



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Evaluación del efecto genotóxico de la raíz de
Ipomoea batatas en *Drosophila melanogaster*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A:

KAHORIK GONZALEZ FLORES

DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA RAMOS MORALES

2009





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.

1. Datos del alumno

González
Flores
Kahorik
5532950851
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
30003019-4

2. Datos del tutor

Dra.
Patricia
Ramos
Morales

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Rafael
Villalobos
Pietrini

4. Datos del sinodal 2

Dr.
René de Jesús
Cárdenas
Vázquez

5. Datos del sinodal 3

Dr.
José Armando
Muñoz
Moya

6. Datos del sinodal 4

M en C
Abigail
Aguilar
Contreras

7. Datos del trabajo escrito.

Evaluación del efecto genotóxico de la raíz de *Ipomoea batatas* en
Drosophila melanogaster.

62 p
2009

DEDICATORIA

A mi hijo:
Leo Alexandro Moreno González

Agosto 20 del 2007
Hoy la tierra y los cielos me sonríen
hoy llega al fondo de mi alma, el sol
hoy lo he visto...lo he visto y me ha mirado...
hoy creo en Dios.

Gustavo Adolfo Becquer

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, por todo su amor y apoyo incondicional a lo largo de mi vida.

A la Doctora Patricia Ramos Morales, por todo el apoyo durante la realización de este trabajo, por su paciencia, confianza y por creer en mi. Eres el ejemplo académico a seguir. Muchas gracias Paty.

Gracias a mis sinodales: Rafael Villalobos Pietrini, René de Jesús Cárdenas Vázquez, José Armando Muñoz Moya y Abigail Aguilar Contreras, por sus valiosas críticas y observaciones durante la revisión de esta tesis.

Gracias a los Biólogos Hugo Rivas y Blanca Hernández, por su amistad, por compartir sus conocimientos y ayuda profesional.

Gracias a la M. en C. Adriana Muñoz, por sus valiosos comentarios en mi trabajo.

A mis amigas: Linda, Claudia, Adriana, Elsa, Alma, Gabriela, Yaneli, Lety por cada momento compartido.

Este trabajo fue elaborado en el laboratorio de Genética y Toxicología ambiental de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

El material biológico fue donado por el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Gracias al PAPIME EN206803, UNAM por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCION	4
1.1 <i>Ipomoea batatas</i>	4
1.1.1 Clasificación sistemática del camote	5
1.1.2 Botánica y ecología	5
1.1.3 Química	6
1.1.4 Otros usos	6
1.1.5 Etnobotánica	6
1.1.6 Farmacología	7
1.2 Plantas utilizadas en el tratamiento del cáncer	10
1.3 Toxicología	11
1.3.1 Toxicología genética	13
1.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	14
1.4.1 Ciclo de vida de <i>Drosophila melanogaster</i>	15
1.5 La prueba de mutación somática y recombinación mitótica de <i>Drosophila melanogaster</i>	16
1.6 N-Nitrosodimetilamina (DMN)	17
2. JUSTIFICACION	18
3. OBJETIVOS	18
3.1 General	18
3.2 Particulares	18
4. HIPOTESIS	19
5. MATERIALES Y METODOS	20
5.1 Descripción de los marcadores genéticos involucrados	20
5.2 Sistema de cruce empleado	21
5.3 Obtención de larvas	22
5.4 Compuestos empleados	22
5.5 Preparación del agua de cocción de <i>I. batatas</i>	23
5.6 Protocolos	23
5.7 Elaboración de laminillas	25
6. RESULTADOS	29
6.1 Toxicidad	29
6.2 Genotoxicidad	42
7. DISCUSION	51
8. CONCLUSION	57
9. REFERENCIAS	58

RESUMEN

Las raíces y los tubérculos son fuentes importantes de alimentos ricos en energía cuyo uso ha sido incorporado a la alimentación humana y a la medicina tradicional. *Ipomoea batatas* es una planta perenne perteneciente a la familia de las Convolvuláceas. La raíz es usada como fuente de alimento, además de ser empleada como antimicrobiana y anticancerígena, entre otras supuestas propiedades medicinales. De *I. batatas* se han extraído diversos compuestos que presentan actividad genotóxica como las antocianinas y el 4-ipomeanol, efectivos para tratar ciertos tipos de cáncer. Otras especies del género *Ipomoea* han mostrado reducir el daño genotóxico. El objetivo de este trabajo es evaluar los efectos genotóxicos y antigenotóxicos de *I. batatas* en *Drosophila melanogaster* con la prueba de mutación somática y recombinación mitótica (SMART, por sus siglas en inglés). La raíz de *I. batatas* se hirvió durante tres minutos y se dejó reposar por un minuto; a partir de esta cocción se prepararon por diluciones sucesivas las diferentes concentraciones. Larvas de tercer estadio de las cruza silvestre y modificada para la SMART, se alimentaron durante 48 h con medio de cultivo para *Drosophila* suplementado con la solución de *I. batatas* o con agua destilada. Se diseñaron dos protocolos: uno con el fin de medir la genotoxicidad de *I. batatas* y el otro para evaluar el efecto antimutagénico, por lo que se trató previamente a las larvas con la N-Nitrosodimetilamina (DMN), un promutágeno de referencia. Al emerger los adultos éstos se cuantificaron y se obtuvo el Índice de sobrevivencia (IS), y la Proporción sexual (PSx). Se elaboraron laminillas con las alas de las moscas libres de inversión, producto de la crusa modificada y se registró el número, la distribución y el tipo de manchas mutantes en las moscas. La sobrevivencia y la proporción sexual no fueron afectadas en todas las concentraciones de ambos tratamientos. *I. batatas* no resultó genotóxica cuando se administró sola en *D. melanogaster*. En la evaluación del efecto genotóxico se obtuvo respuesta significativa ya que la frecuencia de manchas se incrementó en algunas concentraciones, predominando las manchas chicas. El número de manchas por mosca tendió a ser mayor en ciertas concentraciones, cuando está combinada con la actividad de la DMN. También se observó que al menos en una

concentración la *I. batatas* presentó actividad antígenotóxica. Es recomendable realizar estudios adicionales con *I. batatas* en *D. melanogaster*. Este organismo de prueba ha mostrado, por sus características biológicas, poseer cualidades destacables para evaluar los efectos de diversos compuestos químicos que presentan actividades tóxicas o genotóxicas, con el diseño variado de protocolos que son reproducibles y además con elevados tamaños de muestra.

1. INTRODUCCION

Las plantas constituyen un recurso importante en los programas de salud de los países en desarrollo. Aunque no se tienen datos precisos del número de plantas con uso medicinal, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1979) propone que más del 80 % de la población mundial utiliza de manera rudimentaria, la medicina tradicional para curar enfermedades de atención primaria y gran parte de los tratamientos implican el uso de extractos, infusiones o cocciones de plantas (Akerlele, 1993).

México es considerado una potencia en biodiversidad a nivel mundial y algunos grupos indígenas como los lacandones conservan el conocimiento tradicional de los recursos naturales para su aprovechamiento, con fines alimenticios, medicinales u ornamentales. Hoy día siembran y colectan varias especies entre las que destacan las del género *Ipomoea*. Este género pertenece a la familia de las Convolvulaceas: *I. batatas*, *I. alba*, *I. purpúrea*, *I. tuxtlensi*, *I. tyrianthyna*, *I. crinicalyx*, *I. calystegia*, *I. Jacquemontia*, e *I. cornea* entre otras (Brent, 2000; Anderson *et al.*, 2005; Levy *et al.*, 2006). La familia Convolvulácea comprende aproximadamente 1600 a 1700 especies agrupadas en 55 a 60 géneros (Guillot, 2006). El género *Ipomoea* está compuesto por aproximadamente 500 especies, ampliamente distribuidas en regiones templadas y tropicales, especialmente en Norte y Sudamérica (Cullen, 2000). En México se distribuyen en los estados de Chiapas, Estado de México, Hidalgo, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Yucatán y San Luis Potosí (Aguilar, 1982).

1.1 *Ipomoea batatas*

Comúnmente conocida como “camote, kumara, kumala o batata”. El nombre de camote proviene del Náhuatl (camohtli) palabra que según Rogers (1963) servía para nombrar a toda raíz alargada. Kumara proviene del quechua, mientras que kumala del polinesio (O'Brien, 1972) (Fig.1).

1.1.1 Clasificación sistemática del camote (Martínez, 1987):

REINO: Plantae

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Asteridae

ORDEN: Solanales

FAMILIA: Convolvulaceas

TRIBU: Ipomoea

GENERO: *Ipomoea*

SECCIÓN: Batatas

ESPECIE: *Ipomoea batatas* (L.) Lam.



Fig. 1 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/2009>

1.1.2 Botánica y ecología

Es una planta trepadora perenne, de tallos suculentos. Hojas variables desde cordadas hasta ovadas. Flores ausentes o frecuentes en algunas variedades. Tubérculos de tamaños variables, que pueden pesar hasta 3 kg, con pulpa tierna, carnosa y dotada de un perfume particular (Martínez, 1987).

Vavilov (1951) halló el origen del camote en la región comprendida entre el Sur de México (península de Yucatán), Guatemala, Honduras y Costa Rica. Por su parte, O'Brien (1972) consideró que el camote tiene su origen en algún lugar de Centro América o en el Noroeste de Sudamérica, alrededor de 3000 A.C., como parte del desarrollo de la agricultura de raíces del bosque tropical. Posiblemente se originó como un híbrido o a través de alteraciones de una planta desconocida del género *Ipomoea*. Austin (1987) propuso que la edad estimada por O'Brien y otros para el camote, por lo menos debe ser duplicada; es decir, que es mucho más antiguo. Yen (1974), ubicó al camote entre las primeras plantas domesticadas del mundo. Luego se difundió hacia los demás continentes, constituyendo en la actualidad un producto esencial en los países más pobres por ser económico y una fuente excelente en energía (Vargas, 1997; Reed, 1976).

1.1.3 Química

Las raíces están compuestas principalmente por almidón, fibras, proteínas, minerales y vitaminas. Las raíces tienen grandes cantidades de β -carotenos (promotor de la vitamina A), vitaminas como la C, B1, B2, B5, B6 y E. Otros constituyentes son los fenoles (flavonoides), quercetinas (antocianinas), polifenoles, ácidos fenólicos (ácido clorogénico, ácido cafeínico y ácidos tricafeoilquínicos), taninos, glucósidos, cardiotónicos, saponinas y sesquiterpenlactonas (Konczak-Islam *et al.*, 2003; Guan *et al.*, 2006).

1.1.4 Otros usos

Además de ser materia prima de alimentos suculentos en la población humana (dulces, harina, jarabe, colorantes y bebidas alcohólicas entre otras), también es alimento de varios animales como: bovinos y cerdos. De acuerdo con las estadísticas de la Food and Agriculture Organization (FAO) de las Naciones Unidas, se cultivan en el mundo aproximadamente 9 millones de hectáreas de siete variedades diferentes de batata. China cultivó en el 2005 el 83 % del total mundial; las Islas Salomón tienen la mayor producción per cápita del mundo, 160 kg por persona por año (Guan *et al.*, 2006).

En términos de producción total, *I. batatas* es el séptimo cultivo más importante del mundo, con 131.7 millones de toneladas (FAO, 1991) y el quinto en los países en desarrollo. Desde el punto de vista económico se ubica dentro de los cinco cultivos alimenticios con mayor valor (Larenas de la F *et al.*, 1994).

1.1.5 Etnobotánica

El tubérculo de *I. batatas* en general es considerado como alterativo, afrodisíaco, astringente, bactericida, emulgente, fungicida, laxante, tónico, para tratamientos de asma, quemaduras, catarro, diarrea, carencia de leche en las madres, erisipela, empacho, fiebre, náuseas, renoxis, esplenosis, diarrea, tumores y la inflamación flegmonosa de los dedos junto a la uña (Duke y Wain, 1981) (Tabla I).

La forma de prepararlo por lo general es hervir el camote en pedazos y la vía de administración puede ser tópica u oral dependiendo de la enfermedad que se padezca.

Tabla I. Forma y uso tradicional de *I. batatas*.

Enfermedad	Preparación	Vía de administración
Quemaduras	Cortar el camote en pedacitos y hervirlo en poca agua, se agregan 2 cucharadas de aceite de oliva.	Se empapa un lienzo y se coloca sobre la quemadura.
Erisipela	Cortar en pedacitos y hervirlo en poco agua.	Se empapa un lienzo y se coloca sobre la parte afectada.
Inflamación	Cortar en pedacitos y hervirlo en poca agua.	Se empapa un lienzo y se coloca sobre la parte afectada.
Dolor de estómago	Cocer la raíz del camote (palo Chili).	Beber el cocimiento.
Empacho	Partir en rodajas el camote de la raíz del bejuco llamado Michoacán, dorarlo en comal, molerlo y agregar agua tibia.	Tomar
Carencia de leche en las mujeres	Hervir los pedazos del camote en poca agua.	Beber el cocimiento.

Se tiene registro de que los mayas en México hervían los camotes y los amasaban para aplicarlos en mordeduras de serpiente (Anderson *et al.*, 2005). Otras partes usadas de *I. batatas* en los remedios populares son las hojas. La decocción de la hoja se utiliza para curar los tumores de la boca y de la garganta (Hartwell, 1967-1971).

1.1.6 Farmacología

Debido a sus contenidos químicos a *I. batatas* se le atribuyen actividades tóxicas, antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenos.

La toxicidad con *I. batatas* está relacionada con la contaminación fúngica que presenta el tubérculo durante el proceso de almacenamiento y transporte por especies del género *Fusarium* como *F. solani*. Desde los años 70 se relatan las intoxicaciones mortales en el ganado vacuno y en otros rumiantes, entre los 3 y 5 días posteriores a su ingesta, en los cuales se observan lesiones histopatológicas

en hígado, tumefacción celular y degeneración hidrópica de los hepatocitos periportales. También en pulmón, se observó la presencia de dilatación vascular y trombosis en la vena central (Zeinsteger *et al.*, 2003).

La ingestión en dosis bajas en humanos produce síntomas como disnea, anorexia y vómito (Aguilar, 1982; Figuera *et al.*, 2003). En Nueva Guinea, los reportes de intoxicación en humanos están relacionados con el 4-ipomeanol (4-IP) una fitoalexina que ejerce su acción tóxica en el pulmón como resultado de la infección del tubérculo con el hongo. Los efectos tóxicos de la administración intraperitoneal están en un rango de 10 y 60 mg/kg en especies animales como ratón, rata, cobayos y conejos; los cricetos son más tolerantes (150 mg/kg). La LD50 oral e intravenosa en ratones es de 38 y 21 mg/kg, respectivamente. La dosis no letal del 4-IP está entre 7.5 y 9 mg/kg del peso corporal en bovinos (Doster *et al.*, 1978).

El 4-IP es una nueva droga para el tratamiento de carcinoma pulmonar (Krauss, 2006). En líneas celulares de ratón se observó daño citotóxico, después de inyectar a 21 ratones con 30 mg/kg de 4-IP, en intervalos de 4, 12 y 24 h durante 7 días. Se observaron cambios degenerativos en las células Clara (inflamación, dilatación del retículo endoplásmico y pérdida de microvilli), también se reportó que la función mixta con el sistema oxidasa, localizada en las células bronquiales, es responsable de la biotransformación y de la remoción de los compuestos químicos ya que a los 7 días del tratamiento con 4-IP las células bronquiales que fueron administradas con la dosis menor en un tiempo prolongado, tenían una apariencia similar a las células testigo (Doster *et al.*, 1983).

Collins (2005), comparó la **actividad antioxidante** del extracto de la *I. batatas* con la de otros productos como tomate, kiwi, espinacas y mora azul, entre otros. Observó efectos de protección de la quercetina, un compuesto con actividad antioxidante que está presente en *I. batatas* y que reduce el daño provocado por el Fe^{3+} ó Fe^{2+} en el DNA de los linfocitos humanos tratados con diferentes concentraciones de quercetina (10, 25 y 50 μ M). El extracto de *I. batatas* mostró mayor capacidad antioxidante en concentraciones altas respecto a los otros frutos o vegetales. También para el extracto acuoso de *I. batatas*, rico en antocianinas y

β -carotenos, se midió la actividad antioxidante con la prueba 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), estos compuestos fenólicos a concentraciones de 0.5, 1.0, 5.0, y 7.5 mg reaccionaron rápidamente para detener la actividad de los radicales del trolox comparado con la reacción de la mora azul. Yoshimoto *et al.* (1999) y Philpott *et al.* (2004) también reportan esta actividad de las antocianinas comparándola con la de las vitaminas C y E en diversas frutas y vegetales.

En la cepa TA98 de *Salmonella typhimurium* aplicando el mutágeno 3-amino-1-methyl-5h-pyrido- [4,3-b] indole (Try-P-1) se examinó la **actividad antimutagénica** del extracto de *I. batatas* que es rico en antocianinas en concentraciones de 0.1, 0.5, y 1.0 mg/placa. El resultado fue que con la concentración mas alta se inhibe el 73 % de la mutación reversa de *S. typhimurium* de manera significativa (Halvorsen *et al.*, 2001).

La **actividad antiproliferativa** del extracto de *I. batatas* en concentraciones de 0.4, 0.8, 1.2 y 1.6 mg/mL, se evaluó al inhibir el desarrollo de las células HL-60 leucémicas promielocíticas. La inhibición de la proliferación inicia 24 h después de aplicado el tratamiento. Los **efectos anticáncer** de las antocianinas purificadas como el cianidin y delphinidin han resultado exitosos, ya que inducen apoptosis en las células leucémicas humanas (HL-60) y en células de carcinoma en colon (HCT-116) en las mismas concentraciones (Konczak-Islam *et al.*, 2003).

Ferguson *et al.* (2004) sugieren que una dieta rica en fibra con *I. batatas* puede cambiar los niveles de metilación en los genes que están involucrados en los receptores para estrógenos, los cambios en los niveles de la hormona estrogénica se asocian a la menopausia prematura. Lo anterior puede tener efectos directos sobre la expresión de los genes o indirectos como en la proliferación o inflamación celular. La ingesta diaria de 4 g de *I. batatas* por día durante el desayuno, la comida y la cena, durante 6 semanas en mujeres caucásicas con diabetes tipo 2, redujo los niveles de glucosa en la sangre, así como los niveles de colesterol (Ludvik *et al.*, 2002).

El cáncer es uno de los principales problemas de salud pública en el mundo y una de las enfermedades que están ligadas más fuertemente con el desarrollo humano. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, anualmente

fallecen más de 7 millones de personas a consecuencia de este mal que se estima que llegará a los 27 millones para el 2050. En México, durante 2006 murieron 4,451 mujeres, lo que implica un fallecimiento cada 2 h (Knaul, 2009).

Los tratamientos utilizados para combatir el cáncer son generalmente muy costosos y sólo el 60 % de los fármacos usados en quimioterapia son de origen natural. Un fármaco “ideal” debería matar las células del cáncer sin dañar las células normales (Cragg y Nexman., 1999).

1.2 Plantas utilizadas en el tratamiento del cáncer

Las plantas han tenido una larga historia en el uso para el tratamiento del cáncer, y juegan un papel muy importante en el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Se ha descrito que en la medicina tradicional de muchos países, más de 3 mil especies de plantas se utilizan con este propósito.

Algunos productos de origen natural mejor conocidos con actividad anticancerígena son los siguientes (Tabla II).

