOMEZ ARROYO

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

MEXICO, D. F.

1989



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 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.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	17
RESULTADOS.....	19
DISCUSION.....	20
BIBLIOGRAFIA.....	25
TABLAS Y FIGURAS.....	45

Agradezco a la Dra. Sandra Gómez Arroyo sus esfuerzos, comentarios y atenciones por introducirme al increíble mundo de la citogenética.

Este agradecimiento no estaría completo sin mencionar a la Biól. Josefina Cortés Eslava, cuyo entusiasmo se ve reflejado en este trabajo.

Para terminar esta etapa de mi carrera se requiere del esfuerzo, el ánimo y la entrega de muchas gentes e instituciones, entre ellas se encuentran sin duda alguna mis padres Alicia y Julio, mi hermano Jorge, mi novia Georgina y mi Universidad, a quienes dedico este trabajo.

RESUMEN

El incremento continuo en el uso del cadmio a nivel industrial ha provocado la contaminación del suelo, del agua y del aire. Por esta razón es importante verificar el efecto que causa en los cromosomas. *Vicia faba* ha mostrado ser un sistema sensible para la evaluación del daño genético ocasionado por los metales pesados, mediante la cuantificación de la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICH).

La diferenciación de las cromátidas se realizó mediante la incorporación de 5-Bromodesoxiuridina (BrdUrd) durante dos ciclos de replicación y la tinción de Feulgen.

Los compuestos probados fueron nitrato de cadmio [$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$] y cloruro de cadmio (CdCl_2) en concentraciones de 0.001, 0.01, 0.1 y 0.5 ppm. Los tratamientos se aplicaron durante una hora después del primer ciclo de incorporación de BrdUrd.

Los resultados mostraron que el cloruro no elevó significativamente las frecuencias de ICH al aumentar la dosis, mientras que con el nitrato se produjeron diferencias significativas. Esto fue probablemente debido a que los nitratos penetraron con mayor facilidad que los cloruros a las células, lo cual permitió la presencia de cantidades suficientes de cadmio para inducir ICH.

INTRODUCCION

El interés por evaluar el daño genético que pueden causar los diferentes agentes físicos y químicos presentes en el medio ha llevado al uso de diversos sistemas de prueba, tales como microorganismos, insectos, mamíferos y vegetales.

Se ha demostrado que los cromosomas de las plantas superiores, constituyen un buen criterio de evaluación, para conocer el posible efecto que pueden ocasionar los contaminantes ambientales, ya que se ha establecido alta correlación con los resultados obtenidos en otros organismos (De Serres y Shelby, 1978; Ma, 1982).

Vicia faba ha sido utilizada en numerosos estudios para la detección de mutágenos a través de las aberraciones cromosómicas producidas en sus células (Oehlkers, 1953; Gläss, 1956; Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini, 1983; Gomez-Arroyo et al., 1985, 1986).

Esta planta contiene cromosomas de gran tamaño cuyo número no es elevado ($2n=12$), lo cual la hace muy útil en estudios de citogenética (Evans y Scott, 1964; Ma, 1982).

El intercambio de cromátidas hermanas (ICH) es una prueba empleada en esta misma planta, que ha probado ser eficiente en la determinación del daño cromosómico por compuestos químicos mutagénicos. Mediante este fenómeno es posible detectar el efecto

provocado por concentraciones hasta diez veces menores que las requeridas para producir aberraciones cromosómicas de compuestos promotores de cancer (Kato, 1974; Latt et al., 1981; Takehisa, 1982).

El ICH se define como un cambio simétrico en un locus entre dos cromátidas hermanas sin que haya alteración morfológica (Perry y Evans, 1975), según Painter (1980) se induce cuando se inhibe la elongación de la cadena de polinucleótidos, retardando la duplicación de ciertos agrupamientos de replicones, originando rupturas de banda doble, que al ser reparadas, en ocasiones unen la banda hija con la banda patrón, dando lugar al intercambio (Figs. 1 y 2).

La manifestación de este fenómeno es descrita por Mc Clintock en 1938, al observar que los cromosomas del maíz durante la división formaban anillos dicéntricos con una frecuencia predecible. La interpretación correcta de estos datos fue incierta debido a la carencia de información sobre la estructura del cromosoma en aquel entonces (Taylor, 1982). Posteriormente el análisis autorradiográfico utilizado por Taylor en 1938, en células cultivadas en presencia de timidina tritiada durante el primero de dos ciclos de división sucesivos, nota que hay intercambios de segmentos entre la cromátida marcada y la no marcada.

Los intercambios son evidentes cuando se examinan cromosomas de *Vicia faba*, a los cuales se les incorpora timidina tritiada

durante la fase S. El número de intercambios es muy elevado (Peacock, 1963).

Posteriormente en células animales se desarrolla el método de tinción diferencial de las cromátidas hermanas. Mismo que consiste en incorporar bromodesoxiuridina (BrdUrd) al ADN, cuando menos en el primero de dos ciclos de división sucesivos y en analizar los cromosomas al microscopio de fluorescencia después de teñirlos con una bisbencimida (Latt, 1974) o usando el microscopio de campo claro si enseguida de la bisbencimida se utiliza luz negra y Giemsa.

En *Vicia faba* se adapta la técnica anterior por Kihlman y Kromborg en 1975 y en 1982 Tempelaar adiciona a ésta la tinción de Fulgen.

Debido a que en los vegetales se ha notado baja incorporación de BrdUrd, se han agregado otros análogos de bases como la 5-Flúor desoxiuridina (5-FdUrd) con el objeto de que al suprimirse la síntesis de ácido timidílico, mediante la inhibición de la enzima timidilato sintetasa, se incremente la incorporación de BrdUrd, sin embargo puede haber efectos adversos sobre la síntesis de ARN por lo cual se adiciona también uridina (Kihlman y Andersson, 1982).

La tinción diferencial es observada gracias a la alteración de las propiedades de tinción de los cromosomas al ser reemplazada la timina por el bromouracilo (BrUra). De esta manera una cromátida

que ha incorporado BrUra en ambas cadenas de DNA (cromátida BB) se tiñe mas débilmente que una que ha incorporado BrUra en solo una cadena (TB), finalmente la cromátida TB no tiñe tan intensamente como la que no incorpora BrUra (TD) (Fig. 3).

Se ha sugerido la posibilidad de mantener las raíces durante dos ciclos de replicación en presencia de BrdUrd, obteniéndose cromosomas con la constitución BB/TB o bien un primer ciclo con BrdUrd y el segundo con timidina (Th) cuya integración es TT/TB (Kihlman y Andersson, 1984).

Entre los agentes químicos que pueden originar alteraciones genéticas se encuentran los metales pesados, los cuales se ponen en contacto con los diferentes organismos, en forma de partículas suspendidas en el aire y solubilizados en agua y suelo (Hutton, 1983). Fuentes locales y distantes de contaminación, así como el aire contribuyen en forma importante a la concentración total de metales pesados en ecosistemas terrestres naturales, estos son absorbidos por las plantas que ahí crecen y de esta manera se integran a la cadena alimenticia (Fróslie *et al.*, 1985).

Los metales pesados pueden incorporarse al ADN, uniéndose a las bases nitrogenadas y a los grupos fosfato, inhibiendo su replicación y transcripción (Rossman, 1981).

Cuando se elazan a la ADN polimerasa provocan infidelidad en el apareamiento de bases, lo cual se ha demostrado en experimentos *in vitro* (Hoffman y Niyogi, 1977; Rossman, 1981). Así mismo el

cadmio (Cd) ha inducido tumores en animales de laboratorio (Kazantzis y Hanbury, 1966; Reddy et al., 1973).

La creciente utilización del cadmio (Cd) en la industria ha provocado que se encuentre difundido en el medio causando gran interés en el estudio de sus efectos sobre la salud humana y el ambiente.

El Cd es un elemento escaso en la naturaleza y sólo existe un mineral, la grinocita, CdS, que está como cubierta de la esfalerita, ZnS, pero la mayor cantidad se obtiene del refinamiento del zinc (Zn).

Los principales países productores de Cd son: Estados Unidos, Canadá, Australia, Bélgica-Luxemburgo, México y Perú.

El cadmio se emplea especialmente para recubrimientos y aleaciones, las cuales pueden ser con níquel, plata y cobre; también es usado en joyería en la aleación cadmio-oro. En soldadura como recubrimiento en partes de motor de automóviles, radio y televisión. El Cd metálico y el nitrato de cadmio $[Cd(NO_3)_2]$ son utilizados en reactores para controlar la tasa de fisión nuclear y como veneno de reactor.

Las principales fuentes que lanzan Cd al ambiente se pueden dividir en naturales y antropogénicas. De las primeras la más importante es la actividad volcánica, con una cantidad aproximada de 20 toneladas anuales inyectadas a la atmósfera (Buat-Menard y

Arnold, 1978). En cuanto a las antropogénicas Hutton (1983) ha descrito la entrada anual de cadmio al ambiente en los países pertenecientes a la Comunidad Económica Europea (CEE) según el tipo de actividad (Tabla I).

