

38  
25



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**“DETECCION DE ALGUNOS EFECTOS  
REPROTOXICOS Y METABOLICOS  
PRODUCIDOS POR LOS HERBICIDAS  
ORDRAM Y SUTAN EN RATONES  
BLANCOS SUIZOS CFW”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**PRESENTA:  
LUIS EDUARDO LOPEZ ORDUÑA**

**ASESOR:  
DRA. GILDA FLORES ROSALES**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**1999**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

274969



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS  
U. N. A. M.

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



Departamento de  
Exámenes Profesionales

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Detección de algunos efectos reprotóxicos y metabólicos producidos por los  
herbicidas ORDRAM y SUTAN en ratones blancos suizos CFW.

que presenta el pasante: Luis Eduardo López Orduña  
con número de cuenta: 9352554-1 para obtener el TITULO de:  
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 29 de enero de 199 9.

PRESIDENTE Dra. Gilda Flores Rosales

VOCAL QFB. Leticia Zúñiga Ramírez

SECRETARIO M. en C. Sandra Díaz Barriga Arceo

PRIMER SUPLENTE QFB. Ma. Virginia Oliva Arellano

SEGUNDO SUPLENTE QFB. Rosalba Bonilla Sánchez

*[Firma de Dra. Gilda Flores Rosales]*  
*[Firma de Leticia Zúñiga Ramírez]*  
*[Firma de Sandra Díaz Barriga Arceo]*  
*[Firma de Virginia Oliva Arellano]*  
*[Firma de Rosalba Bonilla Sánchez]*

***DEDICATORIAS***

## *DEDICATORIAS*

A mis padres Rodolfo y Estela, por todo el cariño, consejos y ejemplo, agradeciendo el apoyo que siempre me han brindado y por haberme dado la oportunidad de forjarme como profesionalista y ser humano.

A mis hermanos Sol, Alberto y Adriana por los momentos compartidos.

A mis tíos Fritz e Irma por todo su apoyo y cariño.

## ***AGRADECIMIENTOS***

## *AGRADECIMIENTOS*

A la Dra. Gilda Flores mi directora de tesis, las más infinitas gracias por ser mi guía, por todos sus consejos y enseñanzas que me han dejado una sólida formación académica permitiéndome encontrar mi camino a nivel profesional; gracias también por todas las oportunidades brindadas, por estimular mi sentido de superación y por su apoyo, paciencia y amistad.

A la M.C. Sandra Díaz, gracias por ayudarme a descubrir y desarrollar mis habilidades en el ámbito de la Genética Clínica.

A la profesora Guadalupe Sevilla, gracias por su invaluable ayuda en la revisión y corrección del análisis estadístico del presente trabajo.

A mis sinodales: QFI. Leticia Zúñiga, QFB. Rosalba Bonilla y QFB. Virginia Oliva, por la atención y consejos brindados durante la revisión de este trabajo.

A Luis Benjamín, gracias por media vida de amistad.

A Nayeli Nava, por tu amistad, cariño y por tu forma de ser y ver la vida, muchas gracias.

A mis amigos de la FESC, Carolina Romo, Minerva Cruz, Araceli Zarazúa, Miriam López, Juanita Guerrero, Ricardo Jiménez, Arturo Oros, gracias por su amistad, su apoyo y por todos los momentos compartidos.

A Nydia y Omar, por haber hecho tan grata mi estancia en Genética.

A mis compañeros de Genética y Biología Molecular: Ana Gallegos, Marcia Bustamante, Jorge Pradel, Arturo Enriquez y Mario Guapillo, gracias por su amistad.

## INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. HIPOTESIS</b>	3
<b>III. OBJETIVOS</b>	4
<b>IV. GENERALIDADES</b>	5
1. Definiciones	6
2. Los herbicidas como contaminantes ambientales	9
3. Clasificación de los herbicidas	11
4. Herbicidas tiocarbamatos: Ordram y Sutan	12
5. Toxicología y Patología producida por los herbicidas tiocarbamatos Ordram y Sutan	18
<b>V. MATERIAL Y METODOS</b>	23
1. Diagrama de trabajo	23
2. Materiales	24
3. Métodos	27
<b>VI. RESULTADOS</b>	29
1. Alimento	30
2. Cruzas	30
3. Tiempo de tratamiento	33
4. Variación de peso	33
5. Tiempo de gestación	36
6. Nacimientos	36
7. Concentraciones enzimáticas	39
<b>VII. DISCUSION</b>	68
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	71
<b>IX. BIBLIOGRAFIA</b>	72