Tabla II. Productos comerciales anticancerígenos derivados de plantas

Planta	Componentes	Uso	Genotoxicidad
<i>Catharantus roseus</i>	Alcaloides de la vinca (vincristina y vinblastina)	Para tratar linfomas, leucemias y otros cánceres (Laza <i>et al.</i> , 2003).	Aneuploidógeno
<i>Podophyllum peltatum</i>	Podofilotoxina	Tratamiento de linfomas y cánceres bronquial y testicular (Laza <i>et al.</i> , 2003).	Aneuploidógeno
<i>Taxus brevifolia</i>	Taxol	Cánceres de ovario, de mama y de pulmón (Laza <i>et al.</i> , 2003).	Aneuploidógeno
<i>Camptotheca acuminata</i>	Camptotecina	Tratamiento de cánceres de ovario, de pulmón y de colon rectal (Laza <i>et al.</i> , 2003).	Aneuploidógeno
<i>Ipomoea orizabensis</i>	Metil-pentosas, ácido jalapínico, éster metílico, sitosterol y heterópsidos de fitosterol.	Inhibe el crecimiento del sarcoma 37 (Bilkin <i>et al.</i> , 1952).	Tienen actividad protectora contra la actividad mutagénica del DMN (Muñoz. 1998).
<i>Ipomoea batatas</i>	Alcaloides, flavonoides, taninas, glicósidos, cardiotónicos, saponimicos, sesquiterpenlactonas vitamina C, polifenoles y antocianinas	El 4-Ipomeanol, metabolito secundario se usa para el tratamiento de cáncer bronquialveolar y colón rectal (Krauss <i>et al.</i> , 2006)	?

1.3 Toxicología

La toxicología es el estudio de la interacción nociva de las sustancias y compuestos químicos y los sistemas biológicos. Todos los seres vivos estamos expuestos a una gran cantidad de sustancias. Sólo en Estados Unidos de America se producen entre 500 y 1000 nuevos compuestos químicos al año, varios de ellos con potencial tóxico (Timbrell, 2002).

Un tóxico es cualquier sustancia capaz de producir una respuesta nociva en un sistema biológico. Los efectos tóxicos se producen cuando las alteraciones desencadenadas por la sustancia superan la capacidad de respuesta del organismo. Para que una sustancia provoque efectos tóxicos sobre un biosistema es necesario que dicha sustancia o sus metabolitos alcancen, en el lugar apropiado del cuerpo y durante un tiempo adecuado, una concentración suficiente para producir una manifestación tóxica. La respuesta tóxica dependerá de las características químicas y físicas de la sustancia, del lugar de exposición, de la metabolización del agente por parte del sistema y de la sensibilidad del propio biosistema o individuo. La biotransformación de estos compuestos tóxicos en los mamíferos se da en diversos órganos y tejidos como en hígado, riñón, pulmón e intestino, entre otros (Klaassen y Wltkins, 2005) (Fig. 2). En los insectos se sabe que los cuerpos grasos participan de manera importante en la biotransformación de los compuestos químicos.

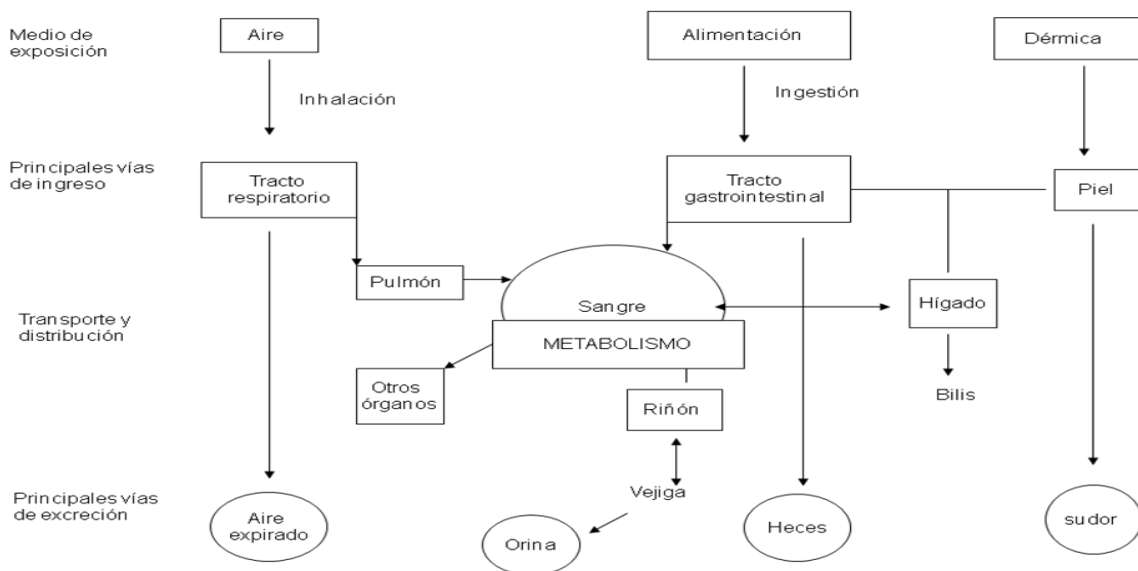


Fig. 2. Rutas de exposición y excreción de sustancias en el hombre (Modificado de Klaassen y Wltkins 2005).

El índice de sobrevivencia (IS) y la proporción sexual (PSx) son indicadores para evaluar la respuesta tóxica de los compuestos químicos. Se sabe que en la naturaleza existe un equilibrio en la proporción sexual de hembras y machos (aproximadamente, 50/50 %). Pero cuando es afectado un sexo más que el otro se pone en riesgo la sobrevivencia de la población. Ramos (1994) reportó que el arsenato de sodio a más de 100 ppm resultó ser más tóxico para los machos de *D. melanogaster*.

1.3.1 Toxicología genética

La toxicología genética empezó como una investigación básica para demostrar que las radiaciones ionizantes y las sustancias podían provocar mutaciones y alteraciones cromosómicas en plantas, insectos y células de los mamíferos (Klaassen y Witkins, 2005). La toxicología genética es el estudio de la forma en que agentes químicos o físicos afectan al material genético y a su expresión. Esta ciencia tiene como objetivo estudiar las mutaciones inducidas por agentes físicos, químicos y biológicos, identificar estos agentes, analizar sus interacciones y mecanismos de acción (Rizki *et al.*, 2001). Entre los métodos usados existe una gama amplia dependiendo de los objetivos que se deseen alcanzar. Los compuestos químicos exhiben su actividad al interactuar y producir alteraciones genéticas como mutaciones y aberraciones cromosómicas (Fig. 3). El cambio puede derivar en un proceso canceroso en el DNA si ocurre en células somáticas (De Flora y Ramel, 1988). Las pruebas de toxicología genética identifican compuestos químicos con actividad mutagénica, con el fin de detectar el peligro y caracterizar las relaciones dosis-respuesta y sus mecanismos de acción.

Actualmente se tienen reportes experimentales suficientes que muestran que el daño genético produce mutaciones. Además, el proceso cancerígeno se inicia y se favorece por la presencia de mutaciones en los oncogenes, los genes supresores de tumores y los que codifican para los sistemas de reparación del ADN (Bonassi y Au, 2002)

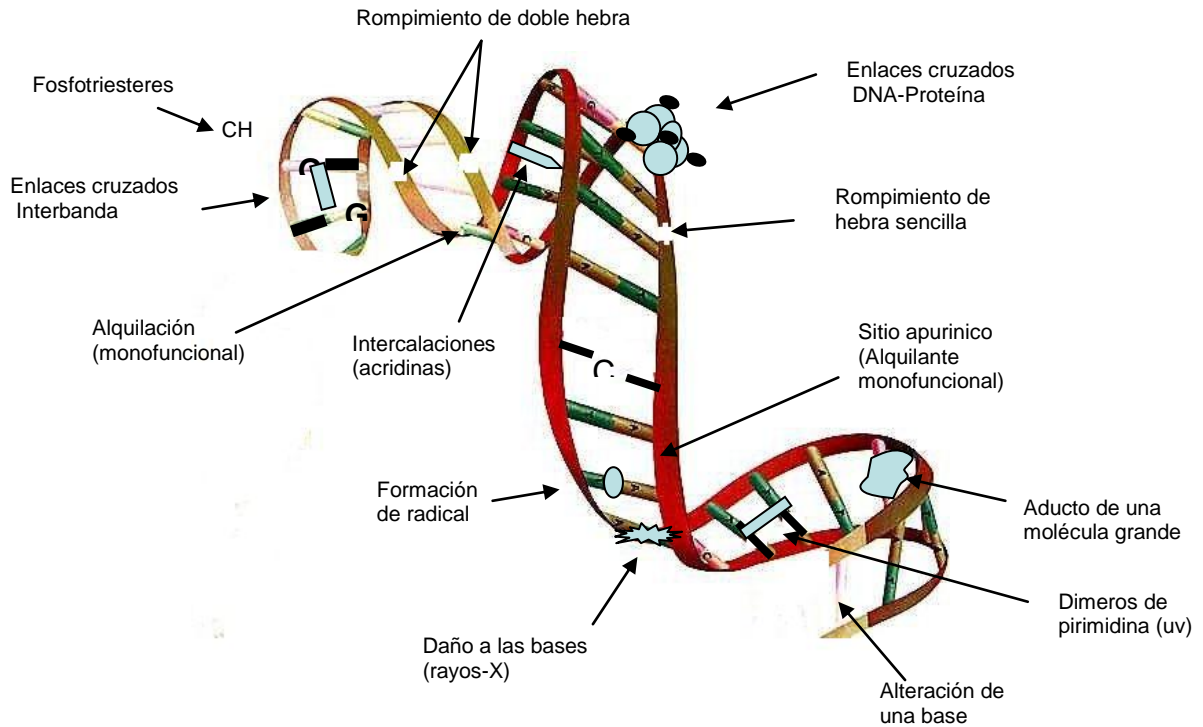


Fig. 3. Tipos de daño genético que pueden generarse en el DNA por interacción con agentes físicos y químicos (Modificado de Vogel, 1992)

1.4 *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster tiene diversas ventajas ya que es un organismo modelo de prueba eucariótico *in vivo*, que requiere de poco espacio para su cultivo, es económico y de fácil manejo. Es un organismo holometábolo en el que sus fases durante su ciclo de vida son muy evidentes y de corta duración. Es posible realizar experimentos con variados diseños en protocolos que permiten evaluar compuestos con actividad genotóxica (Ramel y Magnusson, 1992)

D. melanogaster cuenta con complejos enzimáticos de desintoxicación que se expresan en mayor proporción durante el tercer estadio larval y en el adulto. Estas enzimas son similares a las encontradas en la fracción S-9 del hígado de mamíferos (Clark, 1982).

1.4.1 Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*

La duración del ciclo de vida completo es de 10 a 12 días en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, 25 °C y 60 %, respectivamente (Fig. 4).

Después de que la hembra oviposita inicia el ciclo de vida. Después de 24 h eclosiona del huevo una larva pequeña, que presenta tres estadios. La larva muestra dos linajes celulares con funciones diferentes. Las células larvarias se encargan del desarrollo del cuerpo de la larva, se caracterizan porque han perdido la capacidad de división aumentando sólo en volumen. Las otras son las células imagales, localizadas en estructuras llamadas sacos imagales, que están determinados genéticamente, pero se diferencian hasta que la larva entra en metamorfosis, durante la cual darán origen a las diferentes estructuras del organismo adulto como son antenas, alas, patas y ojos, entre otras (Russell, 1998) (Fig. 5).

Posteriormente se forma el pupario a partir de la cutícula de la última muda larval, la cual se torna oscura y se endurece. La metamorfosis es el estadio más largo y en él ocurren cambios importantes desencadenados por la hormona ecdisona responsable de la destrucción de ciertos tejidos y órganos larvarios (glándulas salivales, cuerpos grasos, etc.). También en él se organizan las diferentes estructuras del adulto a partir de los discos imagales.

Finalmente del pupario emerge el imago que carece de pigmentación, es alargado y tiene las alas plegadas. Conforme pasan las horas el imago adquiere las características del adulto, evidenciándose el dimorfismo sexual en los organismos (Ramos *et al.*, 1993).

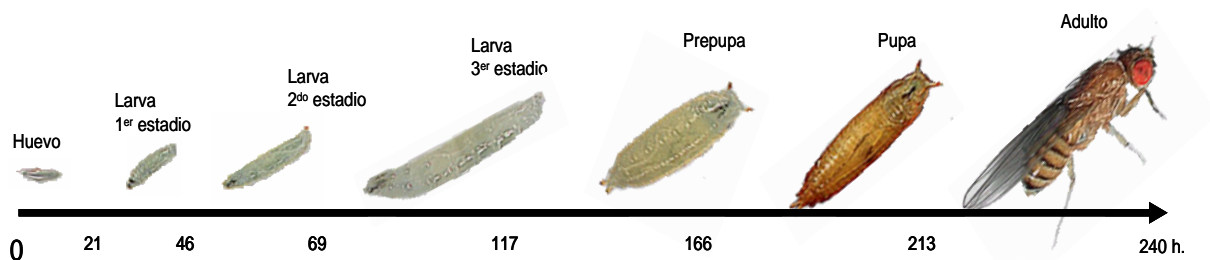


Fig. 4. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* (Ramos *et al.*, 1993).

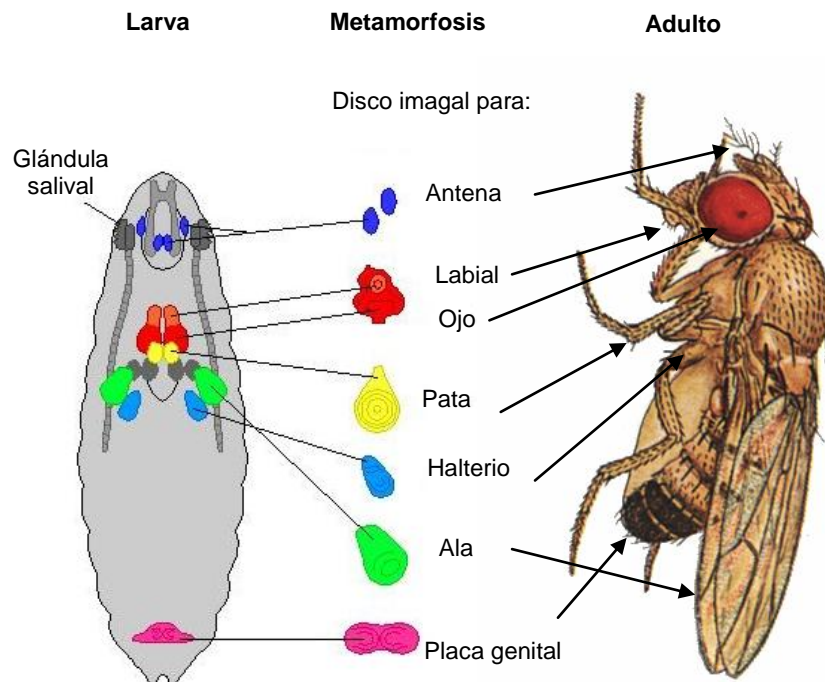


Fig. 5. Estructuras del adulto de *Drosophila melanogaster* originadas por los discos imagales (Modificado de Gilbert, 2003).

1.5 La Prueba de mutación somática y recombinación mitótica en *Drosophila melanogaster* (Somatic Mutation and Recombination Test, SMART)

Es una metodología que detecta la actividad mutagénica y recombinogénica de diversos compuestos químicos a partir de marcadores fenotípicos localizados en las células de las alas de *D. melanogaster* (Graf *et al.*, 1984).

Detecta un amplio espectro de eventos genéticos como mutaciones puntuales, deleciones, ciertos tipos de aberraciones cromosómicas, así como eventos de recombinación y conversión de genes. Por lo tanto en cada experimento es posible cuantificar la actividad recombinogénica contra la mutagénica (Frei *et al.*, 1995). Los cambios que se generan en la información genética de las células por actividad recombinogénica asociada con reparación en el DNA pueden asociarse con los procesos de iniciación de cáncer, que son evaluados con un tamaño de muestra amplio y en una sola generación (Ramos, 1994).

En la SMART las larvas son tratadas con el compuesto y la inducción de la pérdida de heterocigosis de los marcadores de los grupos celulares blanco puede conducir a la formación de un clon de células mutantes, que después de la metamorfosis se harán evidentes como manchas en las alas. El tipo y el tamaño de mancha que se exprese serán debidos a la proliferación mitótica de las células durante el desarrollo larvario y su posterior diferenciación en los tricomas en las alas de la mosca. Además la SMART ofrece una gran variedad y flexibilidad en el diseño y aplicación de protocolos para probar los compuestos con actividad genotóxica y antigenotóxica. Con esta metodología se han analizado más de 400 agentes químicos y mezclas complejas con actividad genotóxica (Spano y Graf, 1998).

1.6 N-Nitrosodimetilamina (DMN)

La N-Nitrosodimetilamina (DMN), N-metil-N-nitrosometamina ó Dimetilnitrosamina, es un líquido amarillo, su peso molecular es de 74.08 g, densidad de 1.0048, miscible en agua, soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos, volátil, su fórmula química es $(CH_3)_2NNO$ (Aldrich, 2006). Se encuentra en pequeñas cantidades de manera natural en el ambiente pero también se genera durante los procesos de manufactura de alimentos ahumados (carne y pescado) ó quesos. Es un compuesto que pertenece a la familia de las nitrosaminas, las cuales han sido reportadas con actividad genotóxica ya que son precursoras para la formación de radicales libres que se adhieren a la molécula del ADN provocando cambios en la configuración y secuencia de la información genética (Vogel, 1987, 1991). La DMN es un promutágeno de referencia, es de acción indirecta y actúa como agente alquilante monofuncional. Ha mostrado inducir todos los tipos de manchas en la SMART (Delgado, 1990; Ordaz, 1998). Para evaluar el efecto genotóxico de algunas plantas se ha empleado la DMN a la concentración de 10 mM, como control positivo.

2. JUSTIFICACION

Dado que ya se conocen las diversas actividades de *I. batatas* con otros sistemas de prueba es importante determinar si la SMART, como una metodología que discrimina la actividad genotóxica y antigenotóxica de diversas sustancias, logra identificar el potencial tóxico, genotóxico y/o antigenotóxico que se ha asociado con la raíz.

3. OBJETIVOS

3.1 General: Evaluar el potencial genotóxico de *I. batatas* empleando la prueba de mutación somática y recombinación mitótica de las células de las alas en *D. melanogaster*.

3.2 Particulares

- a) Analizar el efecto tóxico de las diferentes concentraciones de *I. batatas* mediante el índice de sobrevivencia (IS) y la proporción sexual (PSx) de *D. melanogaster*.
- b) Medir el potencial genotóxico de *I. batatas* empleando la prueba SMART-ala en *D. melanogaster*.
- c) Determinar el efecto antimutagénico de *I. batatas* en células somáticas de las alas de *D. melanogaster* tratadas con un promutágeno de referencia (DMN).

4. HIPOTESIS

Se espera que *I. batatas* presente un efecto tóxico y genotóxico en *D. melanogaster*. La figura 6 muestra los posibles resultados de *I. batatas*.