En México la producción minera de cadmio de 1971 a 1985 se ha mantenido constante, con una cantidad promedio de 1677 toneladas por año, de las cuales solo se exportan de media a una tonelada y el resto se consume dentro del país (Consejo de Recursos Minerales, 1971-1985).

METABOLISMO

El cadmio reacciona con gran variedad de compuestos, especialmente enzimas, interactuando con politiolos y con metaloenzimas, alterando la actividad de estas macromoléculas y las reacciones en las que intervienen (Valle y Ulmer, 1972).

Microorganismos ambientales expuestos a metales pesados pueden resultar fisiológicamente dañados y modificados en algunas de sus síntesis biológicas (proteínas, peptidoglicanos, ADN y ARN), así como en las funciones de la membrana (transporte) y con poca capacidad para adaptarse a un ambiente adverso (Sjogren y Gibson, 1981). Sin embargo el cadmio resulta poco tóxico para *Escherichia coli* sometida a diferentes concentraciones, ya que causa escaso daño metabólico, el cual es medido a través de la actividad de las enzimas deshidrogenasa y β -galactosidasa (GAL) (Cenci *et al.*, 1985).

La susceptibilidad de las plantas al Cd varía según su especie; por ejemplo el maíz puede crecer en presencia de grandes cantidades del mismo, mientras que en el frijol provoca fuga de solutos, dañando la membrana, así como la formación de etileno e inactivación enzimática (Girling y Peterson, 1981; Fuhrer, 1982). También en el frijol el contenido de N en tallos, el peso y la cantidad de nódulos así como la fijación de N_2 (C_2H_2) disminuyó significativamente con $10 \mu M$ Cd/litro y se inhibió totalmente la nodulación con $500 \mu M$ Cd/litro (Vijue et al., 1981)

El cadmio afecta la fisiología de organismos que viven en cuerpos de agua, elemento que puede llegar a los mismos derivado de suelos y rocas, a través de la lixiviación por la precipitación ácida o al depositarse contaminantes aéreos (Peterson et al., 1985).

Experimentos llevados al cabo en diferentes organismos, para observar su posible daño fisiológico, han permitido demostrar incremento en la actividad metabólica de enzimas como la malato deshidrogenasa (MDH) del músculo y de las glándulas antenales, la lactato deshidrogenasa (LDH) y glucosa fosfato isomerasa (GPI) en corazón de la langosta americana (*Homarus americanus*), expuesta a dosis subletales (Gould, 1980). Mientras que en la especie *Morone saxatilis* produce mayor mortalidad en larvas de una semana de edad que crecen en agua blanda (8 mg Ca/l) a diferencia de las que se desarrollan en agua dura (125 mg Ca/l) (Wraight et al., 1985).

A este metal se le atribuye la inducción de ciertas alteraciones neuromusculares, debido al descenso de las concentraciones de Ca y K (Larsson et al., 1981). En carpa (*Cyprinus carpio* L.) diferentes dosis aplicadas disminuyen la presencia de Ca y P en vertebras a los 47 y 85 días después de iniciado el tratamiento, ocasionando su malformación (Muramoto, 1981).

En huevos y alevines de salmón (*Salmo salar*) la toma de Cd es influenciada por el pH de la solución, encontrándose que se acumula en mayor cantidad en ácidos (Peterson et al., 1985).

En mamíferos el 60% de Cd depositado en el pulmón es absorbido, mientras que por vía intestinal solo ocurre con el 1% (Webb, 1979).

El Cd pasa al torrente sanguíneo, se deposita en hígado y riñón, uniéndose a una metaloproteína y permanece en este órgano de 10 a 40 años (Friberg et al., 1974; Boisset et al., 1978).

La continua exposición y acumulación en el riñón, provoca la acción tóxica del Cd con efectos nefrotóxicos (Bernard et al., 1978; Lauwerys, 1979). El Cd interfiere con la absorción y el metabolismo del Zn, Cu, Fe y Ca (Banis et al., 1969; Fox, 1979). La exposición al mismo es más peligrosa en áreas donde la anemia es endémica o en niños y mujeres embarazadas que ingieren alimentos con baja cantidad de hierro (Six y Goyer, 1972).

En grupos socioeconómicos con problemas de nutrición los daños provocados por el cadmio son mucho más importantes. Rabar y Kostial (1981) encuentran que la dieta y la edad influyen independientemente la absorción del cadmio y su distribución en el cuerpo.

La administración de cobre o zinc previene la anemia, retarda el crecimiento y la mortalidad inducidos por el cadmio en ratas (Hill et al., 1963; Bunn y Matrone, 1966). Asimismo el cobre y el zinc junto con el hierro protegen contra la toxicidad del cadmio y reducen su efecto en las funciones hepáticas y pancreáticas en roedores (Bunn y Matrone, 1966; Merali y Singhal, 1976).

En ratas alimentadas con dietas deficientes en proteínas, pero que se les administra 40 ppm de cobre y 400 ppm de hierro, además del suministro de cloruro de cadmio equivalente a 0.75 mg Cd/Kg por vía intraperitoneal, se registra un aumento de cadmio y zinc renales, disminución del nivel de hierro más no así la concentración del cobre, la que permanece inalterada. También se obtiene incremento de la acción ribonucleica en hígado y riñón, tal vez debida al rompimiento del ARN o por alteraciones de la actividad del inhibidor de la ribonucleasa. La acción sobre las fosfatasas alcalina y ácida ejercida por el cadmio es antagónica a la presencia de cobre y hierro. Finalmente la elevación de los niveles de glutatión (GSH) como mecanismo de defensa contra el cadmio no fue cambiada ante la presencia de cobre y hierro (Tewari et al., 1986).

El contacto con niveles altos de óxido de cadmio en polvo causa acción fibrótica en el tejido pulmonar (Di Ferrante, 1979), descalcificación del esqueleto con fractura múltiple y alteración de la respuesta inmunológica (Chilsum, 1974; Koller, 1979; Muller *et al.*, 1979). Concentraciones elevadas de cadmio y plomo han sido asociadas con muertes por daños al corazón (Voors y Shuman, 1977; Voors *et al.*, 1982).

Las cantidades de cadmio en pelo de recién nacidos de madres hipertensas, son tres veces más altos que en sus progenitoras (Huel *et al.*, 1981). Revis *et al.* (1981) demuestran que el plomo y el cadmio pueden inducir arteroesclerosis aórtica e hipertensión en palomas. Por otro lado, en personas que fallecen por algún daño del corazón, se nota que en sus hígados hay altos niveles de cadmio en comparación con las muertas por otras causas (Voors *et al.*, 1982). Además se ha encontrado en adolescentes hipertensos una mayor cantidad de cadmio y plomo en pelo que en personas con presión arterial normal (Mediros y Pellum, 1985).

El aspecto más importante de la bioquímica del cadmio es la metalotioneína, que se sintetiza como resultado de la entrada de este metal al organismo. Estas proteínas constituyen una familia de peso molecular bajo (6100 daltons) ricas en cisteína y ampliamente distribuidas en la naturaleza. Es descubierta por Margoshes y Vallee (1957) en el riñón de caballo. Posteriormente se ha encontrado en otros vertebrados, aves, peces, crustáceos y microorganismos (Weser *et al.*, 1977; Kagi y Nordberg, 1980 citados por Dalgrano y Armitage, 1984).

Se demuestra que su biosíntesis es regulada a nivel transcripcional según la concentración de cadmio (Ohi et al., 1981) (Fig. 4).

EFECTOS CARCINOGENICOS Y MUTAGENICOS

El cadmio es conocido como inductor de tumores en el lugar de la inyección, en gran variedad de animales. Aplicaciones subcutáneas de varios compuestos de cadmio (sulfuro, óxido, sulfato, cloruro y en polvo) provocan sarcomas, tumores solo de origen mesenquimatoso (no ectodérmico, ni endodérmico). Sin embargo después de administraciones repetidas no se observa ninguna clase de tumor (Haddow et al., 1964; Roe et al., 1964; Kazantzis y Hanbury, 1966; Gunn et al., 1967), esto tal vez debido a la producción de metalotioneína.

Las inyecciones intratesticulares de cloruro de cadmio en gallos Leghorn causan teratomas y adenomas en las células de Sertoli (Guthrie, 1964). Mientras que suministros intraperitoneales durante largo plazo no incrementan significativamente el número de adenomas en el pulmón (Schroeder et al., 1964), lo mismo sucede por vía oral (Stoner et al., 1976).

En personas expuestas es difícil atribuirle al cadmio la formación de carcinomas, debido al problema de aislar a otros factores como el hábito de fumar, el contacto con otros agentes químicos, etc.

También el tamaño de la muestra ha sido un elemento limitante para determinar la carcinogenicidad del cadmio en trabajadores expuestos (Malcom, 1972; Tomatis *et al.*, 1978; Lauwerys, 1979; Leonard, 1979).

Como se menciona anteriormente, el cadmio es un potente inhibidor de enzimas, además de ser un fuerte desacoplador de la fosforilación oxidativa (Squibb y Fauber, 1981).

El cadmio reacciona fácilmente con polinucleótidos, en sitios donadores de electrones. Por lo que es de suponer que afecta el metabolismo de los ácidos nucleicos por reacción directa con ellos o con proteínas encargadas de su síntesis (Degraeve, 1981).