# *INTRODUCCION*

## INTRODUCCION

Durante el último siglo la incidencia de algunas enfermedades como el cáncer en el ser humano, se ha visto considerablemente aumentada, debido principalmente a factores de tipo ambiental. El aumento de la contaminación ambiental se ha extendido desde que dio inicio la Revolución Industrial, pero en la actualidad se haya en un punto máximo con los consecuentes estragos en la naturaleza manifestándose como un desequilibrio a nivel ecológico y por ende en la salud del hombre mismo.

El hombre en su afán de lograr un incremento en la producción agrícola implementó el uso de productos químicos para tratar los diversos cultivos, con la finalidad de contrarrestar los efectos nocivos de plagas animales, insectos y de hierbas perjudiciales.

El desarrollo de éste tipo de hierbas en los terrenos de cultivo origina diversos problemas como lo son la competencia por los nutrientes del suelo, la disminución en la producción de los cultivos de consumo humano y animal, dificultades en el trabajo de preparación, siembra y cosecha de los terrenos, y de manera general limitan la producción agrícola y repercuten considerablemente en la economía. Por éstas y muchas otras razones el uso de los herbicidas se impuso como una de las operaciones más necesarias para conseguir cosechas más estables y de alto rendimiento, extendiéndose y generalizándose en las últimas décadas a partir de su uso en países agrícolas de técnica avanzada como Inglaterra y U.S.A., hasta alcanzar al resto de los países del mundo.

Hacia 1949, sólo se usaban algunos herbicidas inorgánicos de acción por contacto, en base oleosa, con la finalidad de eliminar hierbas comunes de los terrenos de cultivo de un modo general. Los productos más frecuentemente empleados con este objetivo eran el clorato sódico, el arsenato sódico y el bórax. Sin embargo el aumento de la población a nivel mundial hizo más urgente la necesidad de contar con mayores extensiones de cultivo para incrementar la producción de alimentos, con ello surge una importante rama industrial de la Química que se dedica a la producción de Herbicidas e Insecticidas para uso agropecuario.

La aparición de una gran variedad de compuestos químicos, a partir de la postguerra (la década de los cincuentas a nuestros días), al mismo tiempo que han cumplido con su objetivo de ser eficientes controladores de plagas, también han generado riesgos para la salud del hombre y de los diferentes ecosistemas en general, debido al uso inmoderado de los mismos. Esto se debió en gran medida a que se pensaba que los diversos agentes químicos como los pesticidas, desaparecían del medio ambiente en un lapso de tiempo relativamente corto, cuando en realidad lo que sucede es una dilución de los mismos por toda la biosfera o bien su acumulación y deposición en los mantos freáticos y suelo en general, formando de esta manera depósitos de una toxicidad elevada (Kearney, 1975; Hayes, 1991).

El problema presentado por los residuos de desechos tóxicos, y en especial de los pesticidas, radica principalmente en su difícil o nula degradación, así como también su larga permanencia y acumulación tóxica en el medio ambiente, con la consecuente entrada en las cadenas biológicas y su desequilibrio.

Dadas estas características, es posible que residuos de los diversos pesticidas empleados en la agricultura lleguen al hombre y los animales por medio de la ingestión de alimentos o agua, principalmente, sin descartar por ello otras formas relacionadas con la exposición del ser humano a la fuente contaminante.

Se ha observado que los herbicidas en la mayoría de las ocasiones no muestran un efecto inmediato sobre la salud del hombre o de los animales a las concentraciones normalmente encontradas en el medio ambiente, sin embargo se ha encontrado que a largo plazo y a través de exposiciones continuas, se llegan a presentar diversas alteraciones fisiológicas, metabólicas y genéticas, dada la alta toxicidad que presentan estos productos (Ellenhorn, 1988; Cochran 1997). Los daños causados por los herbicidas o por cualquier otro producto químico son difíciles de evaluar en el hombre, sobretodo de una forma temprana antes de que las alteraciones se presenten, es por ello que se hace necesario el contar con modelos experimentales biológicos que permitan proporcionar un monitoreo adecuado de los daños que pueden ocurrir y sobretodo el contar no sólo con los modelos sino también las técnicas que permitan la detección temprana de toxicidad, para de ésta forma tener evidencias directas que permitan tomar las medidas preventivas y correctivas necesarias para evitar se agudice el desequilibrio en un ecosistema, en la salud de individuos de riesgo, o bien evitar por completo que se presente un problema de salud a nivel poblacional (Ostrosky, 1994; Ballantyne, 1992).