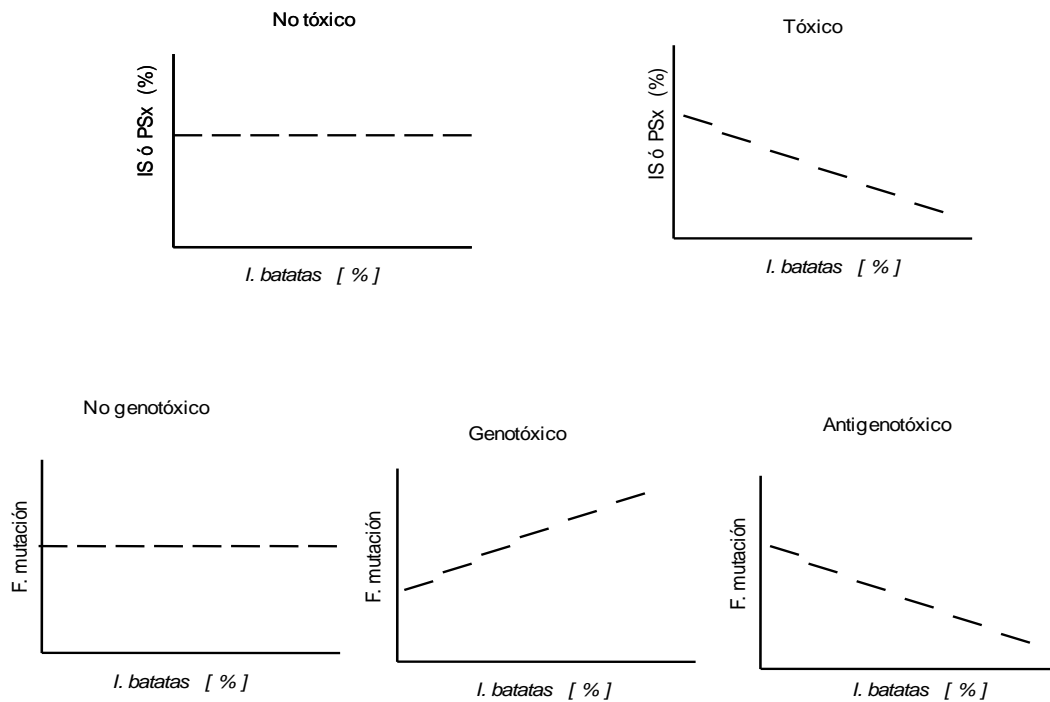


Fig. 6. Tendencia que se espera observar en los resultados con *I. batatas*

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción de los marcadores genéticos involucrados

El marcador autosómico recesivo *mwh* (“*multiple wing hair*”), está localizado en el cromosoma 3 a 0.0 um y modifica la apariencia silvestre del tricoma del ala en la mosca dando una apariencia fenotípica de tricomas múltiples (más de 2) por célula (Lindsley y Grell, 1968).

flr³ (“flare”) localizado en el cromosoma 3 a 38.8 um, es un marcador codificado por un gen autosómico recesivo, el cual es letal en condición homocigótica pero viable en mosaicos somáticos. El marcador *flr³* se expresa en el tricoma del ala de la mosca en forma de flama. Para su mantenimiento se emplea un cromosoma balanceador (Lindsley y Zimm, 1992).

El cromosoma balanceador *In (3LR) TM3, ri p^o sep 1 (3) 89Aa bx^{34e} e Bd^s* (*TM3, e Bd^s*) porta inversiones múltiples que impiden la recuperación de eventos viables de recombinación, lo que evita que se segregue *flr³* y se pierda. *Bd^s* (“Beaded-Serrate”) es un gen marcador del cromosoma balanceador, letal en condición homocigótica. Este marcador se manifiesta en forma de muesca en los bordes terminales de las alas en las moscas por lo que es fácilmente distinguible (Lindsley y Zimm, 1992).

Cuadro I. Sistema de cruce para la conservación de los marcadores genéticos.

Progenitores	<i>flr³</i>	<i>TM3, eBd^s</i>
<i>flr³</i>	<i>flr³/flr³</i> letal	<i>flr³/TM3, Bd^s</i> sobreviven
<i>TM3, e Bd^s</i>	<i>TM3, e Bd^s/flr³</i> sobreviven	<i>TM3, eBd^s/TM3, e Bd^s</i> letal

e (“**ebony**”), se localiza en el cromosoma 3 a 70.7 um., en lugar de expresar el color del cuerpo silvestre lo hace para el color oscuro ó ebano (Lindsley y Zimm, 1992).

Sólo los organismos heterocigóticos tanto para flr^3 como Bd^e son recuperados en la cruce, e resulta ser homocigótico para el color del cuerpo en las moscas que portan el cromosoma balanceador, por lo que mejora su clasificación fenotípica.

5.2 Sistema de cruce empleado.

Para realizar la cruce modificada con respecto a la propuesta por Graf (**CM**) se emplearon dos líneas de *Drosophila melanogaster* con marcadores genéticos: la línea de hembras $flr^3/In(3LR)TM3,ri\ p^p\ sep\ 1(3)89Aa\ bx^{34e}\ e\ Bd^e$ y de machos $mwh\ e/mwh\ e$, se introdujo el marcador ébano en la línea de la que se obtienen los machos. Esta cruce produce dos tipos de prole: moscas libres de inversiones con fenotipo silvestre cuando son adultos ($+flr^3/mwhe$) y moscas portadoras de inversiones que poseen el cromosoma balanceador ($TM3, eBd^e$), los adultos muestran muescas en el borde terminal de las alas y cuerpo de color ébano ($TM3, eBd^e/mwh\ e$).

Los dos tipos de prole no se distinguen cuando son larvas, por lo que ambos son tratados de la misma manera (Graf *et al.*, 1984; Muñoz, 1997) (Cuadro II y Fig. 7).

Cuadro II. Origen de las moscas libres de inversión ($flr^3/mwh, e$) y portadoras de inversión ($TM3, eBd^e / mwh, e$).

Cruce Modificada	
Progenitores	mwh, e
flr^3	$flr^3 / mwh, e$ Libres de inversión (LI)
$TM3, eBd^e$	$TM3, eBd^e / mwh, e$ Portadoras de inversión (PI)

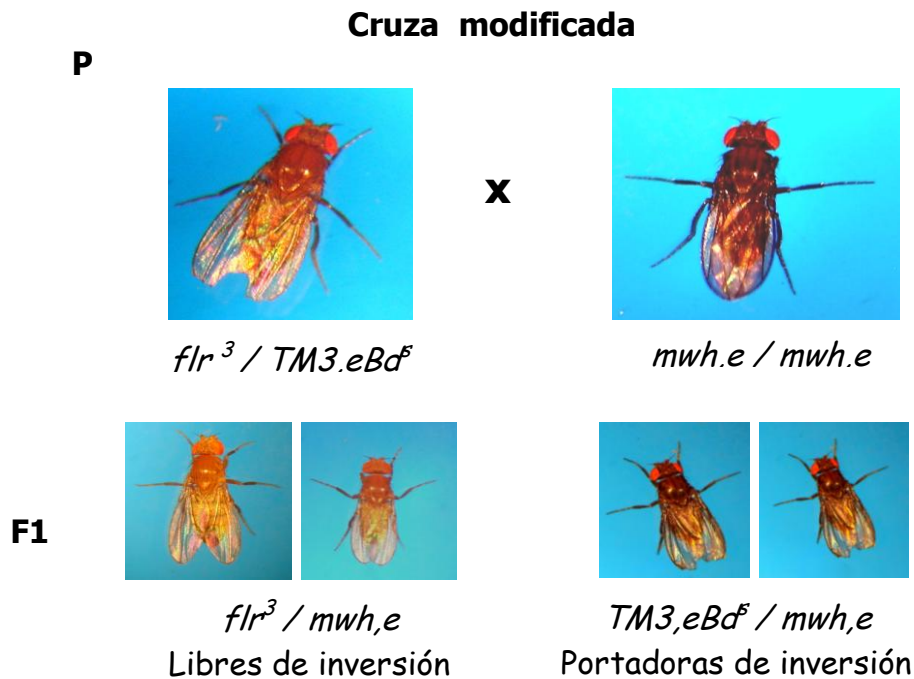


Fig. 7 Origen de las moscas libres de inversión (*flr³/mwh, e*) y portadoras de inversión (*TM3,eBd⁵ / mwh, e*).

5.3 Obtención de larvas

Se utilizó la cepa silvestre *Canton-s* ([*Canton-Special*; Lindsley, 1968]), de *D. melanogaster* como testigo, ya que no tiene marcadores genéticos respecto a las moscas de la **cruza modificada** (CM). Las cruza maduras se transfirieron a medio fresco por un periodo de 8 h para ovipositar y obtener larvas de edad similar. 72 h después se extrajeron las larvas de tercer estadio (Clark, 1982), mediante el método descrito por Nöthinger (1970) según el cual por diferencia en la densidad, las larvas flotan y son recuperadas.

5.4 Compuestos empleados.

Celulosa microcristalina de Merck [CAS 9004-34-6] (Aldrich, 2006); Sacarosa de Baker [CAS 57-50-1] (Aldrich, 2006); *I. batatas* fue adquirida en el mercado de la Merced de la ciudad de México. N- Nitrosodimetilamina (DMN) [CAS 62-75-9]

(Aldrich, 2006); La concentración utilizada en el presente estudio (5 mM) se seleccionó con base en su potencial mutagénico y recombinogénico en *D. melanogaster* (Muñoz, 1998; Martínez, 1999).

5.5 Preparación del agua de cocción de *I. batatas*.

Se preparó la cocción de la raíz fresca de *I. batatas* (20 g en 50 mL), la cual se dejó hervir durante 3 minutos y se dio un minuto de reposo. De esta mezcla se prepararon las diferentes concentraciones a probar por diluciones sucesivas [100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.79, 0.39, 0.19, 0.098]. Como disolvente y testigo negativo se empleó agua destilada.

5.6 Protocolos (Fig. 8).

I. Evaluación de la actividad mutagénica de *I. batatas*.

Larvas de tercer estadio silvestres y de la CM, se transfirieron a tubos homeopáticos que contenían 1 g de medio instantáneo Carolina (Biological Supply) y 4.5 mL de las concentraciones a probar. Para cada concentración se usaron dos tubos, denominados como serie 1 y serie 2. Las larvas permanecieron en estos tubos suplementados hasta completar su desarrollo. La exposición final fue de 72 x 48 h.

II. Evaluación del efecto antimutagénico de *I. batatas*.

Larvas de tercer estadio silvestres y de la CM, se colocaron en tubos homeopáticos con capacidad de 10 mL los cuales estaban abiertos por ambos extremos. En el extremo inferior tenían una gasa de nylon y en la parte superior un tapón de hule para evitar que se salieran las larvas. Éste se introdujo en un vaso de plástico de 10 mL, que contenía 200 mg de celulosa microcristalina de Merck en polvo, hidratada con 2 mL del promutágeno positivo DMN [5 mM] ó con 2 mL de disolvente por un periodo de 6 h. Transcurrido dicho periodo, las larvas se enjuagaron gentilmente con agua corriente y se transfirieron a tubos homeopáticos, serie 1 y serie 2, que contenían medio de cultivo, hidratado

previamente con 4.5 mL de las diferentes concentraciones de *I. batatas*. Se dejó que las larvas terminaran su desarrollo, para una exposición total de 72 x 6 x 48 h. Los adultos recuperados fueron sacrificados con sobredosis de éter y fijados en alcohol al 70 %.

Para cada serie se obtuvo el Índice de Supervivencia de los tres tipos de moscas recobradas: Silvestres, Libres de inversión (*flr³ / mwh*, e) y portadoras de inversión (*TM3,eBds / mwh*, e). Se promedió el IS de cada serie para obtenerlo por experimento el cual a su vez se promedió con el de la repetición y se obtuvo el error estándar (Arellano, 2002).

$$\sum_{(i=1)} \text{Experimental} / \sum_{(i=1)} \text{Testigo} = \text{IS}_{(i)}$$

También se calculó la Proporción Sexual promedio de los machos para los tres tipos de moscas recobradas. La PSx se obtiene a partir de los machos recobrados por concentración entre la suma total de ambos sexos. Se promedió la PSx de cada serie y la de las repeticiones (Arellano, 2002).

$$\sum_{(i=1)} \text{Experimental (machos)} / \sum_{(i=1)} (\text{machos} + \text{hembras}) = \text{PSx}_{(i)}$$

Para evaluar si existía alguna diferencia significativa respecto a los IS y PSx, tanto en las concentraciones como entre las cepas, se realizó el Análisis de Varianza de dos vías (ANOVA) y posteriormente la prueba de comparación múltiple de Bonferroni (Weimer, 2005) cuando se encontraron diferencias significativas.

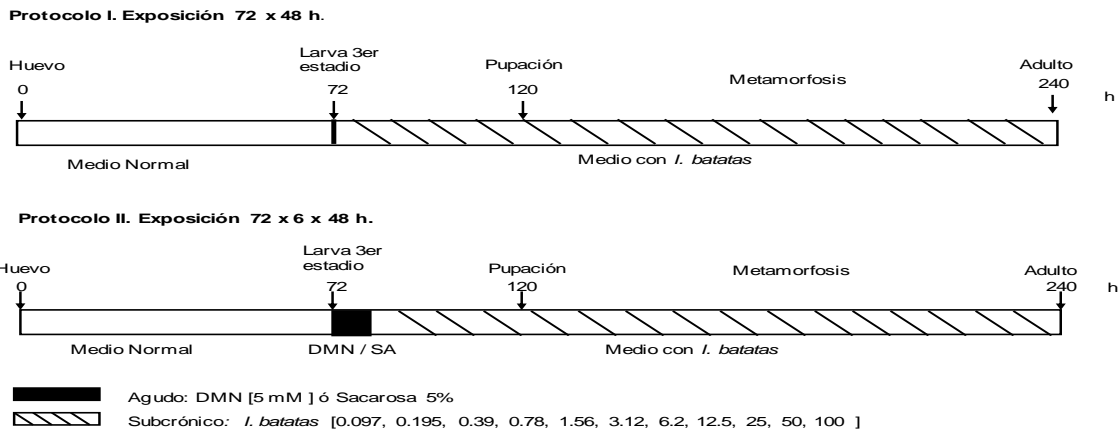


Fig. 8. Diseño de los protocolos empleados.

5.7 Elaboración de las laminillas.

Con unas pinzas de relojero se disectaron las alas de las moscas libres de inversión (LI) y se montaron por pares, 20 alas de hembras y 20 alas de machos por laminilla, sobre un portaobjetos en solución de Fauré (Graf *et al.*, 1984).

El registro de las manchas en las alas se realizó con ayuda de un microscopio óptico a 400X se registró cada mancha de acuerdo con el tipo, el tamaño y la sección correspondiente del ala de la mosca (Graf *et al.*, 1984) (Fig. 9).

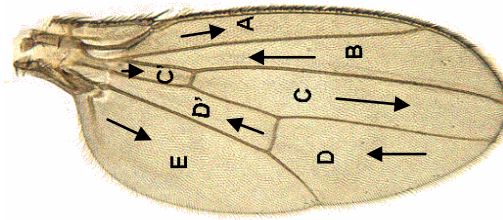


Fig. 9. Secciones del ala de *D. melanogaster* para el marco de lectura en la prueba de mutación somática y recombinación mitótica.

Las manchas fueron clasificadas fenotípicamente como manchas simples (*mwh* ó *flr³*) y gemelas cuando se expresan ambos marcadores (*mwh* y *flr³*). Una mancha simple se produce por mutación puntual, delección, recombinación y no disyunción, las gemelas únicamente por recombinación entre el marcador *flr³* y el centrómero (Fig. 10). Por su tamaño las manchas pueden ser chicas (de 1 a 2 células) y ó grandes (más de 2 células). Se considera que 2 manchas son independientes cuando se separan por 3 líneas de tricomas silvestres. El tamaño de la mancha indica de manera indirecta el número de divisiones celulares y el tiempo de desarrollo transcurrido una vez que ocurre la alteración en la célula (Fig. 11).

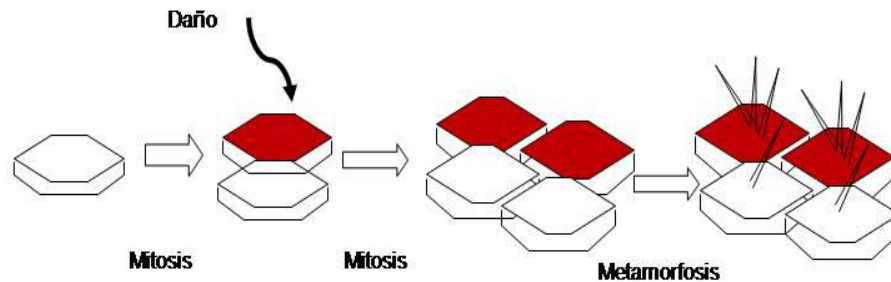
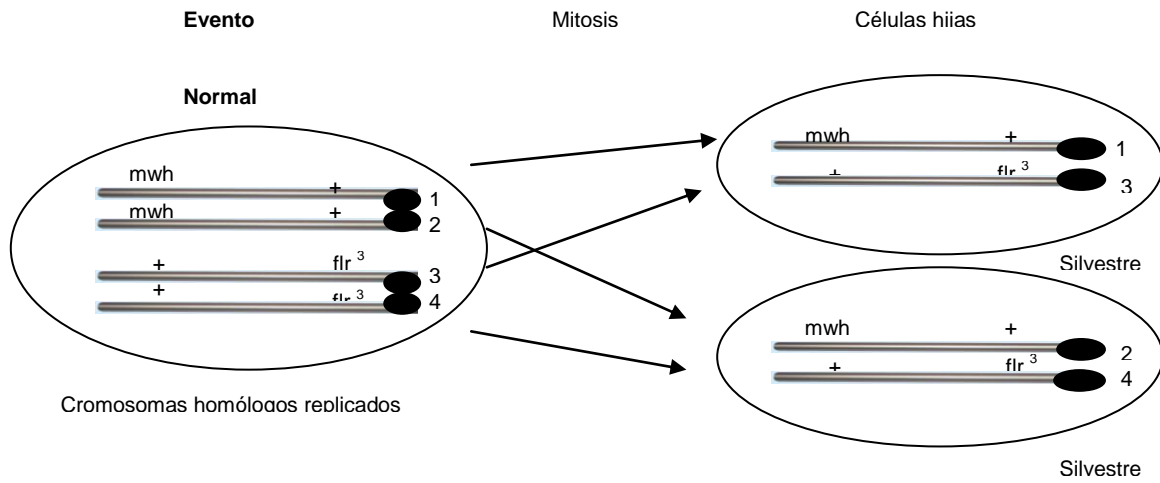
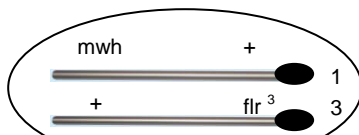


Fig. 10. Formación de clones celulares alterados durante el desarrollo del ala en *Drosophila melanogaster*, mediante división mitótica (Graf, et al., 1984).

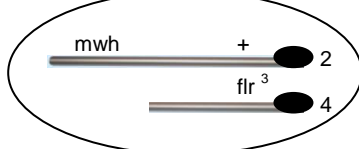


Perdida de heterocigosis en las células hijas

Delección

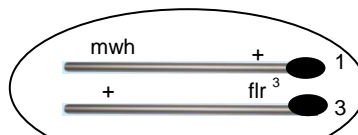


Silvestre

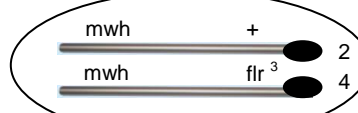


Mancha sencilla (mwh)

Mutación puntual

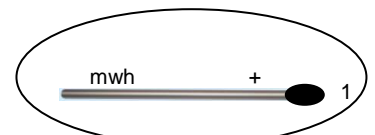


Silvestre

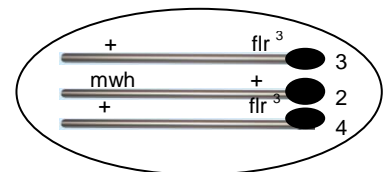


Mancha sencilla (mwh)

No disyunción

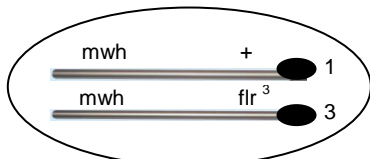


Mancha sencilla (mwh)

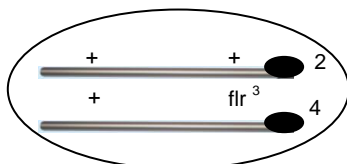


Mancha sencilla (mwh)

Recombinación entre mwh y flr³



Mancha sencilla (mwh)



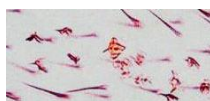
Fenotipo



Silvestre

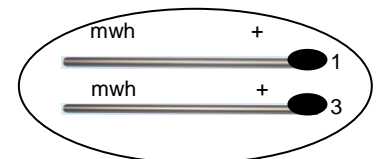


mwh



flr³

Recombinación entre flr³ y el centrómero



Mancha gemela (mwh y flr)

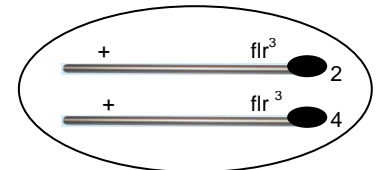


Fig. 10. Eventos genéticos detectables por la SMART (Modificado de Graf *et al.*, 1984).