Puede aumentar o suprimir la síntesis del ARN (Hoffman y Niyogi, 1977; Enger *et al.*, 1979). También provoca la inhibición de la ADN polimerasa de *Escherichia coli* y de humano (Miyake *et al.*, 1979; Popenoe y Schmaeler, 1979), así como rompimiento de cadena simple, degradación del sistema de reparación, disminución de la fidelidad en la replicación de ADN y la separación de bases (Loeb *et al.*, 1977; Zasukhina *et al.*, 1977).

La incorporación de timidina y uridina es impedida por el Cd cuando es administrado a ratas, ratones y conejos (Lunan *et al.*, 1975; Cihak e Inoue, 1979; Samarawickrama y Webb, 1979). Recientemente se han descrito resultados contrarios en estudios *in vitro*, de los cuales se concluye que este metal a bajas dosis eleva la incorporación de timidina tritiada y duplica la tasa de

aminoacilación del tARN (Lishko et al., 1985; Hellman, 1986; Nicholls et al., 1986).

En microorganismos tales como *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium* y *Saccharomyces cerevisiae*, al utilizar la característica "rec", como criterio de mutación, se obtienen resultados negativos. Sin embargo, al hacer algunas pruebas con las cepas #17 y M 45 de *B. subtilis* con cloruro y sulfato de cadmio resultan positivas, mientras que con nitrato de cadmio es menos evidente el daño genético. En ensayos con ratón usando el sistema vía hospedero el Cd incrementa la frecuencia de reversiones en *Salmonella* (Nishioka, 1975; Kalinina et al., 1977; Putrament et al., 1977; Bruce y Heddle, 1979; Kanematsu et al., 1980).

En plantas superiores de las especies *Allium cepa*, *Beta vulgaris*, *Pisum abyssinicum*, *Nigella damascena*, *Crepis capilaris*, *Vicia sativa* y *Hordeum sativum*, se obtienen rompimientos y efectos radiomiméticos (Oehlkers, 1953; Von Rosen, 1954; Degraeve, 1971; Ruposhev y Garina, 1977). El número de lesiones se incrementa con la concentración.

En *Vicia faba* el Cd provoca aberraciones que en su mayoría son fragmentos cromosómicos, localizados principalmente en los cromosomas metacéntricos más del 60% en la constricción secundaria, 35% en el segmento centromérico y 5% en otros, sin embargo, con altas dosis el efecto tóxico es más importante que el mutagénico (Gläss, 1956). En arroz produce aumento en la frecuencia de mutaciones clorofilicas (Reddy y Vaidyanath, 1978).

En *Drosophila melanogaster*, la prueba Muller-5 para mutación letal recesiva o estéril acumuladas en el segundo cromosoma, en el cromosoma X y en el método de unión-X, no revelan efecto cuando se hacen crecer en medio de cultivo con 50 ppm de cloruro de cadmio (Ramel y Friberg, 1974; Inoue y Watanabe, 1978). Sin embargo Vasudev y Krishnamurthy (1979) obtienen resultados positivos con machos que emergen del medio con cadmio.

El cultivo de células de mamífero también se ha usado para valorar la mutagenicidad del cadmio. En leucocitos humanos, fibroblastos y células de ovario de criceto chino, se observan numerosas aberraciones, como rompimientos cromatídicos e isocromatídicos, translocaciones simétricas y asimétricas con concentraciones altas.

El tratamiento de leucocitos, linfocitos y fibroblastos humanos, carcinoma mamario de ratón, así como cultivos primarios de embrión de rata, no incrementa la frecuencia de ICH, de aberraciones ni se notan efectos radiomiméticos, sólo hay citotoxicidad en dosis muy elevadas (Zasukhina et al., 1977; Voroshilin et al., 1978; Umeda y Nishimura, 1979; Deaven y Campbell, 1980).

El cadmio administrado a mamíferos *in vivo* ha dado resultados negativos en la mayoría de los casos cuando se someten ratones, ratas y criceto dorado a tratamiento (Ramaya y Pomerantzeva, 1977; Bruce y Heddle, 1979; Deknutd y Gerber, 1979; Watanabe et al., 1979; Sutou et al., 1980). Mientras que en 8% de los ovocitos

observados de ratones hembras tratadas con $CdCl_2$ se observan anomalías cromosómicas constantes en hipo e hiperploidias (Shimada *et al.* 1975) También en carneros con una dieta de $80\mu g$ de Cd/g durante 191 días se notan leucocitos con hipoploidía (Doyle *et al.* 1974) y Felten (1978) encuentran aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea y en espermatoцитos de ratón.

En el presente trabajo se investigó el efecto citogenético del cadmio, mediante la inducción de ICH, en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, probándose diferentes concentraciones de nitrato de cadmio y de cloruro de cadmio para establecer la curva dosis efecto.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron semillas de *Vicia faba* (variedad minor), las cuales se lavaron con agua corriente durante dos horas, se mantuvieron en la obscuridad durante 24 horas a temperatura constante (21°C) sumergidas en agua, con el propósito de acelerar la germinación, se lavaron nuevamente diez minutos en agua corriente y se colocaron entre dos capas de algodón humedecido en la obscuridad hasta la aparición de las radículas, se removió la testa para evitar contaminación por hongos.

Cuando las raíces alcanzaron de dos a tres centímetros, se introdujeron en una solución de 5-Bromodesoxiuridina (5-BrdUrd) $100\mu\text{M}$, 5-Fluorodesoxiuridina (5-FdUrd) $0.1\mu\text{M}$ y Uridina (Urd) $5\mu\text{M}$, durante un ciclo de replicación (20 horas), utilizando un tubo de ensayo de 5 ml en gradillas con tapa, para evitar la exposición a la luz.

Transcurridas las 20 horas, se trataron en promedio ocho plántulas por concentración: 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 ppm de cloruro de cadmio (CdCl_2) y de nitrato de cadmio [$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$] las cuales fueron determinadas por experiencias previas. Durante el tratamiento de una hora las raíces de las plántulas testigo permanecieron sumergidas en agua destilada. Posteriormente, las raíces se colocaron en la solución de BrdUrd, FdUrd y Urd fresca durante un segundo ciclo de replicación, después del cual se cortaron dos milímetros a partir de la punta, a continuación se expusieron durante tres horas a colchicina 0.05% en la obscuridad.

Se fijaron con etanol-ácido acético (3:1) a -20°C durante 48 horas. A continuación los cortes se pusieron en etanol al 70% a 28°C por 15 minutos. Se hidrolizaron con HCl 5N durante 80 minutos en baño maría a 28°C . Se enjuagaron con agua destilada, tres veces cuando menos y se tñeron con el reactivo de Schiff durante 12 minutos en obscuridad. Los cortes se trataron con pectinasa al 2% disuelta en amortiguador de citratos (pH 4.7) durante 15 minutos a 28°C . Enseguida se pusieron en ácido acético al 45% durante 10 minutos y se sometieron a etanol al 70% frío por 30 minutos.

El aplastamiento en monocapa se llevó a cabo en presencia de ácido acético al 45% y las preparaciones fueron hechas permanentes por la técnica de hielo seco (Conger y Fairchild, 1953). Deshidratando con dos cambios de butanol y se montaron en bálsamo de Canadá.

La interpretación de los datos se hizo de acuerdo al criterio de Latt *et al.* (1981) con base en 233 artículos que involucran el ICH como método de detección de mutágenos. Donde se recomienda el uso de la prueba de "t" student, que es propuesta para el análisis de datos y de las poblaciones con distribución normal y varianzas equivalentes a 50 cromosomas metacéntricos y 250 subacrocentricos, además con el propósito de comprobar la validez de los resultados se hizo una repetición del experimento. Con el fin de evitar prejuicios las preparaciones fueron reetiquetadas, de tal manera que el observador no supiera a que grupo pertenecían.

Los intercambios terminales se cuantificaron como un evento y los intersticiales como dos (Fig. 5).

RESULTADOS

A los datos obtenidos en las diversas concentraciones de cada experimento y su repetición se les aplicó la prueba de "t" de student, observándose que no hubo diferencias significativas, entre ellos por lo tanto se procedió a promediarlos.

Las frecuencias de ICH encontrados con cloruro de cadmio se muestran en la Tabla II, donde se evidencia que a pesar de que el número de ICH se va elevando en forma dependiente de la dosis, no se duplica la frecuencia obtenida en el testigo. Al comparar estadísticamente cada caso con el testigo se reveló que ninguna de ellas fue significativamente diferente.

En tanto que con el nitrato de cadmio (Tabla III) se observó incremento de las frecuencias al aumentar la concentración y además en 0.01 y 0.1ppm, la prueba de "t" indicó que existen diferencias significativas y con esta última se duplicó la obtenida con el testigo.

A 0.5ppm de nitrato de cadmio la lectura de intercambios se dificultó y no se llegó a completar el número mínimo requerido de metafases

DISCUSION

A partir de los primeros experimentos realizados en *Vicia faba*, ésta mostró cierta sensibilidad para evidenciar el daño genético ocasionado por los metales pesados (Gläss, 1956; Degraeve, 1971).