## ***HIPOTESIS***

## **HIPOTESIS**

La exposición prolongada a través de varias generaciones de individuos (ratones suizos CFW) a los agentes químicos de tipo tiocarbámico (Butilato y Molinato), podrían presentar alteraciones a nivel reproductivo (reprotoxicidad) y metabólico (hepatotoxicidad), provocando una disminución en el número de nacimientos, así como en la salud de los nuevos individuos provenientes de progenitores con antecedentes de exposición crónica.

## ***OBJETIVOS***

## OBJETIVOS

### Objetivo General:

“Demostrar experimentalmente que los herbicidas de tipo carbamato, Ordram y Sutan, pueden causar daños a nivel metabólico en ratones blancos suizos CFW disminuyendo su capacidad reproductiva y alterando diversos biomarcadores (enzimas)”.

### Objetivos Particulares:

- Emplear como modelo biológico ratones suizos CFW para evaluar la toxicidad de molinato (Ordram<sup>MR</sup>) y butilato (Sutan<sup>MR</sup>), causada por una bioacumulación.
- Evaluar las alteraciones metabólicas por medio de la medición de dos parámetros biológicos principales: actividad enzimática (detección en suero) y fertilidad (por los métodos de valoración de fertilidad).
- Establecer una relación entre las alteraciones metabólicas, así como la disminución en la fertilidad, con los signos clínicos observados debidos a una exposición crónica a dichos agentes.

## ***GENERALIDADES***

## GENERALIDADES

La necesidad de controlar el crecimiento de las denominadas "malas hierbas" o hierbas adventicias con productos químicos no es nueva; desde finales del siglo pasado diversos productos químicos se han empleado para lograr el control total de estas (Barbera, 1989; Cremlym, 1995).

Productos químicos en crudo, como la sal gema, minerales arsenicales, creosota, desechos oleosos, ácido sulfúrico y sales de cobre, fueron empleados en cantidades muy grandes desde principios del siglo XX con la finalidad de controlar y erradicar las plantas dañinas que obstaculizaban el crecimiento de los cultivos para alimentación humana y animal. Sin embargo estas condiciones extremas para tratar el problema lo hicieron más grande, ya que estos productos químicos eliminaban a todo tipo de plantas, por lo cual se requirió entonces contar con productos químicos que eliminaran selectivamente las malezas, pero que no dañaran a los sembradíos (Parry 1987, Barbera 1989, Bunyan 1989).

El primer descubrimiento importante en el campo del control selectivo de malas hierbas se llevó a cabo en Francia en el año de 1933 (Barbera 1989) con la introducción del 2,4-dinitro-*o*-cresol (DNOC o Sinox). Este y otros compuestos dinitrados junto a la producción de compuestos clorados como el DDT, para el control de plagas de insectos, desempeñaron un papel muy importante en el aumento de la producción de alimentos después de la segunda Guerra Mundial (Barbera 1989).

El empleo de los nuevos pesticidas (herbicidas e insecticidas) se generalizó enormemente, esto se debió en gran medida a que se pensaba que los diversos agentes químicos empleados para el control de plagas (hierbas e insectos), desaparecían del medio ambiente en un lapso de tiempo relativamente corto, cuando en realidad lo que sucede es una dilución de los mismos por toda la biosfera (dependiendo de su volatilidad y de su modo de aplicación) o bien su acumulación y deposición en los mantos freáticos y suelo en general, formando de esta manera depósitos de una toxicidad elevada, para después integrarse a las cadenas alimenticias (Villarias 1981, Parry 1987). De esta forma el problema presentado por los residuos de desechos tóxicos, y en especial de los pesticidas, radica principalmente en su difícil o nula degradación, así como también en su larga permanencia y acumulación tóxica en el medio ambiente. Dadas estas características, es posible que residuos de los diversos pesticidas empleados en la agricultura lleguen al hombre y los animales por medio de la ingestión de alimentos (cereales, frutas etc.) o agua principalmente, sin descartar por ello otras formas relacionadas con la exposición del ser humano a la fuente contaminante, tal como lo están los trabajadores que deben manejar los depósitos de dichos agentes y encargarse de su aplicación (Stephenson 1988, Bohmont 1990, Hayes y Laws 1991).