Los datos obtenidos a partir del registro de las alas, se analizaron mediante el programa de cómputo SMART (Würgler, comunicación). El análisis se realiza por medio de una X^2 que compara las frecuencias de manchas obtenidas en las series experimentales con respecto a la serie testigo (Graf *et al.*, 1984). Se confrontan dos hipótesis para determinar si el compuesto presenta actividad genotóxica.

La hipótesis nula ó H_0 establece que no hay diferencias entre la frecuencia de mutación de las serie testigo (basal, “ $m=2$ ” para manchas simples, chicas y totales) y las tratadas. Mientras que la hipótesis alternativa ó H_a estipula que la frecuencia de mutación de las series tratadas resulta en un incremento (“ $m=2$ ” ó “ $m=5$ ”) con respecto a la basal.

El análisis permite decidir si el resultado es positivo cuando se quintuplica la frecuencia basal (“ $m=5$ ” para manchas grandes y gemelas): si se rechaza la H_0 y no se rechaza la H_a ; negativo, si no se rechaza H_0 y se rechaza H_a ; débil positivo, si se rechazan ambas hipótesis; indeterminado, si no se rechazan ambas (Frei y Würgler, 1988) (Tabla III).

Tabla III. Resultados posibles en la SMART, H_0 = Hipótesis nula, H_a = Hipótesis alternativa.

Hipótesis	No se rechaza H_a	Se rechaza H_a
No se rechaza H_0	Indeterminado (i)	Negativo (-)
Se rechaza H_0	Positivo (+)	Débil positivo (w)

6. RESULTADOS

6.1 Toxicidad

Los siguientes resultados muestran el efecto tóxico de *I. batatas* evaluado con la sobrevivencia y la proporción sexual en *D. melanogaster*.

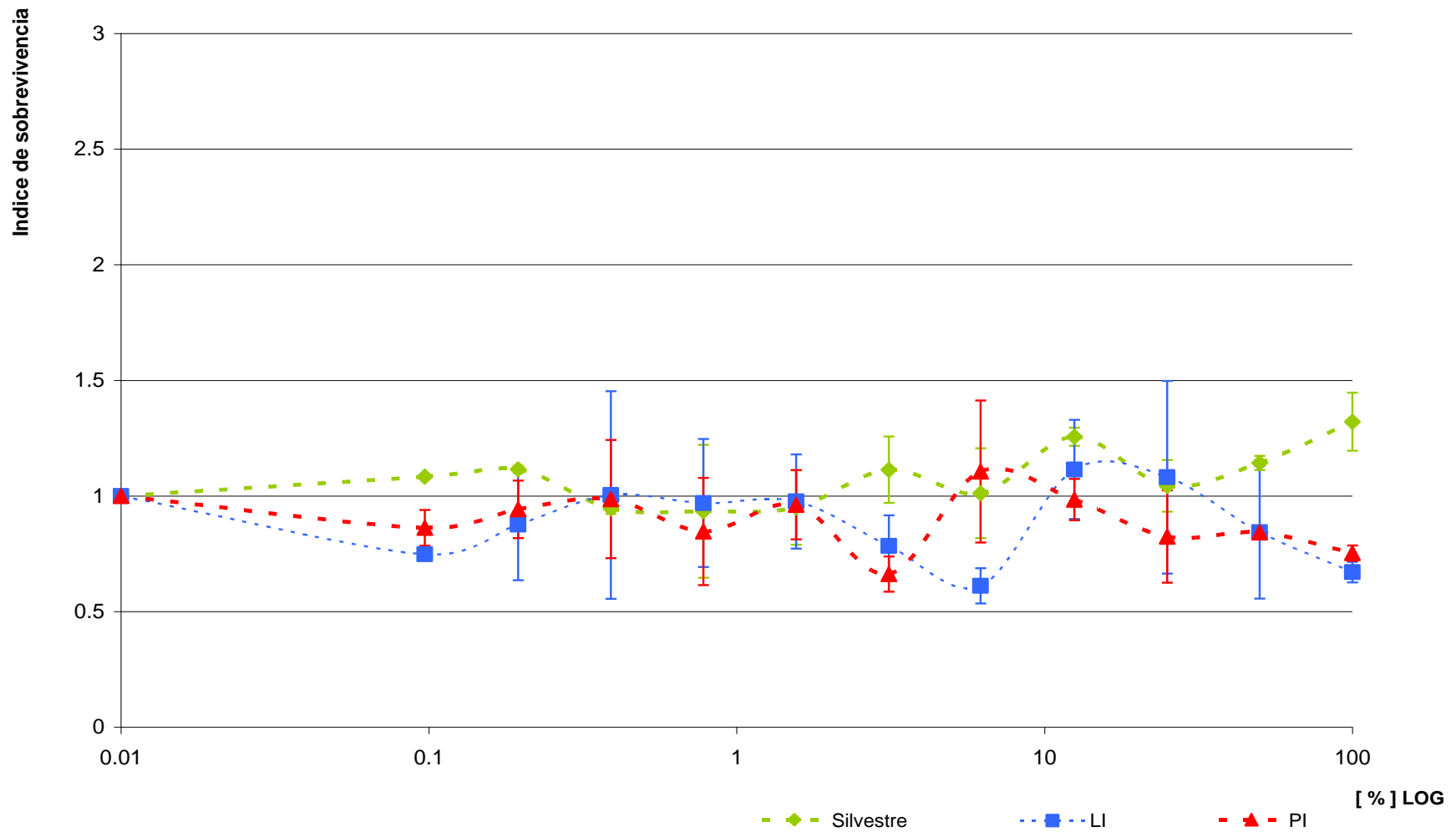
INDICE DE SOBREVIVENCIA (IS)

Ipomoea batatas

La tabla IV y la gráfica 1, muestran el efecto tóxico evaluado a partir del índice de sobrevivencia de los organismos expuestos a las diferentes concentraciones de *I. batatas*. Mediante un ANOVA se determinó que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) en el IS obtenido en las diferentes concentraciones de cada línea respecto a su testigo. Pero sí existen diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.01$) (Blair y Taylor, 2008) entre los IS de la moscas silvestres con respecto a las moscas LI y PI.

Tabla IV. Índice de Sobrevivencia ($x \pm ee$) de organismos expuestos al tratamiento sólo con *I. batatas*; Silvestres; LI (Libres de inversión); PI (Portadoras de inversión).

<i>Ipomoea batatas</i>	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee
[%]	Silvestres		f1r3/mwh,e (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	389	1 \pm 0.00	189	1 \pm 0.00	185	1 \pm 0.00
0.097	421	1.08 \pm 0.00	146	0.74 \pm 0.00	154	0.86 \pm 0.07
0.195	432	1.11 \pm 0.01	168	0.87 \pm 0.24	170	0.94 \pm 0.12
0.390	366	0.94 \pm 0.02	152	1.00 \pm 0.44	181	0.98 \pm 0.25
0.780	326	0.93 \pm 0.28	160	0.96 \pm 0.27	156	0.84 \pm 0.23
1.560	388	0.95 \pm 0.16	163	0.97 \pm 0.20	177	0.96 \pm 0.14
3.120	413	1.11 \pm 0.14	135	0.78 \pm 0.13	118	0.66 \pm 0.07
6.200	367	1.01 \pm 0.19	152	0.61 \pm 0.07	199	1.10 \pm 0.30
12.50	484	1.25 \pm 0.03	193	1.11 \pm 0.21	173	0.98 \pm 0.08
25.00	393	1.04 \pm 0.11	184	1.08 \pm 0.41	151	0.82 \pm 0.19
50.00	441	1.14 \pm 0.31	100	0.84 \pm 0.28	148	0.84 \pm 0.00
100.0	499	1.32 \pm 0.12	126	0.67 \pm 0.04	137	0.75 \pm 0.03



Índice de Sobreviencia (IS) de moscas expuestas a *I. batatas*

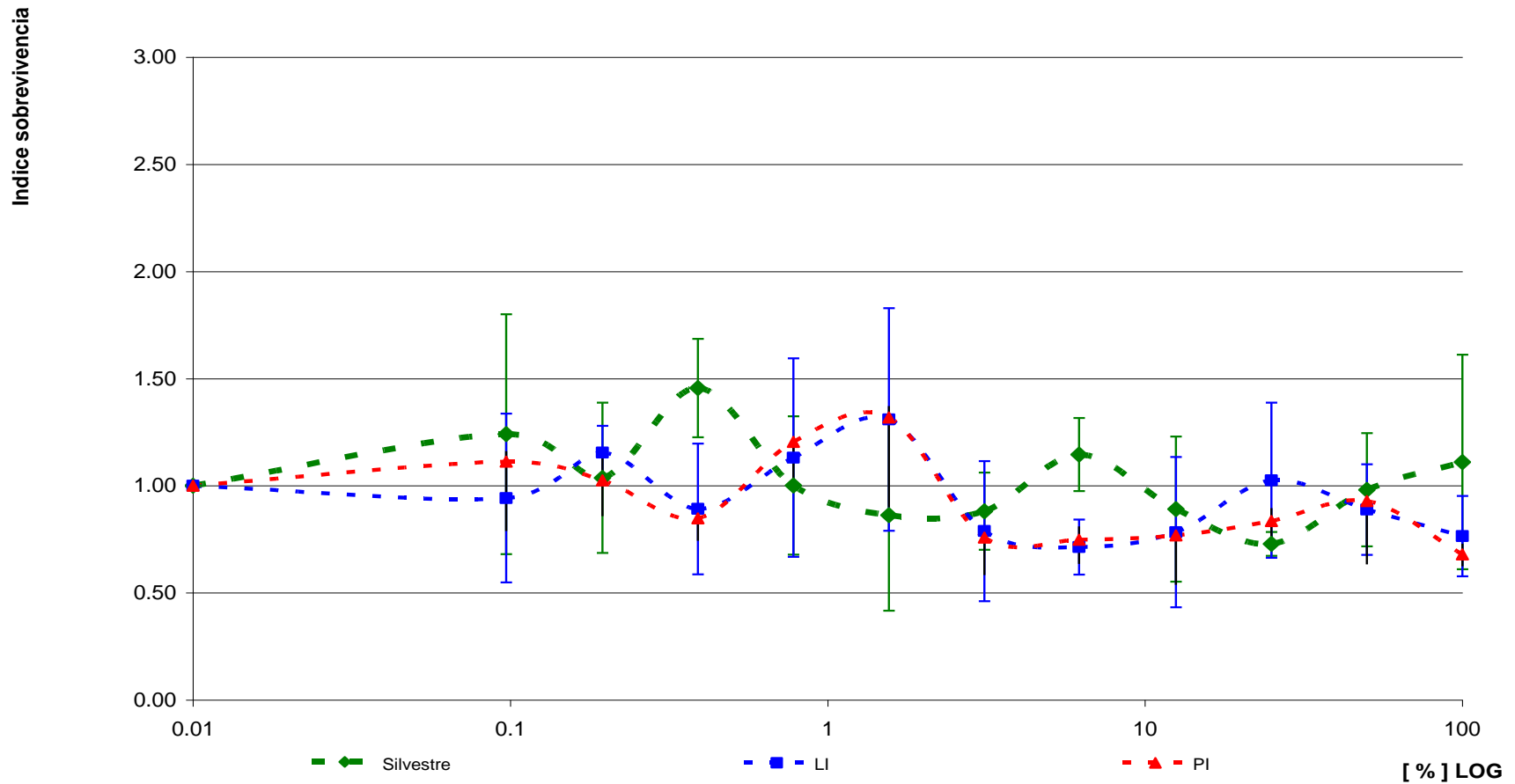
Gráfica. 1. Índice de Sobreviencia ($x \pm ee$) de moscas de tipo silvestre y de la CM (Libres y portadoras) expuestas a *I. batatas*.

Sacarosa e *I. batatas*

Se determinó que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) en los IS en las diferentes concentraciones de cada línea respecto a su testigo ni entre las cepas, cuando se aplicó el tratamiento agudo-subcrónico con la sacarosa y la *I. batatas* (Tabla V, gráfica 2).

Tabla V. Índice de Supervivencia ($x \pm ee$) de los organismos expuestos al tratamiento combinado con sacarosa más *I. batatas*; silvestres, LI y PI

Sacarosa + <i>Ipomoea batatas</i>	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee
[%]	Silvestres		fir3/mwhe (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	251	1 \pm 0.00	182	1 \pm 0.00	187	1 \pm 0.00
0.097	270	1.24 \pm 0.55	139	0.94 \pm 0.39	191	1.11 \pm 0.32
0.195	254	1.03 \pm 0.35	199	1.15 \pm 0.12	183	1.02 \pm 0.16
0.390	359	1.45 \pm 0.22	141	0.89 \pm 0.30	152	0.84 \pm 0.10
0.780	234	1.00 \pm 0.32	171	1.13 \pm 0.46	216	1.20 \pm 0.18
1.560	198	0.86 \pm 0.44	196	1.30 \pm 0.51	231	1.31 \pm 4.19
3.120	222	0.88 \pm 0.18	123	0.78 \pm 0.32	134	0.75 \pm 0.17
6.200	279	1.14 \pm 0.17	120	0.71 \pm 0.12	134	0.74 \pm 0.11
12.50	207	0.89 \pm 0.33	118	0.78 \pm 0.35	132	0.76 \pm 0.23
25.00	184	0.72 \pm 0.05	160	1.02 \pm 0.36	154	0.83 \pm 0.10
50.00	237	0.98 \pm 0.26	149	0.88 \pm 0.21	165	0.92 \pm 0.29
100.0	253	1.11 \pm 0.50	127	0.76 \pm 0.18	124	0.67 \pm 0.05



Índice de Sobrevivencia (IS) de moscas expuestas a SA + *I. batatas*

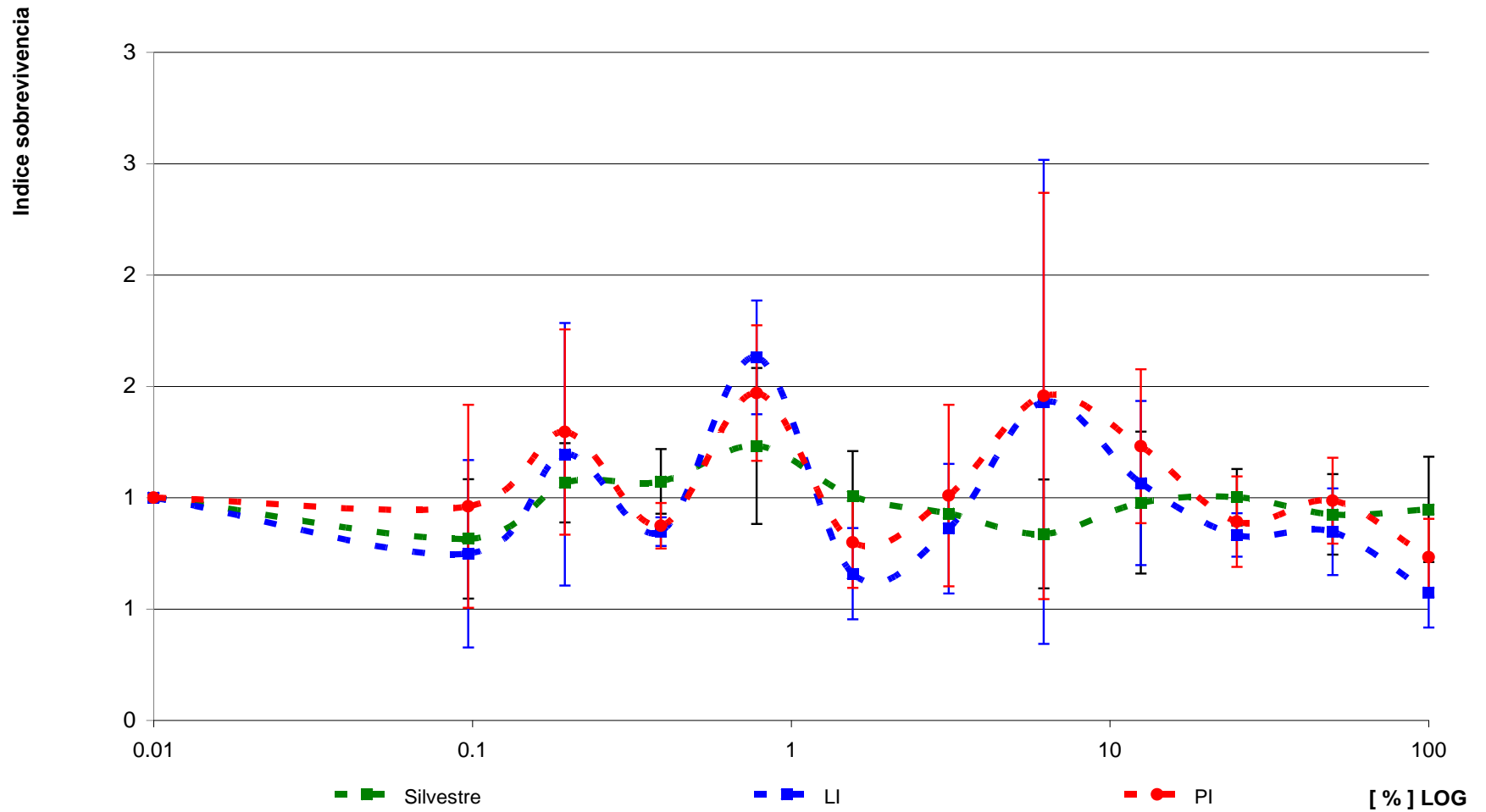
Gráfica 2. Muestra el Índice de Sobrevivencia ($\bar{x} \pm ee$) de los organismos expuestos a Sacarosa e *I. batatas*.

DMN e *I. batatas*

Las diferencias en los IS no muestran en la tabla VI y gráfica 3 que sean estadísticamente significativas (ANOVA; $p > 0.05$) en las diferentes concentraciones respecto a su testigo y tampoco entre las cepas cuando son tratadas con DMN e *Ipomoea batatas*.