Se ha descrito en *Vicia faba* un valor basal de 20 ICH/célula en cromosomas con constitución TT/TB y de 29 ICH/célula en cromosomas TB/BB (Kihlman y Andersson, 1984) este dato coincide con el obtenido en este trabajo, donde los testigos muestran una frecuencia de 30 y 31 ICH/célula (Tablas II y III), al permanecer durante dos ciclos de replicación en BrdUrd.

Con respecto al efecto del cadmio sobre los organismos aún existen controversias para definir si es o no mutagénico, fundamentándose en los resultados contradictorios obtenidos en los diferentes laboratorios, incluso usando los mismos sistemas de prueba (Felten, 1978; Bruce y Heddle, 1979).

Experimentos recientes han aportado pruebas que ratifican la mutagenicidad del metal en cuestión. La frecuencia de ICH en este trabajo se eleva significativamente en los tratamientos con nitrato de cadmio (Tabla III) en tanto que con cloruro de cadmio en ninguna de las concentraciones se observan diferencias significativas con respecto al testigo (Tabla II), este resultado coincide con el obtenido por Rasmuson (1985) en *Drosophila melanogaster* utilizando la prueba de UZ, que consiste en la

inducción de ojos color amarillo claro, que resulta de la expresión del locus "white", el nitrato aumenta sensiblemente la frecuencia de mutaciones con respecto al cloruro de cadmio pero sin diferencia significativa al compararse con el testigo.

Sin embargo, Ochi y Ohsawa (1983) en cultivo de células de criceto chino, sensibles a la 6-tioguanina sometidas a soluciones de cloruro de cadmio, equivalentes a 0.3, 0.6 y 0.8ppm, obtienen incremento significativo de la población de células resistentes a la 6-tioguanina; inhibición del crecimiento en concentraciones altas, formación de enlaces cruzados ADN-proteína, así como un efecto aditivo cuando se combina con benzo(a)pireno.

Por otro lado, se ha descrito que el cadmio provoca rompimientos de cadena sencilla y que la reunión incompleta del ADN dañado es debida a la reacción del metal con enzimas involucradas en su reparación, sin embargo es incapaz de causar el mismo efecto en condiciones anaeróbicas, por lo que se deduce que requiere del oxígeno para producir su acción mutagénica, ya que las especies oxidantes activas originan la alteración del ADN después de exponer las células al cadmio (Ochi et al., 1983a,b).

Las especies oxidantes activas, como el superóxido, radical libre hidroxil y peróxido de hidrógeno ($O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , H_2O_2) son creados como reactivos intermedios cuando el oxígeno es reducido para dar lugar a la formación del agua (Vuillaume, 1987).

Ahora bien, los metales divalentes capaces de llevar a cabo reacciones redox, participan en la promoción de la peroxidación enzimática y autoxidativa de ácidos grasos polinsaturados. El Cd a una concentración mayor de $5 \times 10^{-5} M$ induce el establecimiento de peróxidos de lípidos en hepatocitos aislados (Stacey et al., 1980). El malondialdehído, un producto secundario del hidroperóxido lípido, reacciona con el ADN, provocando efectos mutagénicos y carcinogénicos (Brooks y Klammerth, 1968; Schamberger et al., 1974; Mukai y Goldstein, 1976).

En cultivos de células V79 de criceto chino, tratadas con cloruro de cadmio, sustancias antioxidantes y secuestrantes de especies oxidantes activas, tales como la catalasa, el manitol y el hidroxitolueno butilado (BHT), suprimen parcial o totalmente la inducción de aberraciones cromosómicas causadas por el cadmio. El hecho de que la presencia de aminotriazol (un inhibidor de la catalasa) aumente la clastogenicidad del cadmio, evidencia de que el peróxido de hidrógeno es formado por la acción de este metal (Ochi y Ohsawa, 1985), y aquel es un activo formador de peróxidos de ácidos grasos cuyos efectos se han mencionado anteriormente (Cerrutti, 1985; Vuillaume, 1987).

En cultivos de linfocitos humanos el cadmio causa ligera acción clastogénica, dependiendo de la dosis utilizada, tales como rompimientos de tipo cromatídico, fragmentos acéntricos, "huecos" e ICH. Así como también se observa efecto protector, no sinérgico al hacer combinaciones dobles o triples con plomo y zinc (Shiriashi et al., 1972; Gasiorok y Bauchinger, 1981; Cea et al.,

1983). Además disminuye la longitud del cromosoma con tratamientos cortos de cuatro horas, demostrando ser un fuerte inhibidor del huso acromático en el mismo tipo de cultivo (Anderson et al., 1983).

Con respecto a los resultados del presente trabajo, las frecuencias de ICH obtenidas asevera el efecto cromosómico del cadmio, sin embargo las diferencias entre el nitrato y el cloruro de cadmio, quizá tengan explicación desde el punto de vista fisiológico, ya que la entrada de nitratos en general, hacia la célula se realiza por un mecanismo de transporte activo, acoplado a la ATPasa, mientras que con los cloruros, a excepción de las plantas que viven en medios fuertemente salinos, no se ha encontrado ningún transporte estimulado por la ATPasa (Clarkson, 1984).

Además el nitrato siendo un nutriente permanece como tal un período corto, y rápidamente reducido a nitrito por la acción de la enzima nitrato reductasa y posteriormente pasa a NH_4^+ mediante la enzima nitrito reductasa, el amonio se une al ácido α -cetoglutarico, formando ácido glutámico, un aminoácido y así se incorpora a la síntesis de otros aminoácidos o de proteínas (Salisbury y Ross, 1969).

De lo anterior se puede concluir que el nitrato es cuantitativa y metabólicamente más importante que el cloruro, el cual nunca llega a formar parte estructural de la célula, solo es un activador de la fotosíntesis (Salisbury y Ross, 1969), no

necesario para las células sin clorofila y en división intensa del meristemo radicular. Esta situación provoca que cuando la raíz está inmersa en la solución de cloruro de cadmio solo entra una pequeña cantidad del ion cloruro, originando un potencial electroquímico, que no permite una penetración eficiente del cadmio, el cual no se encuentra en cantidad suficiente para incrementar el daño genético.

En conclusión, la clastogenicidad del cadmio en los mismos o diferentes sistemas de pruebas depende de la forma química en que se administre, además, actúa como agente mutagénico indirecto al provocar la formación de peróxidos de ácidos grasos, los cuales dañan al ADN, por lo que conociendo las consecuencias que acarrea dicho metal es conveniente su vigilancia y control tanto en el ambiente natural como en el laboral y urbano.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, O., Roenne, M. y Nordberg, G.F. (1983) Effects of inorganic metal salts on chromosome length in human lymphocytes. *Hereditas* 98, 65-70.
- Banis, R.J., Pond, W.G., Walker, E.F. Jr. y O'Connor, J.R. (1969) Dietary cadmium, iron, and zinc interactions in the growing rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 130, 802-806.
- Bernard, A., Goret, A., Roels, H., Buchet, J. y Lanwerys, R. (1978) Experimental confirmation, in rats of the mixed type proteinuria observed in workers. *Toxicology* 10, 369-375.
- Boisset, M., Girard, F., Godin, J. y Boudene, C. (1978) Cinétique de l'épuration pulmonaire du cadmium inhalé et son accumulation dans le foie et dans les reins chez le rat. *C.R. Acad. Sci. Paris* 287, 61-64.
- Brooks, B.R. y Klammerth, O.L. (1968) Interactions of DNA with bifunctional aldehydes. *Eur. J. Biochem.* 5, 178-182.
- Bruce, W. y Heddle, J. (1979) The mutagenic activity of 61 agents as determined by the micronucleus, *Salmonella* and sperm abnormality assays. *Can. J. Genet. Cytol.* 21, 319-334.

- Buat- Menard, P. y Arnold, M. (1978) The heavy metal chemistry of atmospheric particulate matter emitted by Mount Etna volcano. *Geophys. Res. Lett.* 5, 245-248.
- Bunn, C.R. y Matrone, G. (1966) *In vivo* interactions of Cd, Cu, Zn, and Fe in the mouse and rat. *J. Nutr.* 90, 395-399.
- Cea, G.C., Alarcon, M.A. y Queisert, G. T. (1983) Induction of chromosome aberration and SCE in human lymphocytes by cadmium chloride. *IRCs. Med. Sci. Biochem.* 11, 997-998.
- Cenci, G., Morozzi, G. y Caldini, G. (1985) Injury by heavy metals in *Escherichia coli*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 188-195.
- Ceruti, P.A. (1985) Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227, 375-381.
- Chilsom, J. (1974) Heavy metal exposures: toxicity from metal-metal interactions, and behavioral effects. *Pediatrics* 53, 841-843.
- Cihak, A. e Inoue, H. (1979) Synthesis of DNA in the liver and testes of Cd- treated partially hepatectomized rats. *J. Biochem.* 86, 657-662.