Tabla VI. Índice de Supervivencia ($\bar{x} \pm ee$) de los organismos silvestres, LI y PI expuestos al tratamiento combinado con la DMN más *I. batatas*

DMN + <i>Ipomoea</i> <i>batatas</i>	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee	n	IS \pm ee
[%]	Silvestres		f1r3/mwhe (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	202	1 \pm 0.00	143	1 \pm 0.00	151	1 \pm 0.00
0.097	172	0.81 \pm 0.27	122	0.75 \pm 0.42	131	0.96 \pm 0.46
0.195	241	1.07 \pm 0.18	136	1.19 \pm 0.59	167	1.29 \pm 0.46
0.390	231	1.07 \pm 0.14	132	0.85 \pm 0.06	128	0.87 \pm 0.10
0.780	262	1.23 \pm 0.35	163	1.63 \pm 0.26	207	1.47 \pm 0.30
1.560	210	1.01 \pm 0.20	92	0.66 \pm 0.21	127	0.80 \pm 0.21
3.120	226	0.93 \pm 0.08	103	0.86 \pm 0.29	139	1.01 \pm 0.41
6.20	176	0.84 \pm 0.24	131	1.43 \pm 1.09	170	1.46 \pm 0.91
12.50	215	0.98 \pm 0.32	122	1.07 \pm 0.37	171	1.23 \pm 0.35
25.00	216	1 \pm 0.13	118	0.83 \pm 0.10	130	0.89 \pm 0.20
50.00	182	0.92 \pm 0.18	115	0.85 \pm 0.19	139	0.99 \pm 0.19
100.0	174	0.95 \pm 0.24	79	0.57 \pm 0.16	105	0.73 \pm 0.17



Índice de Sobrevivencia (IS) de moscas expuestas DMN + *I. batatas*

Gráfica 3. Muestra el Índice de Sobrevivencia \pm error estándar de los organismos expuestos a DMN e *I. batatas*.

Cuando se comparan los IS de la cepa silvestre del primer tratamiento con la cepa silvestre del segundo tratamiento no se encontraron evidencias significativas para considerarlas diferentes. De igual forma, no hay diferencias cuando se comparan las cepas LI y PI tanto del primero como del segundo tratamiento. Al evaluar sólo el segundo tratamiento los IS de cada cepa respecto a su testigo no son diferentes con respecto a la concentración o a la cepa.

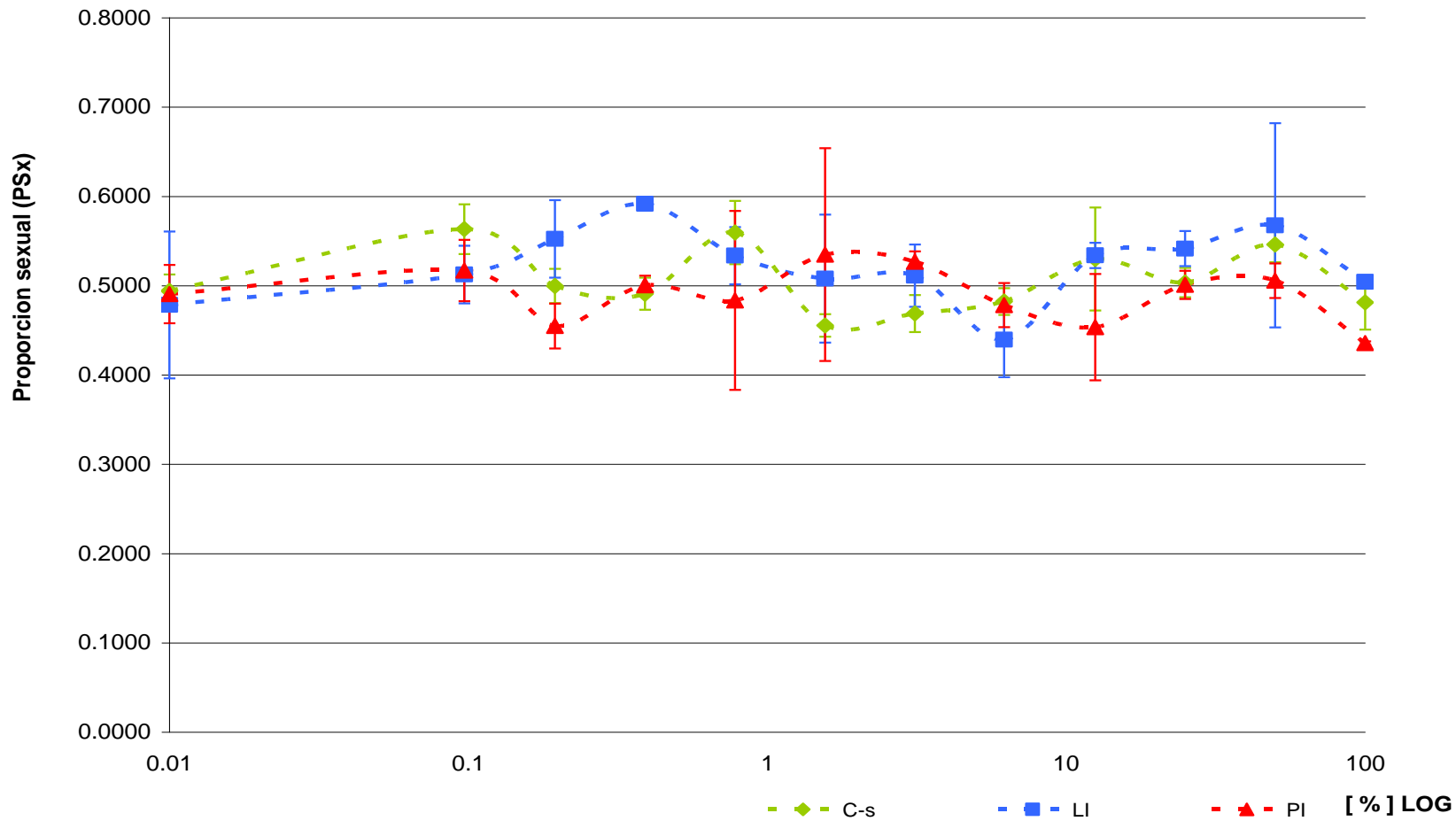
PROPORCION SEXUAL (PSx)

Ipomoea batatas

En la tabla VII y gráfica 4, se evaluó la proporción sexual (PSx) promedio de los organismos tratados con *I. batatas*. No se encontraron diferencias significativas en la PSx con respecto a la concentración y al tipo de cepa de mosca (ANOVA; $p > 0.05$).

Tabla VII. Proporción Sexual de machos ($x \pm ee$) expuestos al tratamiento con *I. batatas*; Silvestres); LI (Libres de inversión); PI (Portadoras de inversión).

<i>Ipomoea batatas</i>	n	PSx $\pm ee$	n	PSx $\pm ee$	n	PSx $\pm ee$
[%]	Silvestres		flr3/mwhe (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	251	0.494 \pm 0.02	182	0.478 \pm 0.08	187	0.490 \pm 0.03
0.097	270	0.563 \pm 0.03	139	0.512 \pm 0.03	191	0.517 \pm 0.03
0.195	254	0.499 \pm 0.02	199	0.552 \pm 0.04	183	0.454 \pm 0.03
0.390	359	0.491 \pm 0.02	141	0.591 \pm 0.00	152	0.500 \pm 0.01
0.780	234	0.559 \pm 0.04	171	0.533 \pm 0.03	216	0.483 \pm 0.10
1.560	198	0.455 \pm 0.01	196	0.507 \pm 0.07	231	0.534 \pm 0.12
3.120	222	0.468 \pm 0.02	123	0.511 \pm 0.03	134	0.526 \pm 0.01
6.200	279	0.482 \pm 0.01	120	0.439 \pm 0.04	134	0.478 \pm 0.02
12.50	207	0.529 \pm 0.06	118	0.533 \pm 0.01	132	0.453 \pm 0.06
25.00	184	0.503 \pm 0.02	160	0.541 \pm 0.02	154	0.500 \pm 0.02
50.00	237	0.545 \pm 0.02	149	0.567 \pm 0.11	165	0.505 \pm 0.02
100.0	253	0.481 \pm 0.03	127	0.504 \pm 0.00	124	0.435 \pm 0.00



Proporción Sexual (PSx) de machos expuestos a *I. batatas*

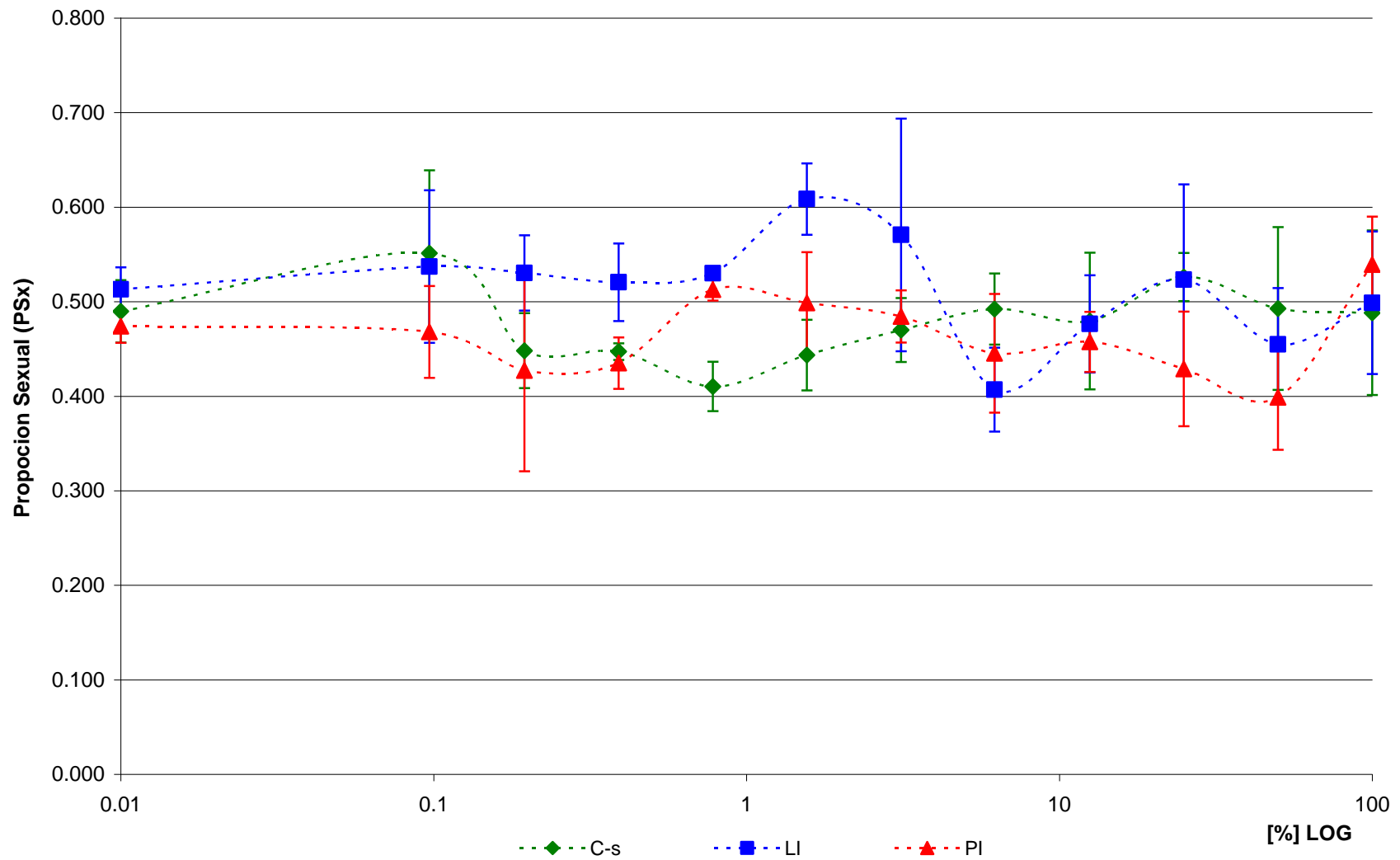
Gráfica 4. Muestra la Proporción Sexual de machos (PSx) ± error estándar, expuestos a *I. batatas*.

Sacarosa e *I. batatas*

No existen diferencias significativas en la proporción sexual de los machos ($p > 0.05$) en las diferentes concentraciones en comparación con su testigo en cada una de las cepas. La cepa silvestre respecto a LI y PI, la proporción sexual se mantiene similar, mientras que en LI vs PI si existen diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$), se muestra en la tabla VIII y gráfica 5.

Tabla VIII. Proporción Sexual de machos ($x \pm ee$) expuestos al tratamiento combinado con sacarosa más *I. batatas*. Silvestres, LI y PI.

Sacarosa + <i>I. batatas</i> [%]	n	PSx \pm ee	n	PSx \pm ee	n	PSx \pm ee
	Silvestres		flr3/mwhe (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	251	0.490 \pm 0.03	182	0.513 \pm 0.02	187	0.474 \pm 0.02
0.097	270	0.551 \pm 0.09	139	0.537 \pm 0.08	191	0.468 \pm 0.05
0.195	254	0.448 \pm 0.04	199	0.530 \pm 0.04	183	0.427 \pm 0.11
0.390	359	0.447 \pm 0.01	141	0.520 \pm 0.04	152	0.435 \pm 0.03
0.780	234	0.410 \pm 0.03	171	0.530 \pm 0.01	216	0.513 \pm 0.01
1.560	198	0.443 \pm 0.04	196	0.608 \pm 0.04	231	0.499 \pm 0.05
3.120	222	0.470 \pm 0.03	123	0.571 \pm 0.12	134	0.484 \pm 0.03
6.200	279	0.492 \pm 0.04	120	0.407 \pm 0.04	134	0.445 \pm 0.06
12.50	207	0.479 \pm 0.07	118	0.476 \pm 0.05	132	0.457 \pm 0.03
25.00	184	0.526 \pm 0.03	160	0.523 \pm 0.10	154	0.429 \pm 0.06
50.00	237	0.493 \pm 0.09	149	0.455 \pm 0.06	165	0.399 \pm 0.06
100.0	253	0.488 \pm 0.09	127	0.499 \pm 0.08	124	0.539 \pm 0.05



Proporción Sexual (PSx) de machos expuestos a SA + *Ipomoea batatas*

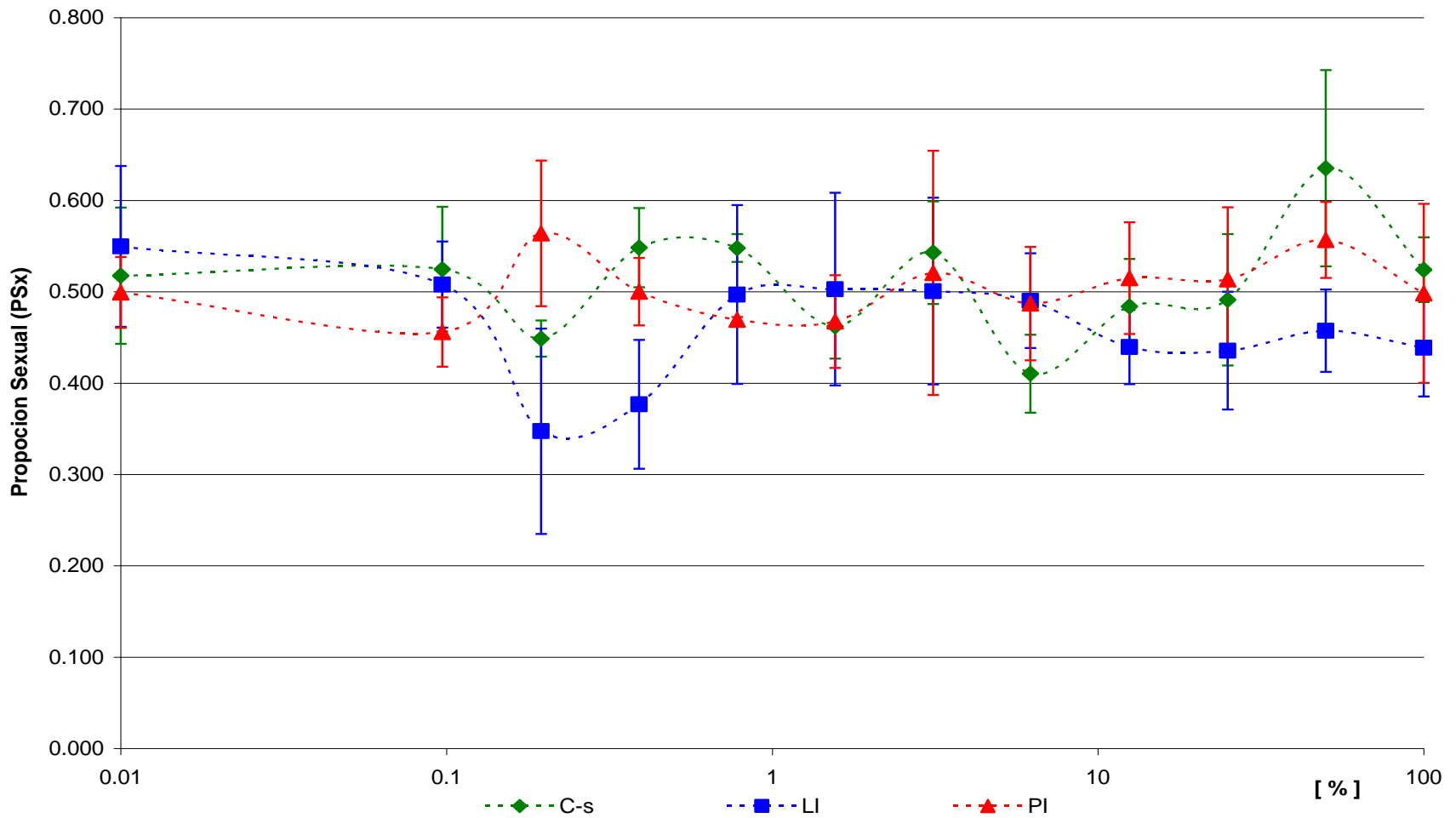
Gráfica 5. Se muestra la Proporción Sexual de machos (PSx) \pm error estándar, expuestos a sacarosa e *I. batatas*.

DMN e *I. batatas*

La tabla IX y la gráfica 6 muestran que la proporción sexual se mantiene a lo largo de las concentraciones respecto al testigo y no es estadísticamente significativo cuando se comparan las 3 cepas ($p > 0.05$).

Tabla IX. Proporción Sexual de machos ($x \pm ee$) expuestos al tratamiento con la DMN más *I. batatas*; Silvestre; LI (Libres de inversión); PI (Portadoras de inversión).

DMN + <i>Ipomoea batatas</i>	n	PSx \pm ee	n	PSx \pm ee	n	PSx \pm ee
[%]	Silvestres		flr3/mwhe (LI)		TM3,eSer/mwh,e (PI)	
Testigo	251	0.518 \pm 0.07	182	0.550 \pm 0.08	187	0.499 \pm 0.04
0.097	270	0.525 \pm 0.07	139	0.508 \pm 0.04	191	0.456 \pm 0.04
0.195	254	0.449 \pm 0.02	199	0.347 \pm 0.11	183	0.564 \pm 0.08
0.390	359	0.548 \pm 0.04	141	0.377 \pm 0.07	152	0.500 \pm 0.04
0.780	234	0.548 \pm 0.02	171	0.497 \pm 0.09	216	0.469 \pm 0.00
1.560	198	0.462 \pm 0.04	196	0.503 \pm 0.10	231	0.467 \pm 0.05
3.120	222	0.543 \pm 0.06	123	0.501 \pm 0.10	134	0.521 \pm 0.13
6.200	279	0.410 \pm 0.04	120	0.490 \pm 0.05	134	0.487 \pm 0.06
12.50	207	0.484 \pm 0.05	118	0.439 \pm 0.04	132	0.515 \pm 0.06
25.00	184	0.491 \pm 0.07	160	0.436 \pm 0.06	154	0.513 \pm 0.08
50.00	237	0.635 \pm 0.11	149	0.457 \pm 0.04	165	0.557 \pm 0.04
100.0	253	0.524 \pm 0.04	127	0.439 \pm 0.05	124	0.498 \pm 0.10



Proporción Sexual (PSx) de machos expuestos DMN + *Ipomoea batatas*

La Gráfica 6, muestra la Proporción Sexual de los machos (PSx) \pm error estándar, expuestos a DMN e *I. batatas*.

6.2 Genotoxicidad

En los siguientes resultados se observa el efecto genotóxico de *I. batatas* evaluado en las moscas Libres de inversión (LI) provenientes de la cruce estándar de la metodología SMART-ala de *D. melanogaster*, para los dos tipos de protocolos empleados.

Ipomoea batatas

Ipomoea batatas no incrementó la frecuencia de machas en las [%] probadas (Tabla X). No se recobraron manchas gemelas.

Tabla X. Resultados obtenidos en la prueba SMART con moscas LI, tratadas con *Ipomoea batatas*. Exposición: 72 x 48 h.

<i>Ipomoea batatas</i> [%]	Número de alas analizadas	Manchas Chicas (1-2 células) m=2 Fr	Manchas Grandes (>3 células) m=5 Fr	Manchas Gemelas m=5 Fr	Total de Manchas m=2 Fr
H ₂ O Dest.	120	0.22 (27)	0.04 (5)	0 (0)	0.26 (32)
0.097	120	0.27 (32)-	0.01 (1)-	0 (0)i	0.28 (33)
0.195	120	0.29 (35)i	0.06 (7)-	0 (0)i	0.35 (42)
0.390	120	0.17 (20)-	0.03 (3)-	0 (0)i	0.19 (23)
0.780	120	0.21 (25)-	0.03 (4)-	0 (0)i	0.24 (29)
1.560	120	0.22 (27)-	0.06 (7)-	0 (0)i	0.28 (34)
3.120	120	0.28 (33)-	0.03 (4)-	0 (0)i	0.31 (37)
6.200	120	0.28 (33)-	0.03 (4)-	0 (0)i	0.31 (37)
12.50	120	0.22 (26)-	0.03 (4)-	0 (0)i	0.25 (30)
25.00	120	0.19 (23)-	0.05 (6)-	0 (0)i	0.24 (29)
50.00	104	0.12 (12)-	0.04 (4)-	0 (0)i	0.15 (16)
100.0	120	0.20 (24)-	0.05 (6)-	0 (0)i	0.25 (30)

Análisis estadístico de acuerdo con Frei y Würigler (1988). +, Positivo; w, débil positivo; i, indeterminado; p=0.05.

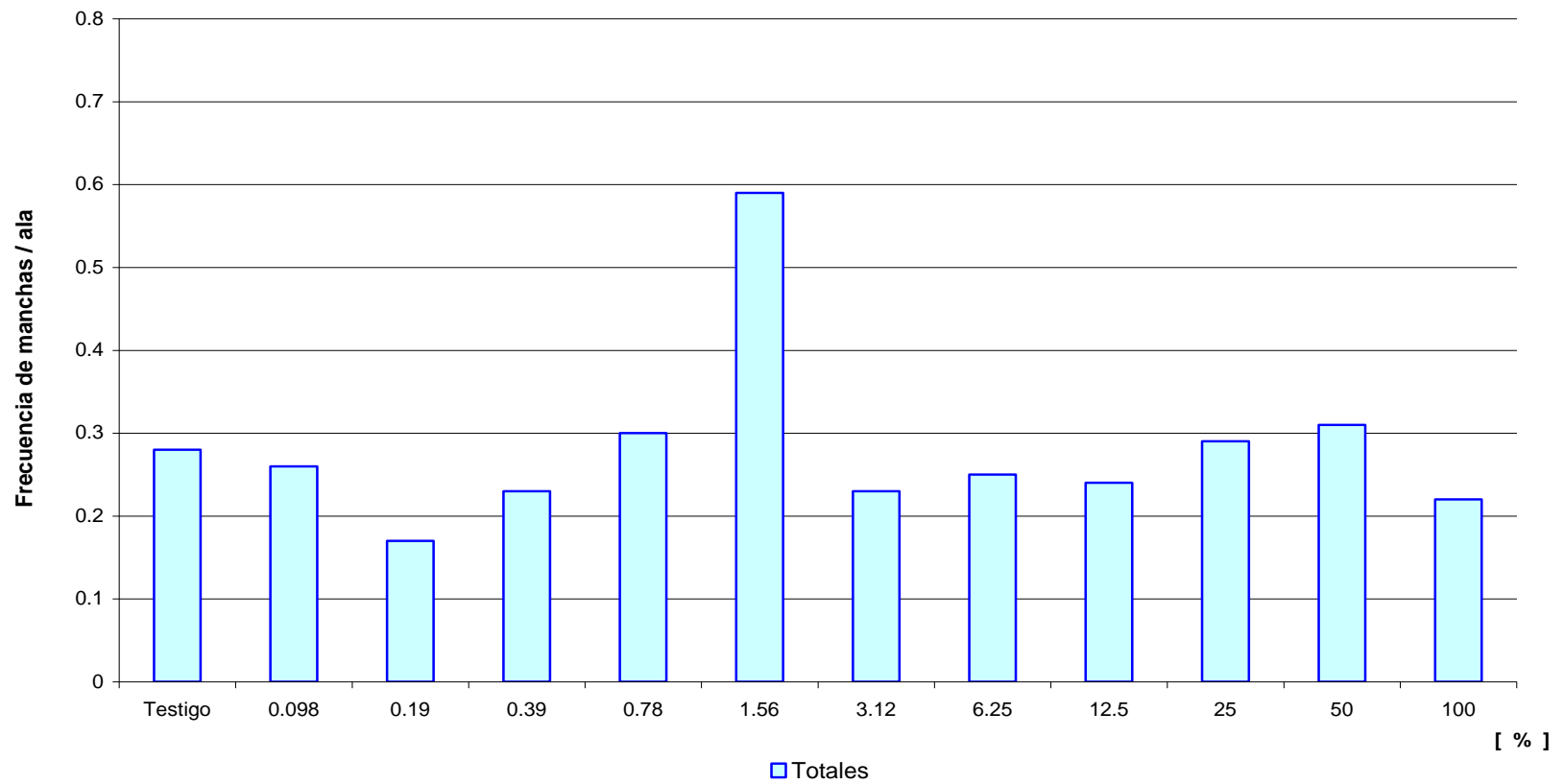
Sacarosa e *I. batatas*

La tabla XI y la gráfica7, muestran los resultados obtenidos al exponer a las moscas con sacarosa (5 %), previo al tratamiento con *I. batatas*. Sólo en la concentración de 1.56 % se incrementaron las frecuencias de manchas chicas y grandes ($p < 0.05$). No se recobraron manchas gemelas.

Tabla XI. Resultados obtenidos en la prueba SMART con moscas LI expuestas a sacarosa-SA (5 %) e *I. batatas*. Exposición: 72 x 6 x 48 h.

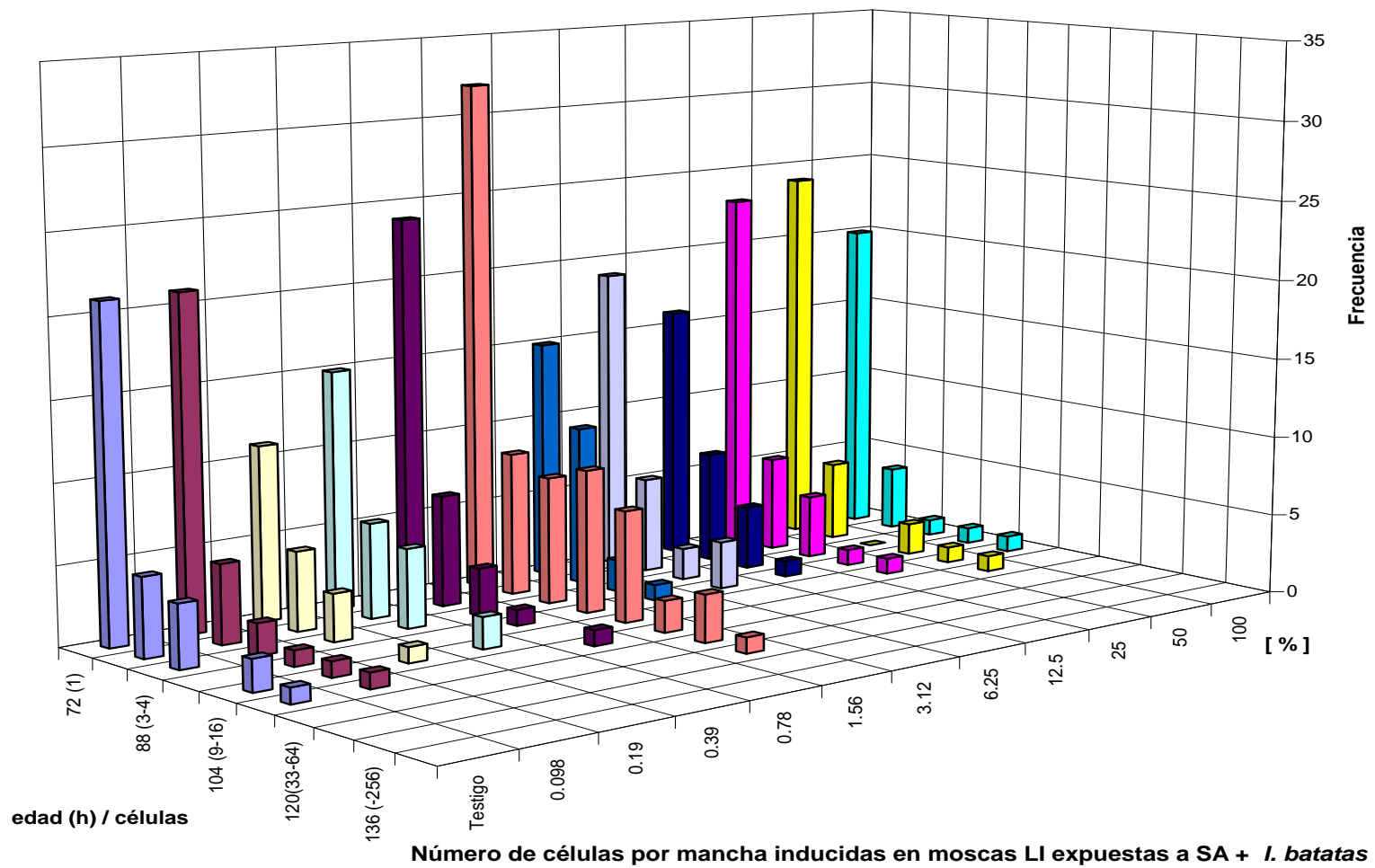
<i>Ipomoea batatas</i> [%]	Número de alas analizadas	Manchas Chicas (1-2 células) m=2 Fr	Manchas Grandes (>3 células) m=5 Fr	Manchas Gemelas m=5 Fr	Total de Manchas m=2 Fr
SA (5%)	120	0.22(26)-	0.06(7)-	0 (0)	0.28(33)-
0.097	120	0.22(26)-	0.04(5)-	0 (0)i	0.26(31)-
0.195	120	0.13(16)-	0.03(4)-	0 (0)i	0.17(20)-
0.390	120	0.17(21)-	0.06(7)-	0 (0)i	0.23(28)-
0.780	120	0.26(31)-	0.04(5)-	0 (0)i	0.3(36)-
1.560	120	0.34(41)+	0.25(30)+	0 (0)i	0.59(71)+
3.120	120	0.21(25)-	0.03(3)-	0 (0)i	0.23(28)-
6.200	120	0.21(25)-	0.04(5)-	0 (0)i	0.25(30)-
12.500	120	0.19(23)-	0.05(6)-	0 (0)i	0.24(29)-
25.000	120	0.24(29)-	0.05(6)-	0 (0)i	0.29(35)-
50.000	106	0.27(29)-	0.04(4)-	0 (0)i	0.31(33)-
100.000	120	0.2(24)-	0.03(3)-	0 (0)i	0.22(27)-

Análisis estadístico de acuerdo con Frei y Würzler (1988). +, positivo; w, débil positivo; i, indeterminado; $p=0.05$.

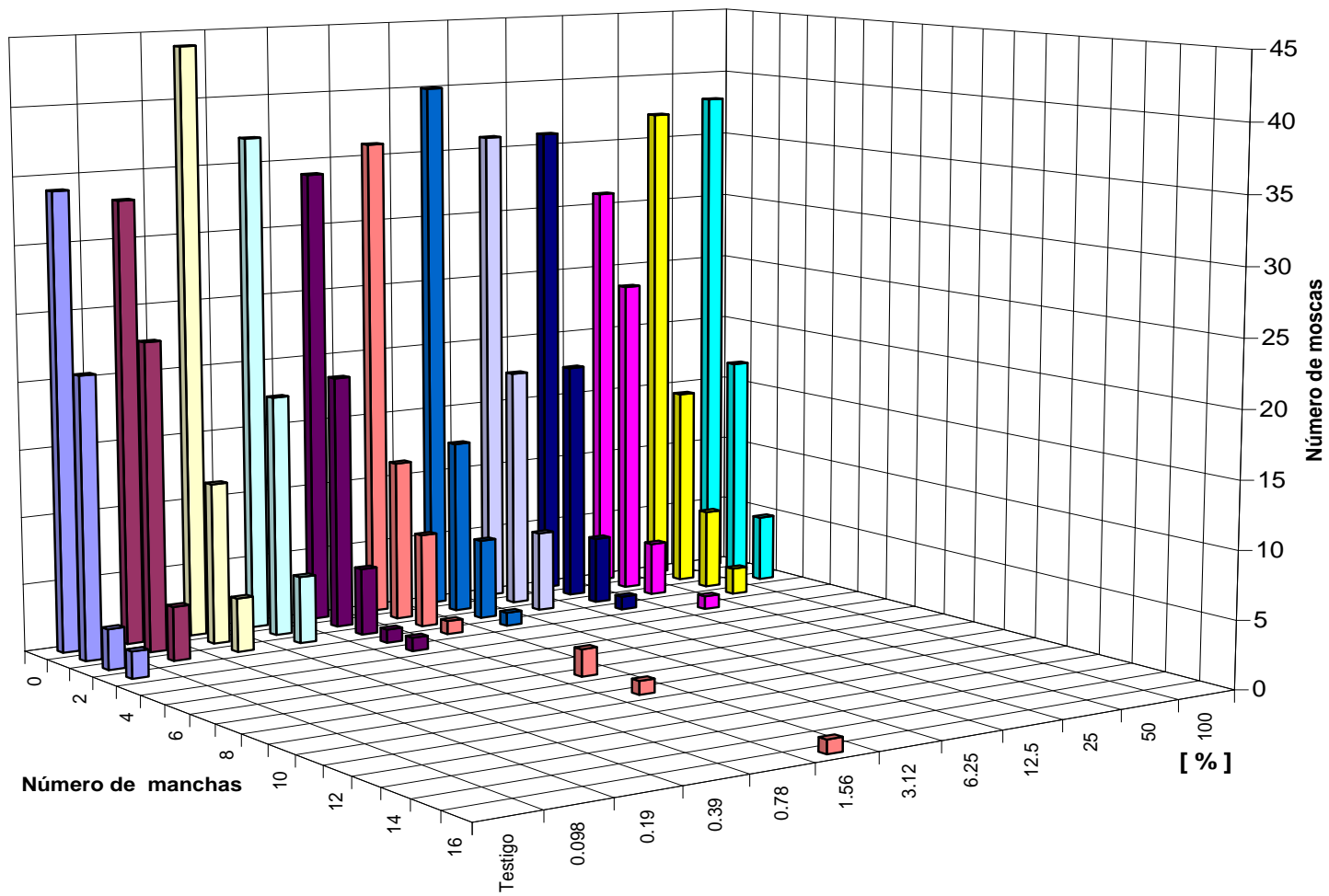


Frecuencia obtenida en la prueba SMART en moscas LI expuestas a SA + *I. batatas*

Gráfica 7. Muestra la frecuencia de manchas por ala de las moscas LI expuestas a SA e *I. batatas*.



Gráfica 8. Frecuencia del número de células por macha de las moscas LI expuestas a SA e *I. batatas*.



Número de manchas por mosca inducidas en moscas LI expuestas a SA + *I. batatas*

Gráfica 9. Número de manchas por mosca recobradas en el tratamiento con SA e *I. batatas*.

En la gráfica 8 y 9, sólo en la concentración 1.56 se incrementó la frecuencia del número de células por mancha y solo un organismo presentó un número mayor de manchas.

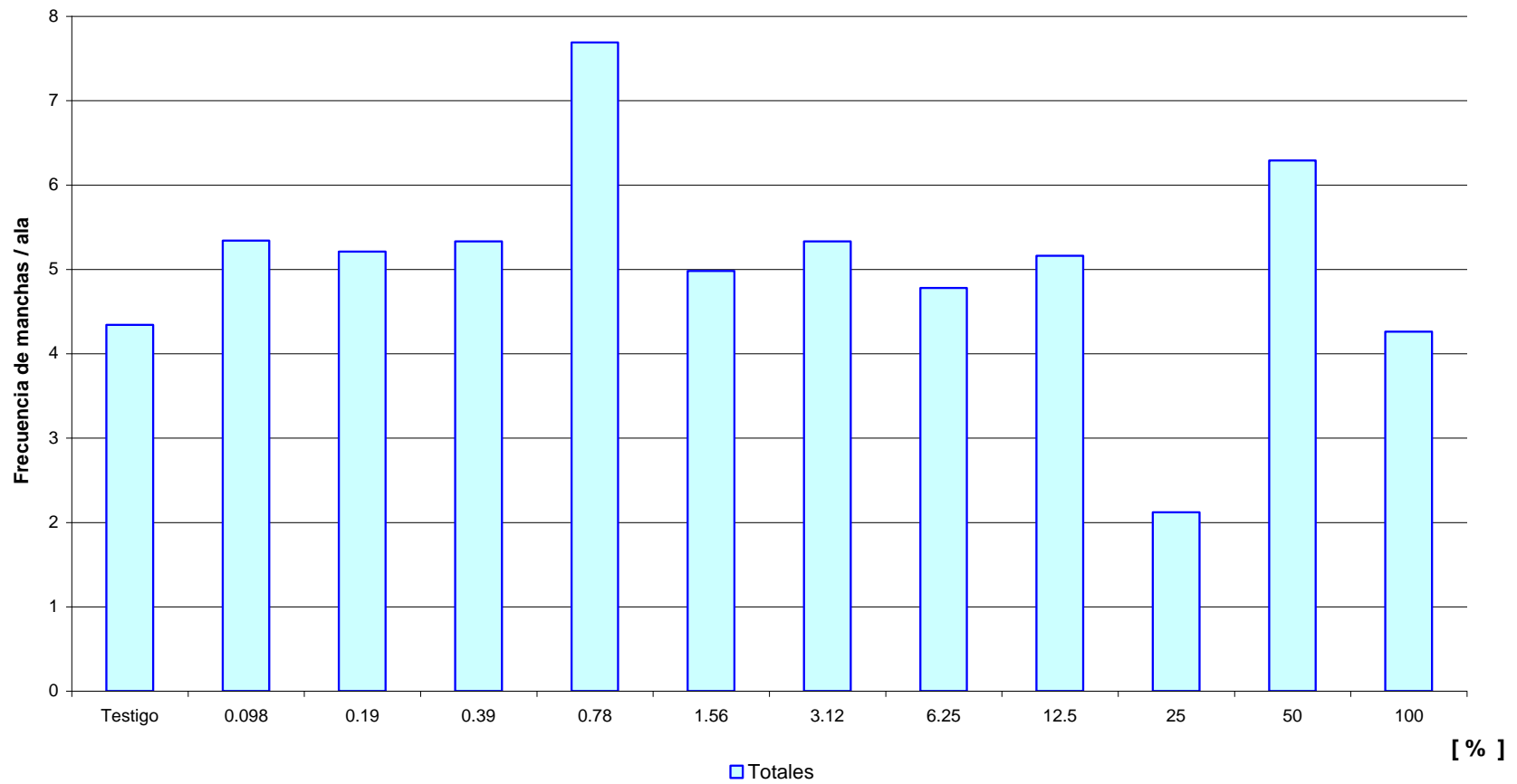
DMN e *I. batatas*

En la tabla XII y en la gráfica 10. Se muestran los resultados obtenidos de la frecuencia del tipo de manchas de las moscas tratadas con DMN (5 mM) previo al tratamiento con *I. batatas*. En la concentración de 0.78 % y 50 % se incrementó la frecuencia de los tres tipos de manchas. Sólo en la concentración de 25 % la frecuencia de machas es menor. En el resto de las concentraciones la frecuencia fue similar a su testigo.