- Clarkson, D.T. (1984) Ionic relations. En: *Advanced Plant Physiology*, Pitman Pub. Londres, pp. 337.
- Conger, A.D. y Fairchild, L.M. (1953) A quick-freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technol.* 28, 281-283.
- Consejo de Recursos Minerales: Anuario Estadístico de la Minería Mexicana (1981-1985).
- Cram, W.J. (1980) A common feature of the uptake of solutes by root parenchyma cells. *Aust. J. Plant. Physiol.* 7, 41-49.
- Dalgrano, D.C. y Armitage, I.M. (1984) Elucidation of the structure and metal sequestering properties of metallothionein by nuclear magnetic resonance. En: *Advances in Inorganic Biochemistry*. Elsevier, Nueva York, pp. 113.
- Deaven, L. y Campbell, E. (1980) Factors affecting the induction of chromosomal aberrations by cadmium in Chinese hamster cells. *Cytogenet. Cell. Genet.* 26, 251-260.
- Degraeve, N. (1971) Modification des effets du méthane sulfonat d'ethyl au niveau chromosomique. I. Les ions métalliques. *Rev. Cytol. Biol. Veget.* 34, 233-244.
- Degraeve, N. (1981) Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutat. Res.* 96, 115-135.

- Deknudt, G. (1978) Mutagenicity of heavy metals. *Mutat. Res.* 86, 115-135.
- Deknudt, G. y Gerber, G. (1979) Chromosomal aberrations in bone marrow cells of mice given a normal or a calcium deficient diet supplemented with various heavy metals. *Mutat. Res.* 68, 163-168.
- De Serres, F.J. y Shelby, M.D. (1978) Higher plant systems as monitors of environmental mutagens. *Environ. Health Perspect.* 27, 1-206.
- Di Ferrante, E. (1979) Trace metals: exposure and health effects, Pergamon, Londres.
- Doyle, J., Pfander, W., Crenshaw, E. y Sneathen, J. (1974) Induction of chromosomal hypodiploidy in sheep leukocytes by cadmium. *Interface* 31, 9.
- Enger, M., Campbell, E., Ratliff, R., Tobey, R., Hildebrand, E. y Kissane, R. (1979) Cadmium induced alterations in RNA metabolism in cultures of Chinese hamster cells sensitive and resistant to the cytotoxic effects of cadmium. *J. Toxicol. Environ. Health* 5, 711-728.
- Evans, H.J. y Scott, D. (1964) Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hidrazide in *Vicia faba*. *Genetics* 48, 17-38.

- Felten, T. (1978) A preliminary report of cadmium-induced chromosomal changes in somatic and germinal tissues of (57 B 1/6) male mice. *Genetics* 88, s26-s27.
- Fox, M.R.S. (1979) Nutritional influences on metal toxicity: Cd as model toxic element. *Environ. Health Perspect.* 29, 95-104.
- Friberg, L., Piscator, M., Nordberg, G. y Kjellström, T. (1974) Cadmium in the environment, 2a. ed. CRC Press. Nueva York.
- Frøslie, A., Norheim, G., Rambzek, J.P. y Steinnes, E. (1985) Heavy metals in lambs liver: contribution from atmospheric fallout. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 175-182.
- Fuhrer, J. (1982) Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Plant cell and environment* 5, 263-270.
- Gasiorek, K. y Bauchinger, M. (1981) Chromosome changes in human lymphocytes after separate and combined treatment with divalent salts of lead, cadmium, and zinc. *Environ. Mutagenesis* 3, 513-518.
- Gebhart, E. (1984) Chromosome damage in individuals exposed to heavy metals. *Toxicol. Environ. Chem.* 8, 253-266.
- Girling, C.A. y Peterson, P.J. (1981). The significance of the cadmium species in uptake and metabolism of cadmium in crop plants. *J. Plant Nutrition* 3, 707-720.

- Gläss, E. (1956) Untersuchungen über die einwirkung von schwer metallsaltzen auf die wurzelspitzen mitose von *Vicia faba*. *Z. Bot.* 44, 1-58.
- Gómez-Arroyo, S. y Villalobos-Pietrini, R. (1983) Chromosomal alterations induced by some chromium salts. *Cytologia* 48, 185-193.
- Gómez-Arroyo, S., Baiza, A.M., López, G. y Villalobos-Pietrini, R. (1985) A comparative study of the cytogenetic effects of insecticides heptachlor, malathion and methyl parathion in *Vicia faba*. *Cont. Amb.* 1, 7-16.
- Gómez-Arroyo, S., Castillo- Ruiz, P. y Villalobos-Pietrini, R. (1986) Chromososomal alterations induced in *Vicia faba* by different industrial solvents: thinner, toluene, benzene, n-hexane, n-heptane and ethyl acetate. *Cytologia* 51, 133-142.
- Gould, E. (1980) Low salinity stress in the american lobster, *Homarus americanus*, after chronic sublethal exposure to cadmium: Biochemical effects. *Helgolander Meeresunters* 33, 59-67.
- Gunn, S., Gould, T. y Anderson, W. (1967) Specific response of mesenchimal tissue to cancerigenesis by Cd. *Arch. Pathol.* 83, 493-499

- Guthrie, J. (1964) Histological effects of intratesticular injections of $CdCl_2$ in domestic fowl. *Br. J. Cancer* 18, 255-260.
- Haddow, A., Roe, F., Dukes, C. y Mitchley, B. (1964) Cadmium neoplasia, sarcomata at the site of injection of cadmium sulphate in rats and mice. *Br. J. Cancer* 18, 667-673.
- Hellman, B. (1986) Evidence for stimulatory and inhibitory effect of Cd on the [3H]thymidine incorporation into various organs of the mouse. *Toxicology* 40, 13-23.
- Hill, C. H., Matrone, G., Payne, W.L. y Barber, C.W. (1963) *In vivo* interactions of Cd with Cu, Zn, and Fe. *J. Nutr.* 80, 227-235.
- Hoffman, D.M. y Niyogi, S. (1977) Metal mutagens and carcinogens affect DNA synthesis rates in distinct manner. *Science* 198, 513-514.
- Huel, G., Boudene, C. e Ibrahim, M.A. (1981) Cadmium and lead content of maternal and newborn hair: relationship to parity, birth, and hypertension. *Arch. Environ.* 36, 221-227.
- Hutton, M. (1983) Sources of cadmium in the environment. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 7, 9-20.

Innes, J., Ulland, B., Valerio, M., Petrucelli, L., Fishbein, L., Hart, E., Pallotta, R., Bates, R., Falk, H., Gart, J., Klein, M., Mitchell, I. y Peter, J. (1969) Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: a preliminary note. *J. Natl. Cancer Inst.* 42, 1101-1114.

Inoue, J. y Watanabe, T. (1978) Toxicity and mutagenicity of cadmium and furfuralamide in *Drosophila melanogaster*. *Jpn. J. Genet.* 53, 183-190.

Kacew, S., Merali, Z. y Singhal, R. (1976). Comparison of subacute effects of cadmium exposure upon nucleic acid, metabolism in lung and kidney cortex. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38, 145-156.

Kalinina, L., Polukhina, G., y Lukasheva, L. (1977) *Salmonella typhimurium* test system for indication of mutagenic activity of environmental hazards, I. Detection of mutagenic effect of heavy metal salts using *in vivo* and *in vitro* assays without metabolic activation. *Genetika* 13, 1089-1092.

Kanematsu, N., Hara, M. y Kada, T. (1980) Rec assay and mutagenicity studies on metal compounds. *Mutat. Res.* 77, 109-116.

Kato, H. (1974) Induction of sister chromatid exchanges (SCE) by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair. *Exp. Cell. Res.* 85, 239-249.

- Kazantzis, G. y Hanbury, M. (1966) Induction of sarcoma in the rat by cadmium sulfide and cadmium oxide. *Br. J. Cancer* 20, 190-199.
- Kihlman, B. A. y Kromborg, D. (1975) Sister chromatid exchanges in *Vicia faba*. I. Demonstration by a modified fluorescent plus Giemsa (FPG) technique. *Chromosoma* 51, 1-10.
- Kihlman, B. A. y Andersson, H.C. (1982) Sister chromatid exchanges in plants. En: *Sister Chromatid Exchange*. Wiley, Nueva York, pp. 247-248.
- Kihlman, B. A. y Andersson, H.C. (1984) Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. En: *Handbook of mutagenicity test procedures*, 2a. ed. Elsevier. Amsterdam, pp. 531-553.
- Koller, L. (1979) Some immunological effects of lead, cadmium, and methyl mercury. *Drug Chem. Toxicol.* 2, 99-110.
- Kumaraswamy, K. y Raja-Sekarasetty, M. (1977). Preliminary studies on the effects of cadmium chloride on the meiotic chromosomes. *Current Sci.* 46, 475-478.
- Larsson, A., Bengtsson, B.E. y Haux, C. (1981) Disturbed ion balance in flounder, *Platichthys flesus* L., exposed to sublethal levels of cadmium. *Aquatic Toxicol.* 1, 19-35.