Tabla XII. Resultados obtenidos en la prueba SMART con moscas LI expuestas a DMN (5 mM) e *I. batatas*. Exposición: 72 x 6 x 48 h.

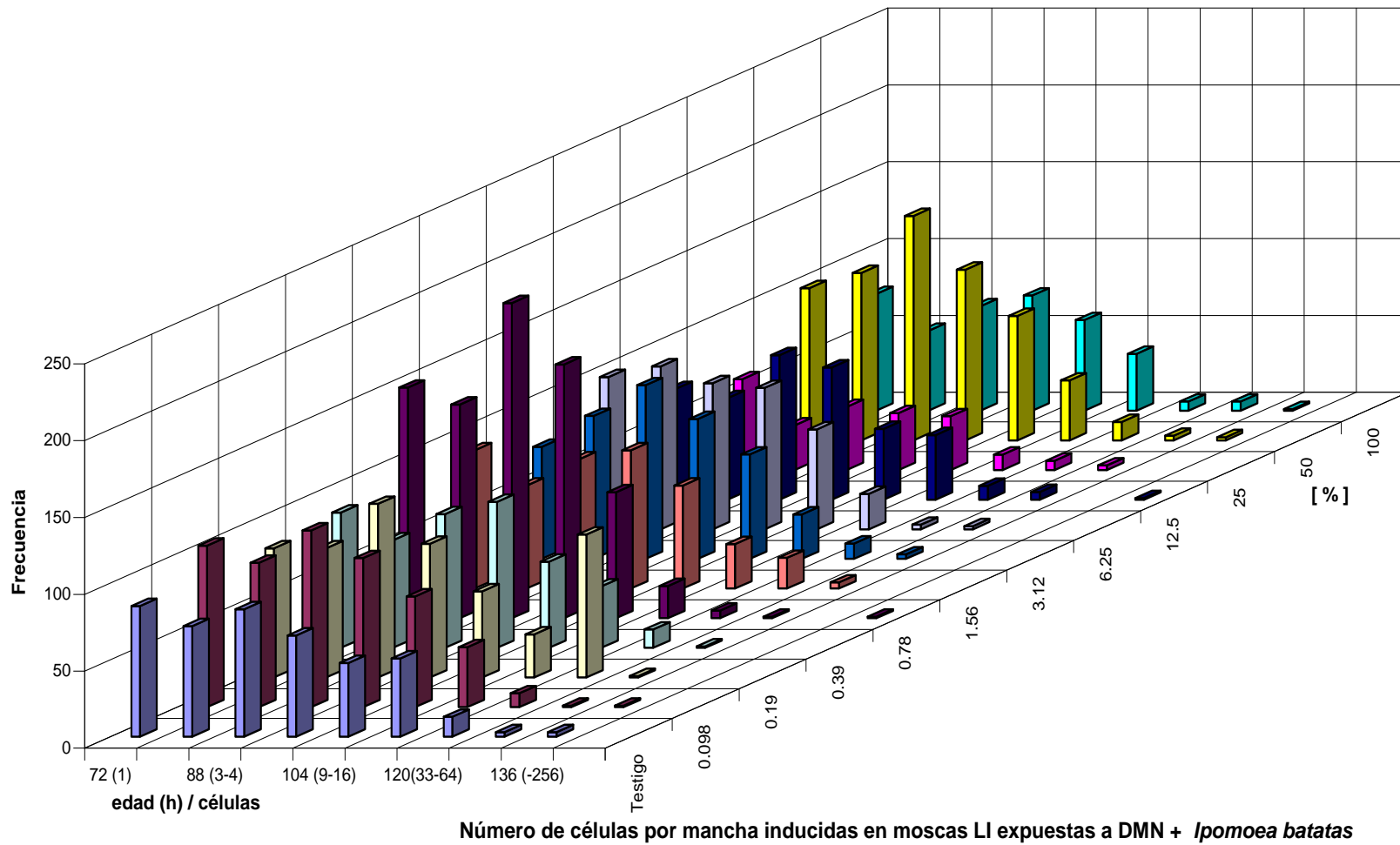
<i>Ipomoea batatas</i> [%]	Número de alas analizadas	Manchas Chicas (1-2 células) m=2 Fr	Manchas Grandes (>3 células) m=5 Fr	Manchas Gemelas m=5 Fr	Total de Manchas m=2 Fr
DMN (5mM)	116	1.35(157)-	2.3(267)-	0.69(80)-	4.34(504)-
0.097	120	1.66(199)-	2.78(334)-	0.9(108)w	5.34(641)-
0.195	104	1.62(168)-	2.86(297)-	0.74(77)-	5.21(542)-
0.390	98	1.61(158)-	2.97(291)w	0.74(73)-	5.33(522)-
0.780	120	2.41(289)+	4(480)w	1.28(156)w	7.69(923)+
1.560	108	1.45(157)-	2.72(294)-	0.81(87)-	4.98(538)-
3.120	100	1.66(166)-	3.14(314)w	0.53(53)-	5.33(533)-
6.200	120	1.71(205)w	2.33(280)-	0.74(89)-	4.78(574)-
12.50	100	1.38(138)-	2.83(283)-	0.95(95)w	5.16(516)-
25.00	118	0.75(88)+	1.12(132)w	0.25(30)w	2.12(250)+
50.00	112	1.86(208)w	3.52(394)w	0.91(102)w	6.29(704)w
100.0	98	1.31(128)-	2.57(252)-	0.38(37)-	4.26(417)-

Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würzler (1988). +, Positivo; w, débil positivo; i, indeterminado; con $\alpha/2=0.025$.

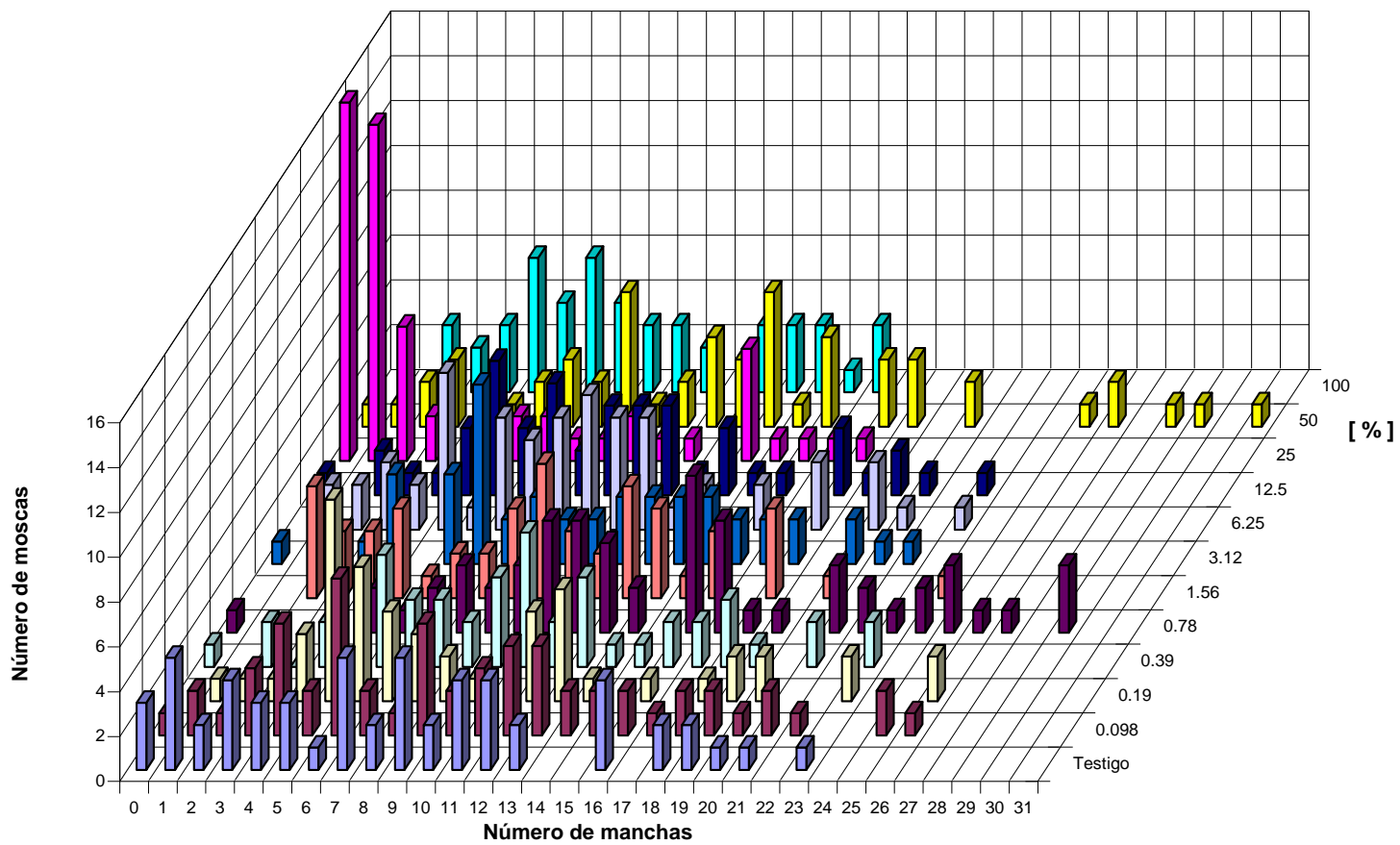


Frecuencia obtenida en la prueba SMART en moscas LI expuestas a DMN + *Ipomoea batatas*

Gráfica 10. Frecuencia de manchas por ala en moscas LI, inducidas con DMN e *I. batatas*.



Gráfica 11. Frecuencia del número de células por macha de las moscas LI expuestas a DMN e *I. batatas*.



Número de manchas por mosca inducidas en moscas LI expuestas a DMN + *Ipomoea batatas*

Gráfica 12. Número de machas por mosca, inducidas con DMN e *I. batatas*.

En la gráfica 11 en las concentraciones 0.78 % y 50 % se incrementó la distribución del número de células por mancha, mientras que en la concentración de 25 %, ésta fue menor.

En las concentraciones 0.78 % y 50 % (gráfica 12), se muestra que algunos organismos presentan mayor número de manchas, mientras que en la concentración de 25 % se observa que muchos organismos presentan menor número de manchas.

7. DISCUSION

Ipomoea batatas no sólo ha constituido un recurso valioso en la alimentación humana, además ha destacado con propósitos terapéuticos en la medicina moderna por sus diversos componentes químicos.

En este trabajo, se utilizó a *Drosophila melanogaster* por las múltiples ventajas que ofrece como sistema de prueba en la valoración del daño que ejerce un agente (Ramos, 1994), en este caso *I. batatas*.

Se evaluó el efecto tóxico de *I. batatas* usando dos indicadores importantes como son la sobrevivencia de los organismos y la proporción sexual de *D. melanogaster*. También se evaluó el efecto genotóxico y antigenotóxico con ayuda de la prueba de mutación somática y recombinación mitótica (SMART).

Un efecto tóxico consiste en el daño provocado por la interacción del agente con células, tejidos u órganos en el cuerpo de un organismo.

Mientras que un efecto genotóxico está dado por el daño que se produzca en el material genético o en sus componentes, incluyendo los agentes que interaccionan de manera directa o indirecta con el ADN provocando mutaciones, y aquellos que interfieren en algunos procesos enzimáticos de la reparación, o polimerización del material protéico involucrado en la segregación.

Un agente presenta actividad genotóxica si genera una respuesta positiva en cualquier bioensayo que mida cualquier evento terminal como: mutagénesis, carcinogénesis o teratogénesis (Ramos, 1994).

Un agente es antígenotóxico si tiene la capacidad de reducir o inhibir el daño causado por cualquier agente. Los mecanismos de inhibición de mutagénesis y carcinogénesis son diversos y dependen de la etapa en la que intervienen en cada proceso, de los patrones de modulación y de las estrategias de defensa del huésped, entre otras (Ramel, 1984).

De Flora (1998) propone diversos mecanismos a distintos niveles con el fin de proteger o inhibir la inducción de mutaciones y la carcinogénesis. La clasificación consiste en la inhibición de mutaciones para la iniciación de cáncer y los mecanismos que interfieren con los estados de carcinogénesis; promoción, progresión, invasión y metástasis (Cuadro III).

Cuadro III. Mecanismos inhibidores de mutaciones y carcinogénesis (De Flora 1998).

Mecanismo	Ejemplo	Función
Mecanismos extracelulares	Vitamina D, fibras en la dieta, fenoles y productos fermentados.	Inhiben a las nitrosaminas y modifican la microflora intestinal
Inhibición de mutaciones e inhibición de cáncer por mecanismos extracelulares,	flavonoides y B-carotenos, ácido fólico,	Envuelven los mecanismos antioxidantes de los radicales libres, inhiben la expresión de oncogenes.
Inhibición para la promoción tumoral	la vitamina A, flavonoides, B-carotenos y calcio	protegen la comunicación intracelular o inducen apoptosis en las células
Inhibición para la progresión tumoral	Drogas citostáticas, radiación y tamoxifen	Inhiben la vascularización o inhiben los efectos genotóxicos.
Inhibición para invasión y metástasis	Ácidos polifenólicos y los retinoides	Actividad antioxidante, inhiben la vascularización y la diferenciación celular

Las características que definen a un agente con actividad antígenotóxica están dadas por su capacidad para actuar de manera extracelular o intracelular. En el primer caso actúan inhibiendo la entrada de los agentes mutagénicos o de sus precursores, al interferir y/o desactivar la formación endógena de los mutágenos. En el segundo caso este agente tienen la característica de que modulan el

metabolismo, bloqueando radicales libres y finalmente pueden interferir en la replicación y reparación del DNA (Morita *et al*, 1984).

En la prueba de mutación somática y recombinación mitótica de *Drosophila melanogaster* se evalúa la actividad genotóxica y antigenotóxica de un agente, la cual está dada por la frecuencia de manchas en las alas de los organismos tratados con el agente comparándola con la frecuencia de manchas del lote testigo, ya que la magnitud de la frecuencia de aparición se relaciona con el número de células al momento de la exposición al mutágeno (DMN).

La metodología SMART permite determinar si un compuesto es antigenotóxico, cuando éste reduce de manera significativa la frecuencia de manchas y el tipo de manchas producto de la actividad genotóxica del mutágeno empleado.

El propósito de evaluar a *I. batatas* fue por el valor terapéutico que actualmente representa. Se conoce la actividad de sus diversos componentes químicos y derivados metabólicos, estos últimos son producto de la interacción con otros agentes biológicos, los cuales son empleados para tratar ciertos tipos de cáncer, como el pulmonar; además de poseer propiedades antioxidantes, antimutagénicas o antiproliferativas en otros sistema de prueba. Pero en los cuales se tiene claro el efecto de la magnitud y/o los mecanismos de daño genético generado por ésta planta que es consumida de manera frecuente por millones de personas en todo el mundo. No se cuenta con reportes de que la *I. batatas* sea tóxica o genotóxica para *D. melanogaster*, siendo aún más interesante la evaluación de esta planta con un organismo ampliamente estudiado, y con una metodología que permite evaluar ciertos tipos de eventos genéticos.

Se seleccionó probar la cocción porque es la forma de uso más recurrente en la población humana.

De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que la cocción de *I. batatas* no resultó tóxica para *D. melanogaster* cuando se administra sola o combinada. La sobrevivencia y la proporción sexual de los organismos tratados no fué afectada.

Sin embargo, se esperaba obtener una respuesta positiva para toxicidad, ya que *I. batatas* es tóxica para diversos organismos, provocando incluso la muerte por

neumonía intersticial de rumiantes asociada a la ingesta de esta planta en diversos países. El efecto tóxico de *I. batatas* más frecuente sucede cuando la planta se contamina por *Fusarium solani* que produce varias toxinas furanoterpenoides como el 4-ipomeanol, el cual es activado en el pulmón a potentes sustancias neumotóxicas a través de enzimas (oxidasas) de función mixta capaces de causar neumonía intersticial, que consiste básicamente en la generación de radicales libres liberados por los neumocitos tipo I y las células epiteliales bronquiales. Conforme pasan las horas los neumocitos tipo II inician la división celular, proliferan en grandes cantidades y revisten los alvéolos pulmonares, dando un aspecto histológico adenomatoso. Actualmente esa condición clínico patológica en animales coincide con el síndrome de angustia respiratoria en adultos (SARA) humanos (Figuera *et al.*, 2003).

La cocción de *I. batatas* no es genotóxica cuando se administra sola. Pero cuando se combina con la actividad de la DMN muestra un efecto genotóxico, ya que se incrementó la frecuencia basal de manchas chicas, grandes y totales en algunas concentraciones. Coincidiendo estos resultados con los de *I. jalapa*, en la cual también se incrementó la frecuencia de todo tipo de manchas en el mismo sistema de prueba (Muñoz, 1998).

Ramos *et al.* (1998) plantea que para determinar que un resultado es positivo en la prueba de mutación somática y recombinación mitótica en *Drosophila*, es necesario que coincidan tres parámetros de evaluación: 1) la frecuencia de manchas por ala; 2) el tamaño de las manchas y 3) el número de manchas por mosca, los cuales deben ser similares a los del testigo negativo concurrente.

Un posible resultado que se esperaría al probar un compuesto con actividad antígenotóxica en la SMART, es que disminuya la frecuencia de manchas producto de la actividad genotóxica del mutágeno de referencia.

Se observó al menos en una concentración de la cocción *I. batatas* (25 %) un efecto antígenotóxico cuando ésta se combina con la actividad de la DMN, porque se recuperó un menor número de manchas en las alas, sin que se modifiquen el número de células y el número de manchas por mosca.

Una posible explicación a este resultado obtenido la dan González-Cesar y Ramos-Morales (1997), que plantean que cuando moscas expuestas a un posible genotóxico presentan frecuencias de manchas menores a las testigo, este tipo de resultado sugieren que puede estar en relación con la inducción de enzimas que participan en la desintoxicación de genotóxicos o bien, con la pérdida de células dañadas, lo que provocaría que la frecuencia de eventos detectados sea menor.

Por otra parte existen evidencias de que en concentraciones muy elevadas de genotóxico se recobra menor frecuencia de alteraciones cuando el nivel de toxicidad es tal que provoca el retraso en la división celular o bien, la muerte de las células afectadas si el daño producido no puede ser reparado.

Es posible que se encuentren indicios de citotoxicidad en los resultados obtenidos ya que se recuperó un menor número de manchas en una de las concentraciones altas. Estos resultados no difieren de los observados por Ould *et al.* (2004) en los que reportó que el extracto cocido de *I. batatas* tiene un potencial citotóxico al inducir apoptosis en células HL-60 en humanos con leucemia. También Falzon *et al.* (1986), reportaron que el 4-ipomeanol mostró daño citotóxico en líneas celulares de pulmón por su alta reactividad metabólica en concentraciones elevadas. Otras plantas, como *Espeletia killipii* ha presentado efectos citotóxicos en estudios *in vitro* frente a líneas celulares tumorales de humanos (Castro *et al.*, 2006).

El descubrimiento de nuevos agentes con actividad anticáncer se ha convertido en una de las metas de la investigación científica moderna; la molécula ideal para este fin debe eliminar o interferir con una variedad importante de células transformadas sin afectar a las células sanas (Huang y Oliff, 2001).

Los resultados concuerdan con lo que se esperaba para un compuesto antigenotóxico por lo menos en una concentración cuando se trata previamente con el mutágeno de referencia y son similares a los obtenidos con otras especies del género *Ipomoea* como *I. orizabensis* que protegió a *D. melanogaster* de la genotoxicidad inducida por DMN, Metil-metanosulfonato y mitomicina C e *I. purga* que presentó un efecto protector cuando se administró previo a la nitrosamina (Muñoz, 1998).

De las especies del género *Ipomoea* mencionadas anteriormente (*jalapa*, *purga* y *orizabensis*), se tenían antecedentes de que presentaban algún efecto tóxico y fueron evaluadas bajo las mismas condiciones metodológicas planteadas en este trabajo. Los resultados obtenidos en general sugieren que hubo daño genotóxico y efecto protector ante la DMN.

Las especies de *Ipomoea* como *fistulosa*, *asarifolia*, *cornea* y *violacea* contienen alcaloides derivados del ácido lisérgico y terpenos los cuales resultan ser tóxicos para ciertos animales como bovinos, ovinos, caprinos y conejos (Zeinsterger *et al.* 2003; Ríos *et al.* 2005).

De acuerdo con los reportes de los efectos tóxicos de las diversas especies de *Ipomoea* es posible que también presenten actividad genotóxica y/o antigenotóxica si fueran evaluadas con la SMART. La información obtenida con este sistema biológico de prueba sería relevante para verificar si los parámetros de genotoxicidad tienen una relación con los de toxicidad.

En este trabajo con *I. batatas* no se mostraron efectos tóxicos. Sin embargo en los resultados de genotoxicidad se observaron efectos importantes de daño en las alas de *D. melanogaster* para la SMART. Ambos análisis se complementan porque se recupera más información para discriminar los efectos reales de un agente que no necesariamente es tóxico para un organismo pero que si puede afectar la integridad de su información genética.

La SMART es confiable para medir sustancias con potencial genotóxico y antigenotóxico ya que se ha utilizado de manera recurrente y permite detectar un espectro amplio de mutaciones puntuales, deleciones, cierto tipo de aberraciones cromosómicas, así como también eventos de recombinación mitótica (Graf *et al.*, 1998)

Otros compuestos estudiados con esta metodología que han presentado actividad antigenotóxica son la clorofila y clorofilina, en los cuales se ha visto una reducción drástica de las manchas inducidas por 3-amio-1-methyl-5h-pyrido- [4,3-b] índole (Trp-P-2) (Negishi *et al.*, 1989). Abraham (1994) ha reportado que el café instantáneo al 2 % reduce de manera significativa la frecuencia de manchas inducidas por la ciclofosfamida, dietilnitrosamina, mitomicina C y uretano. El

selenio también ha presentado propiedades antígenotóxicas al reducir las tres categorías de manchas inducidas por el dicromato de potasio con esta metodología (Rizki *et al.* 2001). El ácido ascórbico y el catequin tienen un efecto protector contra los productos de la nitrosaminación de la metil urea con nitrato de sodio (Graf *et al.*, 1998).

La metodología SMART de *D. melanogaster* en este trabajo mostró ser versátil para la evaluación genotóxica y antígenotóxica *in vivo* y con flexibilidad en el diseño de los protocolos.

A futuro se podría estudiar que el daño no observado con algunos compuestos químicos en los cuales se producen una menor frecuencia de alteraciones, se debe a un alto nivel de toxicidad que provoca el retraso en la división celular o bien, la muerte de las células afectadas que no logran reparar el daño. Probablemente el principio activo de los compuestos ofrece sitios blancos en algunas moléculas indispensables para la sobrevivencia de las células.

8. CONCLUSIONES

1. La cocción de la raíz de *Ipomoea batatas* no resultó tóxica para *Drosophila melanogaster*.
2. Cuando es probada sola *Ipomoea batatas* no resultó genotóxica en las células de las alas de *Drosophila melanogaster*.
3. La *I. batatas* tiene actividad genotóxica cuando se combina con la actividad mutagénica de la Nitrosodimetilamina.
4. La cocción de *I. batatas* presenta actividad antimutagénica ante la DMN al disminuir el daño en las células de las alas de *D. melanogaster*.
5. La prueba de mutación somática y recombinación mitótica de *D. melanogaster* permitió detectar actividad genotóxica y antigenotóxica que presenta *I. batatas* por lo que esta metodología es destacable nuevamente para este tipo de estudios.

9. REFERENCIAS

- Abraham, S. K. 1994. Antigenotoxicity of coffee in the *Drosophila* assay for somatic mutation and recombination, *Mutagenesis* 9: 383-386.
- Aguilar C. 1982. Plantas toxicas de México, 1ra Ed, Instituto Mexicano del Seguro Social. México DF. 271 pp.
- Akerele O. 1993. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. *Foro Mundial de la Salud*, 14:390-395.
- Aldrich. 2006. Manual de productos químicos finos y equipo de laboratorio. México 2304pp.
- Anderson E.N., Cauich C.J., Dzib A., Flores G.S., Islebe G., Medina T.F. Sánchez S.O., y Valdez C.P. 2005. Las plantas de los Mayas, Etnobotánica en Quintana Roo, México. ECOSUR, México, 206pp.
- Arellano A. O. 2002. *Drosophila* como modelo *in vivo* para evaluar el potencial genotóxico de muestras ambientales. Los Azufres, Mich. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 51 p.
- Austin, D. F. 1987. The taxonomy, evolution and genetic diversity of the *Sweet potatoes* and related wild species. In: International Potato Center. Exploitation, maintenance, and utilization of *sweet potato* genetic resources. Report of the *Sweetpotato* Planning Conference, 27-59pp.
- Bilkin M. y Fitzgerrald D. B. 1952. Tumor-damaging capacity of plants materials. I. Plants used as cathartics. *J. Nat. Cancer. Ints.* 13:139-149p.
- Blair R. y Taylor R. 2008. Bioestadística. Pearson, Prentice Hall. México. 537pp Bonassi, S. y Au. W. W. 2002. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk predection. *Mutat. Res.* 511:73-86p.
- Brent B. 2000. La etnobiología de los recursos nutritivos en las comunidades Tzeltales en los Altos de Chiapas. El Colegio de la Frontera Sur, División de Conservación de la Biodiversidad. San Cristóbal de Las Casas, Chis, México.
- Castro C. Tulia Murcia TR., y Torrenegra R. 2006. Efectos citotóxicos *in vitro* de extractos y fracciones de *Espeletia killipii* Cuatr. Frente a líneas celulares tumorales humanos. *Rev Bras Farcogn* 16:12-16.
- Clark, A. M. 1982. The use of larval stages of *Drosophila* in screening for some naturally occurring mutagens, *Mutat. Res.*, 2:89-97.
- Collins Andrew R. 2005. Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *Euro J. Cancer* 41:1923-1930.
- Cragg. G.M., Nexman D.J. 1999. Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources. *Cancer Investig.* 2:153-63.
- Cullen, J. 2000. The European Garden Flora, A manual for the identification of plants cultivated in Europe, both out-of-doors and under glass. Dicotyledons (Part IV). Vol. VI. Cambridge University Press. Cambridge.

- De Flora S., y Ramel C., 1988. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. *Mutat. Res.*202: 285-306.
- De Flora S., 1998. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis, *Mutat. Res.* 402: 151-158.
- Delgado, R.A. 1990. Daño inducido por mutágenos positivos en células del ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 75 p.
- Doster A.R., Mitchell F.R, Farrel R.L, y Wilson B.J. 1978. Effects of 4-ipomeanol, a product from mold-damaged sweet potatoes on the bovine lung. *Vet. Pathol.* 15: 367-75.
- Doster A.R.,Farrel R.L, y Wilson B.J. 1983. An ultrastural study of bronchiolar lesions in rats induced by 4-ipomeanol, a product from mold-damaged Sweet Potatoes. *Vet. Pathol.* 111:56-61.
- Duke, J.A. and Wain, K. K. 1981. Medicinal plants of the world. 3 vols.
- Falzon Miriam, McMahon James B. Schuller Hildegard M. y Boyd Michael R. 1986. Metabolic Activation and Cytotoxicity of 4-Ipomeanol in Human Non-Small Cell Lung Cancer Lines. *Cancer Res.* 46: 3484-3489.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1994. El CIP Informe Anual del Centro Internacional de la Papa
- Ferguson Lynnette R., Karunasingh Nishi, y Philpott Martin. 2004. Epigenetic Events and Protection From Colon Cancer in New Zealand. *Environ. Mol. Mut.* 44:36-43.
- Figuera Rafael A., Daniela B. Rozza, José V. Piazer, Marina V. Copetti, Luiz F. Irigoyen e Claudio S.L. Barros. 2003. Pneumonia intersticial em bovinos associada a ingestao de batata-doce (*Ipomoea batatas*) mofada. *Pesq. Vet. Bras.* 23 (4):161-166.
- Frei H. y Wüglér. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Muta. Res.* 203:297-308.
- Frei H. y Wüglér. 1995. Optimal experimental desing and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila*. *Mutat. Dev. Bio,* 43: 1-23.
- Gilbert S. F. 2003. *Developmental Biology*. Sinauer Associates, INC., Publishers. USA. 838pp.
- González- Cesar E. y P. Ramos-Morales. 1997. Sodium azide induces mitotic recombination in *Drosophila melanogaster* larvae. *Mutation Research* 389: 157-165.
- Graf U, Abraham Suresh K., Guzman-Rincón Judith y Wüglér Friedrich E.1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research* 402; 203-209.
- Graf U., Wüglér F., Katz A., Frei H., Juon H., Hall C.y P. Kale. 1984. Somatic Mutation and
- Guan Yueqing, Ting Wu, Miao Lin, y Jiannong Ye. 2006. Determination of Pharmacologically Active Ingredients in Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) by Capillary Electrophoresis with Electrochemical Detection. *J. Agric. Food Chem.* 54: 24-28.
- Guillot Ortiz Daniel. 2006. *Ipomoea nil* (L.). Roth e *Ipomoea hederacea* (L.). Jacquin, Dos especies invasoras nuevas para la flora valenciana. *Acta Botánica Malacitana* 31. Valencia, España.
- Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 6:153-188.

- Halvorsen BL, Holte K, y Myhrstad MCW. 2001. A Systematic Screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* 132:461-471.
- Hartwell, J. L. 1967–1971. Plants used against cancer. A survey. *Lloydia* 30–34.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/2009>
- Huang PS, Oliff A. 2001. Drug-targeting strategies in cancer therapy. *Curr Opin Genet Dev.* 1:104-10.
- Klaassen C. D y John B. W. 2005. *Fundamentos de Toxicología*, McGraw-Hill Interamericana, Barcelona, 536 pp.
- Knaul. F. M. 2009. Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *Salud pública México.* vol.51, 2: 335-344.
- Konczak-Islam I., Yoshimoto M., Hou D., Terahara N., y Yamakawa O. 2003. Potential Chemopreventive Properties of Anthocyanin-Rich Aqueous Extracts from *In Vitro* Produced Tissue of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.). *J. Agric. Food Chem.* 51: 5916-5922.
- Krauss Jürgen, Unterreitmeier Doris, y Bracher Franz. 2006. Short and Effective Síntesis of a Trhiophene Analogue of (±)-4-Ipomeanol and Its Biological Evaluation. *Turk J. Chem.*, 30:451-454p.
- Larenas de la F. Verónica y Accatino L. Primo. 1994. Producción y uso de la batata o camote. Centro Internacional de la papa (CIP), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Serie la Platina N-58, Santiago, Chile, 44pp.
- Laza L. Rodríguez I. y Sardiña G., 2003 Descubrimiento y desarrollo de agentes cancerígenos derivados de plantas medicinales. *Rev. Cubana Plant. Med.* 8:3p.
- Levy Tacher Samuel I., Aguirre Rivera R., García Pérez J. y Martínez Romero M. 2006. Aspectos Florísticos de Lacanha Chansayab, Selva Lacandona, Chiapas. *Acta Botánica Mexicana*, número 077. Instituto de Ecología A.C. Patzcuaro, México. 69-98.
- Lindsley, D. y Grell E. 1968. The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic, Press, Inc. U.S.A. 471pp.
- Lindsley, D. y Zimm G. 1992. The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic, Press, Inc. U.S.A. 1133 pp.
- Ludvik B., Mahdjobian K., Waldhaeusl W., Hofer A., Prager R., Kautzky-Willer A. y Pacini G. 2002. The Effect of *Ipomoea batatas* (Caiapo) on Glucose Metabolism and Serum Cholesterol in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, V-25, N-1
- Martínez M. 1987. *Catalogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. FCE, México. 140pp.
- Martínez V. M. 1999. Determinación de la actividad genotóxica de dos plantas medicinales (*Thevetia thevetioides* y *Plantago major*), en la prueba somática de las alas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 58 p.
- Morita Kazuyoshi, Kada Tsuneo y Namiki Mitsuo. 1984. A desmutagenic factor isolated from burdock (*Arctium lappa* Linne). *Mutation Research*, 129:25-31.

- Muñoz H. A. 1997. Comparación del potencial aneuploidógeno de compuestos citostáticos en células de las alas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 110 p.
- Muñoz M. A. 1998. Comparación de la genotoxicidad de la resina obtenida de la raíz de tres especies del género *ipomoea*: *I. orizabensis*, *I. jalapa* e *I. purga*, mediante la prueba de mutación y recombinación somáticas de *D. melanogaster*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 151 p.
- Negishi. T., S. Arimoto, C. Nishizacki y H. Hayatsu. 1989. Inhibitory effect of chlorophyll on the genotoxicity of 3-amio-1-methyl-5h-pyrido- [4,3-b]indole (Trp-P-2). *Carcinogenesis*. 10:145-149.
- Nöthinger. 1970. Sucrose density separation: A method for collecting large number or *Drosophila* larvae. *Dros. Inf. Serv.* 45:177.
- O'Brien, P. J. 1972. The sweet potato: its origin and dispersal. *Amer. Anthropologist* 74: 343-365p.
- OMS. 1979. The Selection of Essential Drugs. WHO Technical Report Series 641: 1-44.
- Ordaz Téllez M. G. 1998. Caracterización de la actividad genotóxica del aminoácido azufrado taurina y algunos antagonistas mediante el empleo de células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 110 p.
- Ould R. I.; Hou D.; Komine S. y Fujii M. 2004. Potential Chemopreventive Properties of Extract from Baked Sweet Potato (*Ipomoea batatas* Lam. Cv. Koganesengan). *J. Agric. Food Chem.* 52: 7152-7157.
- Philpott M.; Gould K. S.; Lim C., y Ferguson L. R. 2004. *In Situ* and *In Vitro* Antioxidant Activity of Sweetpotato Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1511-1513.
- Ramel Claes. 1984. General environmental modifiers of carcinogenesis. *Acta Pharmacol Toxicol* (Copenh). 55 Suppl 2:181-96.
- Ramel Claes y Magnusson Jan. 1992. Modulation of genotoxicity in *Drosophila*, *Mutation Research*, 267:221-227.
- Ramos Morales P. 1994. Efectos Genotóxicos de Algunas Sales de Arsénico en *Drosophila melanogaster*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 142 p.
- Ramos Morales P., Abundis Manzano H., Gaytán Oyarzun J., Ordaz Téllez M., Orozco Soto P., Maldonado Luis J., Hernández Aranda J., González César E., Reyes Martínez P., Galicia Mendieta E., y Muñoz Moya A. 1993. Manual de laboratorio de genética para *Drosophila melanogaster*, Mc Graw Hill Interamericana, México, 131pp.
- Ramos Morales P., Ordaz M. G., Islas M. J., Rivas H., Dorantes A. y A. Ramírez. 1998. Genotoxicidad de azidas: Inducción de mutación y recombinación somáticas y efecto en la reparación del DNA, XI Taller Latinoamericano de Toxicología, La Habana Cuba, 21 al 22 de Noviembre.
- Reed, C.F. 1976. Information summaries on 1000 economic plants. Typescripts submitted to the USDA.

- Ríos, E. Belmonte, C. Rodríguez, C. Ortiz, L. Ciotti, E. M. Bogado, F. y Acosta de Pérez, O. 2005. Intoxicación con *Ipomoea fistulosa* (aguapeí, mandiyurá) en cabras. Efectos sobre el hemograma e ionograma. Rev. Vet. Argentina. 16: 21-24.
- Rizki M., S. Amrani, Creus A., N. Xamena, y R. Marcos. 2001. Antigenotoxic Properties of Selenium: Studies in the Wing Spot Test in *Drosophila*. Environ Mol Mutagen 37:70-75.
- Rogers, D. J. 1963. Studies of *Manihot esculenta* Crantz and related species. Bulletin of the Torrey Botanical Club, Vol. 90 (1): 43-54.
- Russell P.J. 1998. Genetics. Benjamin/Cummings. 805 pp.
- Spano Mario A. y Graf Ulrich. 1998. Second workshop at the federal university of Uberlandia-Uberlandia MG- Brazil SMART. A method for the detection of mutagenic and recombinogenic activity in somatic cells of *Drosophila*. Rev. Int. Contam. Ambient. 14 : 111-114.
- Timbrell John A. 2002. Introduction to Toxicology, 3 Ed. CRC press, USA 215 p.
- Vargas Rojas Mateo. 1997. Caracterización botánica del camote (*Ipomoea batatas* Lam.). Instituto de Investigaciones Agrícola "El Vallecito". Bolivia.
- Vavilov, N. I. 1951. Estudios sobre el origen de las plantas cultivadas. Es. Buenos Aires, Argentina. Acme Agency. 185 pp.
- Vogel, E. W. 1987. Evaluation of potential mammalian genotoxins using *Drosophila*: the need for change in test strategy. Mutagenesis, 2:161-171.
- Vogel E. W. 1991. Genotoxic chemicals: An introduction into basic principles of genetic toxicology. Laboratorium voor Stralengenetica en Chemische Mutagenese, RU Leiden Sylvius Laboratoria. 66.
- Vogel E.W. 1992. Tests for recombinagens in somatic cells of *Drosophila*. Mutat Res. 1:284 (1)159-75. Review.
- Weimer Richard C. 2005. Estadística, 1^{era} Ed. Compañía Editorial Continental, México.
- Yen, D. E. 1974. The sweet potato and Oceania, an essay in ethnobotany. Honolulu (USA), Bishop Museum Press. 389.
- Yoshimoto, M., Okuno, S., Kamagai, T., Yoshinaga, M., Yamakawa, O., Yamaguchi, M., y Yamada, J. 1999. Antimutagenicity of sweetpotatao (*Ipomoea batatas*) roots. Biosci. Biotechnol. Biochem., 63: 537-541.
- Zeinsteger, Pedro A. Romero, Alejandro, Montenegro, María Ríos, Elvio, Acosta de Perez , Ofelia C. Jorge y Nelly L.. 2003. Toxicidad de la planta *Ipomoea fistulosa* (aguapeí o mandiyurá) en ratones. Estudio preliminar. Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen V.018. Argentina.