- Latt, S.A. (1974) Localitation of sister chromatid exchange in human chromosomes, *Science*, 186, 75-76.
- Latt, S.A., Allen, J., Bloom, S.E., Carrano, A., Falke, C., Kram, D., Scheneider, E., Schrech, R., Whilfield, B. y Wolff, S. (1981) SCE: a report of the gene-tox program. *Mutat. Res.* 87, 17-62.
- Lauwerys, R. (1979) Cadmium in man. En: *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*. Ed. Webb, Elsevier, North-Holland, pp. 433-455.
- Leonard, A. (1979) Carcinogenic and mutagenic effects of metals (As, Cd, Cr, Hg, Ni), present state of knowledge and needs for further studies. En: *Trace Metals Exposure and Health Effects*. Ed. Di Ferrante, E., Pergamon, Londres, pp. 199-216.
- Lishko, A.K., Vasselouskaya, L.D., Orlouskaya, N.N. y Melnichuk, Y.P. (1985) Effect of Cd ions on the rat tRNA aminoacylation reaction rate. *Ukr. Biokhim. Zh.* 57, 59-61.
- Loeb, L., Sirover, M., Weymouth, L., Dube, D., Seal, G., Agarwal, S. y Katz, E. (1977) Infidelity of DNA synthesis. *J. Toxicol. Environ. Health* 2, 1297-1304.
- Lucis, O., Lucis, R. y Aterman, R. (1972) Tumorigenesis by cadmium. *Oncology* 26, 53-57.

- Lunan, K., Jorgenson, T. y Goldstein, G. (1975) Pb and Cd inhibition of DNA biosynthesis. *Abstr. Int. Conf. Heavy Metals Environ.* Toronto, B61-B63.
- Ma, T. H. (1982) *Vicia* cytogenetic tests for environmental mutagens. A report of the U.S. Environmental Protection Agency, Gene-tox Program. *Mutat. Res.* 99, 257-271.
- Malcom, D. (1972) Potential carcinogenic effect of Cd in animals and man. *J. Am. Occup. Hyg.* 15, 33-37.
- Margoshes, M. y Vallee, B. (1957) A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4813-4814.
- Mc Clintock, B. (1938) The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. *Genetics*, 23, 315-376.
- Mediros, D.M. y Pellum, L.K. (1985) Blood pressure and hair cadmium, lead, copper, and zinc concentrations in Mississippi adolescents. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 163-169.
- Merali, Z. y Singhal, R.L. (1976) Prevention by Zn of Cd induced alteration in pancreatic and hepatic functions. *Brit. J. Pharmacol.* 57, 573-579.

- Miyake, M. Murata, I., Osabe, M. y Ono, T. (1979) Effect of metal cations on misincorporation by *E. coli* DNA polymerases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 77, 854-860.
- Mukai, F.H. y Goldstein, W. (1976) Mutagenicity of malonaldehyde, a decomposition product of peroxidized polyunsaturated fatty acid. *Science* 191, 868-869.
- Muller, S., Gillert, K., Krause, C., Jautzke, G., Gross, U. y Diamantstein, T. (1979) Effects of cadmium on the immune system of mice. *Experientia* 35, 909-910.
- Muramoto, S. (1981) Variations of some elements in cadmium induced malformed fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27, 193-200.
- Nicholls, D.Mc E., Teichert-Kuliszewska, K. y Kuliszewski, M.J. (1986) Translation of muscle mRNA in rats following acute exposure to Pb o Cd. *Comp. Biochem. Physiol.* 83C, 365-370.
- Nishioka, H. (1975) Mutagenic activities of metal compounds on cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* 54, 246-247.
- Ochi, T. y Ohsawa, M. (1983) Induction of 6-thioguanine-resistant mutants and single strand scission of DNA by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 111, 69-78.

- Ochi, T., Takayanagi, M. y Ohsawa, M. (1983a) Cadmium induced DNA single-strand scissions and their repair in cultured Chinese hamster cells. *Toxicology Letters* 18, 177-183.
- Ochi, T., Ishiguro, T. y Ohsawa, M. (1983b) Participation of active oxygen species in the induction of DNA single-strand scissions by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 122, 169-175.
- Ochi, T. y Ohsawa, M. (1985) Participation of active oxygen species in the induction of chromosomal aberrations by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells *Mutat. Res.* 143, 137-142.
- Oehlkers, F. (1953) Chromosome breaks influenced by chemicals. *Heredity (Suppl.)* 6, 95-105.
- Ohi, S., Cardenosa, G., Pine, R. y Huang, P.C. (1981) Cadmium induced accumulation of metallothionein messenger RNA in rat liver. *J. Biol. Chem.* 256, 2180-2184.
- Painter, R.B. (1980) A replication model for sister chromatid exchange. *Mutat. Res.* 70, 337-341.
- Peacock, W.J. (1963) Chromosome duplication and structure as determined by autoradiography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 49, 793-801.

- Perry, P. y Evans, H.J. (1975) Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 258, 121-125.
- Peterson, R.H., Metcalfe, J.L. y Ray, S. (1985) Uptake of Cd by eggs and alevines of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as influenced acidic conditions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 359-368.
- Popenoe, E. y Schmaeler, M. (1979) Interaction of human DNA polimerase β with ions Cu, Pb, and Cd. *Arch Biochem. Biophys.* 196, 109-120.
- Putrament, A., Baranowska, H., Ejchart, A. y Jachymczyk, W. (1977) Manganese mutagenesis in yeast, VI. Mn^{+2} uptake mit DNA replication and ER induction, comparison with other divalent cations. *Molec. Gen. Genet.* 151, 69-76.
- Rabar, I. y Kostial, K. (1981) Bioavailability of Cd in rats fed various diets. *Arch. Toxicol.* 47, 63-66.
- Ramaya, L. y Pomerantzeva, M. (1977) Investigation of cadmium chloride mutagenic effect on germ cells of male mice. *Genetika* 13, 59-63.
- Ramel, C. y Friberg, L. (1974) En: Cadmium in the environment. Friberg, L., Piscator, M. y Nordberg, G. 2a ed. CRC, Nueva York, 133.

- Rasmuson, A. (1985) Mutagenic effects of some water-soluble metal compounds in a somatic eye-color test system in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 157, 157-162.
- Reddy, J., Svoboda, D. Azarnoff, D. y Dawas, R. (1973) Cadmium-induced Leydig cell tumors of rat testis: morphologic and cytochemical study. *J. Natl. Cancer Inst.* 51, 891-903.
- Reddy, T. y Vaidyanath, K. (1978) Mutagenic, potentiating and antimutagenic activity of certain metallic ions in the rice genetic system. *Current Sci.* 47, 513-515.
- Revis, N.W., Zinmeister, A.R. y Bull, R. (1981) Atherosclerosis and hypertension induction by lead and cadmium ions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78, 6494-6498.
- Roe, F., Dukes, C., Cameron, K., Pugh, R. y Mitchelet, B. (1964) Cadmium neoplasia: testicular atrophy and Leydig cell hyperplasia and neoplasia in rats and mice following the subcutaneous injection of Cd salts. *Br. J. Cancer* 18, 674-681.
- Rossmann, T.G. (1981) Effect of metals on mutagenesis and DNA repair. *Environ. Health Perspect.* 40, 189-193.
- Rubin, H. (1975) Nonspecific nature of the stimulus to DNA synthesis in cultures of chick embryo cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.)* 72, 1676-1680.

- Ruposhev, A. y Garina, K. (1977) Modification of effects of ethyleneimina by cadmium in *Crepis capilaris*. *Genetika* 13, 32-36.
- Salisbury, F. y Ross, C. (1969) Plant Physiology. Wadsworth, California, pp. 90,154.
- Samarawickrama, G. y Webb, M. (1979) Acute effects of cadmium on the pregnant rat and embryo fetal development. *Environ. Health Perspect.* 28, 245-250.
- Schamberger, R.J., Andreone, T.L. y Willis, C.E. (1974) Antioxidants and cancer, IV. Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. *J. Natl. Canc. Inst.* 53, 1771-1773.
- Schnell, R. (1978) Cadmium induced alteration of drug action. *Fed. Proc.* 37, 28-34.
- Schroeder, H., Balassa, J. y Vinton, W. (1964) Cr, Pb, Cd, Ni, and Ti in mice: effect on mortality, tumors and tissue levels. *J. Nutr.* 83, 239-250.
- Shiriashi, Y., Kurahashi, H. y Yosida, T. (1972) Chromosomal aberrations in cultured human leucocytes induced by cadmium sulfide. *Proc. Jpn. Acad.* 48, 133-137.

- Six, K.M. y Goyer, R.A. (1972) The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 79, 128-136.
- Sjogren, R.E. y Gibson, M.J. (1981) Bacterial survival in a dilute environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 1331-1336.
- Squibb, K.S. y Fowler, B.A. (1981) Relationship between metal toxicity to subcellular systems and the carcinogenic response. *Environ. Health Perspect.* 40, 181-188.
- Stacey, N.H., Cantilena, L.R.Jr. y Klaassen, C.D. (1980) Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53, 470-480.
- Stoner, G., Shimkin, M., Troxell, M., Thompson, T. y Terry, L. (1976) Test for carcinogenicity of metallic compounds by the pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res.* 36, 1744-1747.
- Sunderman, F.Jr. (1971) Metal carcinogenesis in experimental animals. *Food Cosmet. Toxicol.* 9, 105-120.
- Sutou, S., Yamamoto, K., Sendota, H. y Sugiyama, M. (1980) Toxicity, fertility, teratogenicity and dominant lethal tests in rats administered cadmium subchronically. II. Fertility, teratogenicity and dominant lethal tests. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 4, 51-56.

- Takehisa, S. (1982) Induction of SCE by chemicals agents. En: *Sister chromatid exchange*. Ed. Wolff, S. Wiley, Nueva York, pp. 87-143.
- Taylor, J.H. (1958) Sister chromatid exchange in tritium labeled chromosomes. *Genetics*, 43, 515-529.
- Taylor, J.H. (1982) Sister chromatid exchange: early experiments with autoradiography. En *Sister chromatid exchange*. Ed. Wolff, S., Wiley, Nueva York, pp. 2 y 3.
- Tempelaar, M.J., de Both, M.T.J. y Versteegh, J.E.G. (1982) Measurement of SCE frequencies in plants: a simple Fulgen-staining procedure for *Vicia faba*. *Mutat. Res.* 103, 321-326.
- Tewari, P.C., Kachru, D.N. y Tandon, S.K. (1986) Influence of copper and iron on subacute cadmium intoxication in protein-malnourished rats. *Environ. Res.* 41, 53-60.
- Tomatis, L. Agthe, C., Bartsch, H., Huff, J., Montesano, R., Saracci, R., Walker, E. y Wilbourn, J. (1978) Evaluation of the carcinogenicity of chemicals: a review of the monograph program of the International Agency for Research on Cancer, 1971-1977. *Cancer Res.* 38, 877-885.

- Umeda, M., y Nishimura, M. (1979) Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* 67, 221-229.
- Valle, B. y Ulmer, D. (1972) Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Ann. Rev.* 41, 91-128.
- Vasudev, V. y Krishnamurthy, N. (1979) Dominant lethals induced by cadmium chloride in *Drosophila melanogaster*. *Current Sci.* 48, 1007- 1008.
- Vigue, G.T., Pepper, I.L. y Bezdicek, D.F. (1981) The effect of cadmium on nodulation and $N_2(C_2H_2)$ fixation by dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Environ. Qual.* 10, 87-90.
- Von Rosen, G. (1954) Breaking of chromosomes by the action of elements of the periodical system and some other principles. *Hereditas* 40, 258-263.
- Voroshilin, S., Plotko, E., Fink, T. y Nikriforova, V. (1978) Cytogenetic effect of inorganic and acetate compounds of tungsten, zinc, cadmium and cobalt on animal and human somatic cells. *Tsitol. Genet.* 12, 241-243.
- Voors, A.W. y Shuman, M.S. (1977) Liver cadmium levels in North Carolina residents who died of heart disease. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 17, 692-696.

- Voors, A.W., Johnson, W.D., Shuman, M.S. (1982) Additive statistical effects of cadmium and lead on heart-related disease in a North Carolina autopsy series. *Arch. Environ. Health* 37, 98-102.
- Vuillaume, M. (1987) Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation. *Mutat. Res.* 186, 43-72.
- Watanabe, T., Shimada, T. y Endo, A. (1979) Mutagenic effects of cadmium on the oocyte chromosomes. *Mutat. Res.* 67, 349-356.
- Webb, M. (1972) Binding of cadmium ions by rat liver and kidney. *Biochem. Pharmacol.* 21, 2751-2765.
- Webb, M. (1979) The chemistry, biochemistry and biology of Cd. Elsevier, Amsterdam.
- Weser, U. y Hüner, L. (1970) Cd^{2+} , Mn^{2+} , and Zn^{2+} induced synthesis of nuclear RNA in the livers of normal and adrenalectomized rats. *FEBS Lett.* 10, 169-174.
- Wraight, D.A., Meteyer, M.J. y Martin, F.D. (1985) Effect of Ca on Cd uptake and toxicity in larvae and juveniles of striped bass (Morone saxatilis). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 196-204.
- Zasukhina, G. Sinelschikova, T., Lvova, G. y Kirkova, Z. (1977) Molecular genetic effects of $CdCl_2$. *Mutat. Res.* 45, 169-174

TABLA I Entrada anual de cadmio al ambiente (tierra, agua y atmosfera), en los países de la Comunidad Económica Europea (Hutton, 1983).

	%
Generada por desechos-----	45.4
Quema de combustibles-----	12.8
Uso de fertilizantes fosfatados-----	12.6
Producción de hierro y acero-----	11.9
Elaboración de metales no ferrosos-----	11.1
Materiales que contienen cadmio-----	6.2

100% = 3220 ton/año

TABLA II FRECUENCIAS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS EN
Vicia faba INDUCIDOS POR CLORURO DE CADMIO

Concentración ppm	ICH/célula $\bar{X} \pm E. E.$	Valor de "t"
testigo	30 \pm 0.89	-
0.001	31.02 \pm 0.92	0.564 N.S.
0.010	35.76 \pm 1.13	2.851 N.S.
0.100	36.41 \pm 0.88	3.621 N.S.
0.500	36.81 \pm 1.55	2.791 N.S.

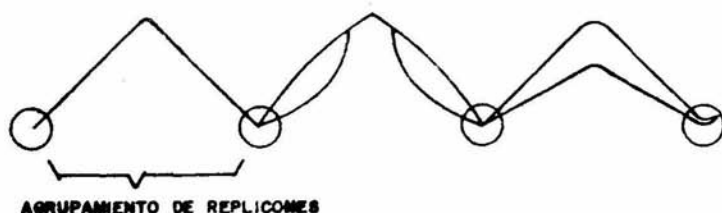
N.S. No significativo

TABLA III FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS EN
Vicia faba INDUCIDOS POR NITRATO DE CADMIO

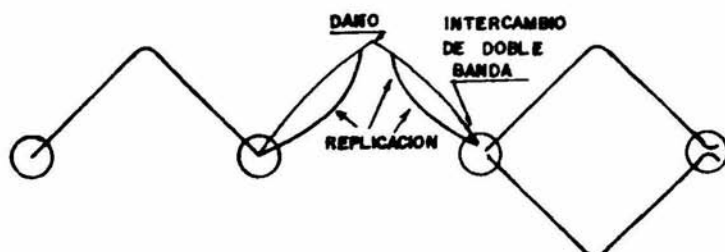
Concentración ppm	ICH/célula $\bar{X} \pm E.E.$	Valor de "t"
testigo	32.04 \pm 0.75	-
0.001	32.98 \pm 0.90	0.570 N.S.
0.010	53.63 \pm 2.04	7.738 *
0.100	73.02 \pm 1.85	13.158 *
0.500	daño celular	-

N.S. No significativo

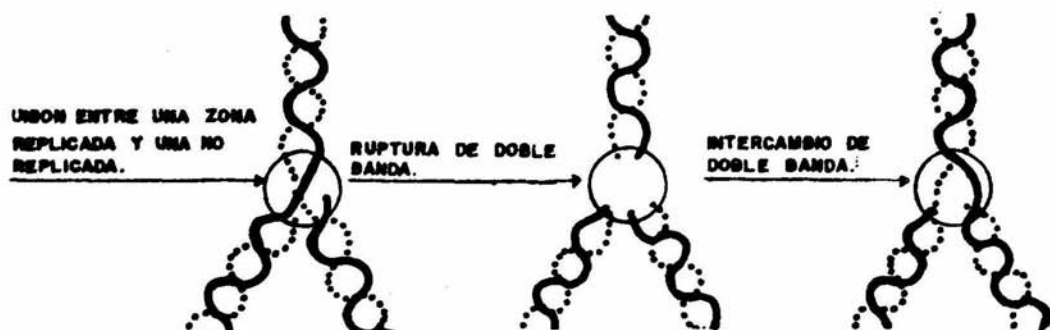
* $p < 0.001$



I - PROGRESION DE LA DUPLICACION DEL ADN ENTRE LOS AGRUPAMIENTOS DE REPLICONES (CIRCULOS) QUE SEPARAN REPLICONES ADYACENTES.



II - RETARDO EN LA REPLICACION DEBIDO A DAÑO E INCREMENTO DE LA POSIBILIDAD DE INTERCAMBIO DE BANDA DOBLE.



III - RUPTURA DE DOBLE BANDA Y REUNION DE LA BANDA HIJA DE LA MOLECULA REPLICADA A LA MOLECULA NO REPLICADA DANDO LUGAR AL INTERCAMBIO DE BANDA DOBLE.

FIG. I. MODELO DE PAINTER PARA LA INDUCCION DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS (ICH)

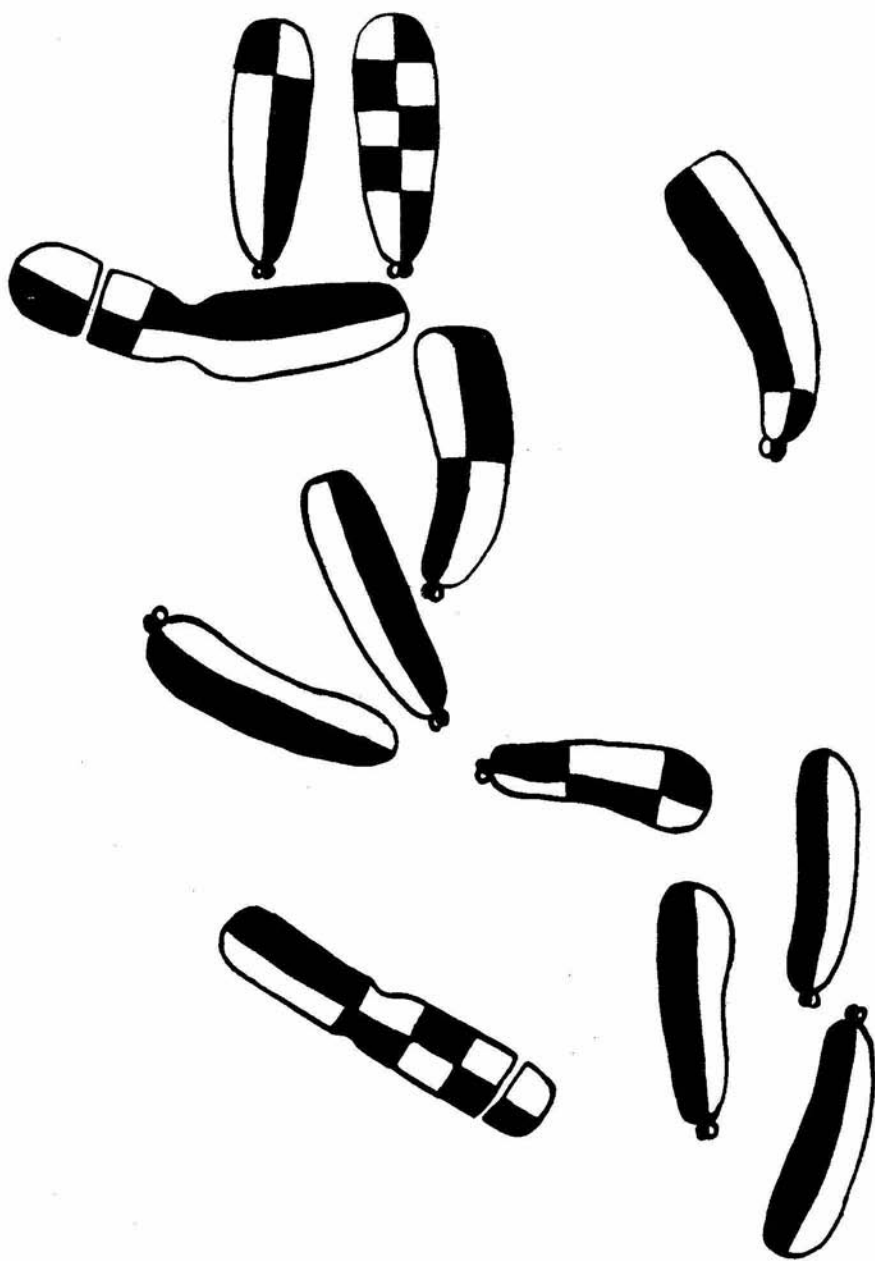
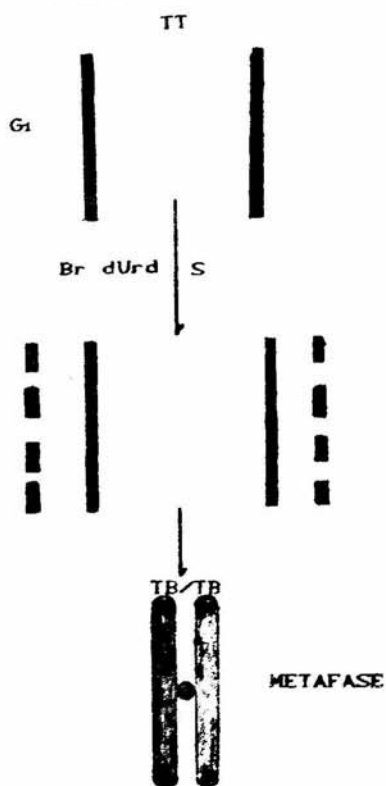


FIG. 2. ESQUEMA DE CROMOSOMAS CON TINCIÓN DIFERENCIAL
MOSTRANDO ICH

PRIMER CICLO DE REPLICACION



SEGUNDO CICLO DE REPLICACION

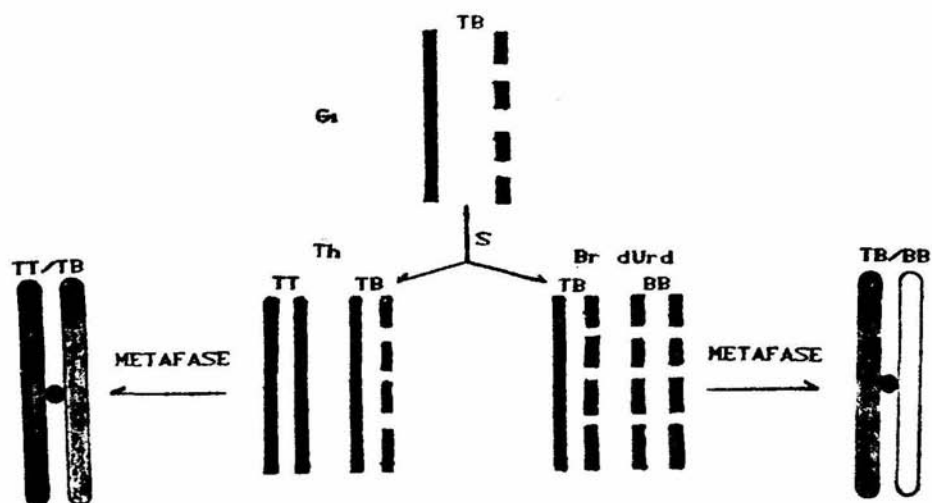


FIG. 3. INCORPORACION DE BrdUrd DURANTE
DOS CICLOS DE REPLICACION

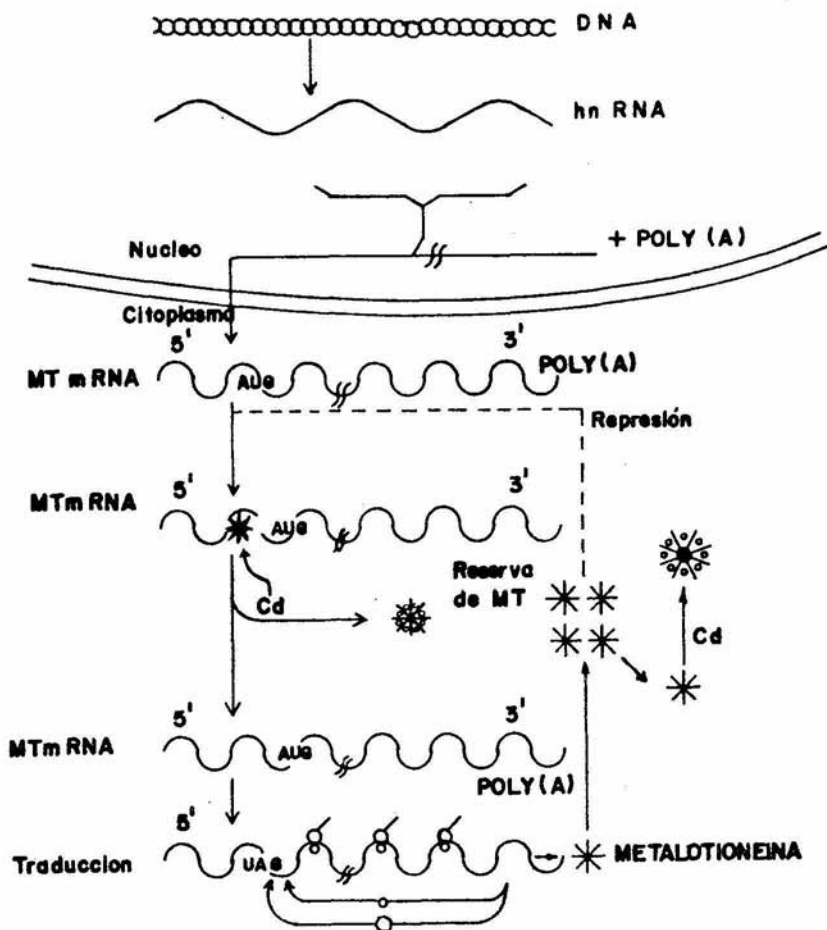
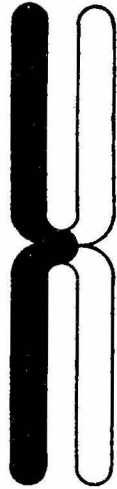
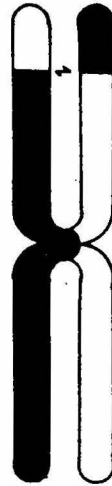


FIG. 4. MECANISMO DE SINTESIS DE LA METALOTIONEINA (MT)



CROMOSOMA CON
TINCION DIFERENCIAL
SIN ICH



ICH
SENCILLO



ICH
DOBLE

FIG. 5. ESQUEMA DE CROMOSOMAS MOSTRANDO INTERCAMBIOS
SENCILLOS Y DOBLES