Se ha observado que los herbicidas en la mayoría de las ocasiones no muestran un efecto inmediato sobre la salud del hombre o de los animales a las concentraciones normalmente encontradas en el medio ambiente, sin embargo se ha encontrado que a largo plazo y a través de exposiciones continuas o bien por acumulación en los suelos o mantos freáticos es posible aumentar su concentración, llegando a presentarse diversas alteraciones fisiológicas, metabólicas y genéticas, dada la alta toxicidad que presentan estos productos, lo cual los convierte en contaminantes ambientales (Cochran, Formoli et al. 1997).

## 1. DEFINICIONES

### **Contaminante Ambiental**

Un contaminante ambiental es aquel agente químico, físico o biológico que produce efectos nocivos sobre los organismos vivos, y cuya incidencia sobre los mismos puede ser de una manera directa, indirecta o casual (Woodweil, 1988; Bohmont, 1990; Hayes y Laws, 1991).

### **Biomarcadores**

Son macromoléculas (DNA, RNA, enzimas, proteínas, etc.) ó células, que sirven de indicadores de toxicidad temprana, en organismos vivos expuestos a xenobióticos. De acuerdo a los eventos que los alteran se les clasifica en tres grandes grupos: los biomarcadores de exposición, los de efecto y los de susceptibilidad. Los primeros permiten medir de forma directa o indirecta la concentración del xenobiótico o de sus metabolitos en líquidos biológicos. Los segundos permiten determinar cambios fisiológicos, bioquímicos y genéticos causados por el xenobiótico; y los terceros permiten detectar una interacción especial entre el xenobiótico y el organismo, siempre y cuando éste sea susceptible.

Los biomarcadores de efecto se han propuesto como indicadores tempranos de un daño al organismo en sus fases iniciales (ver figura 1), los cuales llegan a ser reversibles, permitiendo así, evitar un desenlace patológico en poblaciones de riesgo. Los más propuestos a ser empleados por la toxicología son: las aberraciones cromosómicas, el intercambio de cromátides hermanas,

los micronúcleos, las mutaciones génicas y la expresión de productos génicos alterados, los niveles de actividad enzimática y alteraciones metabólicas, el índice mitótico y la cinética de proliferación celular, entre otros (National Research Council, 1989; Ostrosky, 1994).

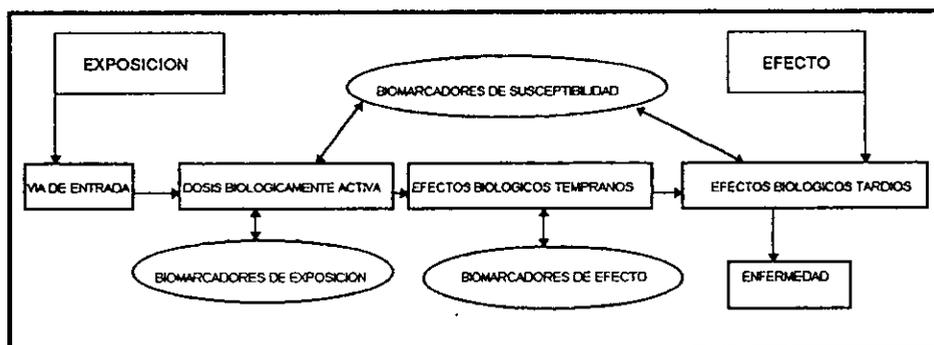


Figura 1; Diagrama de flujo donde se muestran los puntos en donde los biomarcadores son útiles en la detección temprana de toxicidad (modificado de Ostrosky, P. 1994, Gaceta Médica de México, Vol 130. p. 433).

### Estudio Crónico a través de Generaciones

De acuerdo con Ged y Chengellis (1992), se trata de un estudio a largo plazo donde se prueba la toxicidad asociada a una administración durante un lapso de tiempo prolongado (de 26 semanas a 2 años) de una o varias dosis altas, pero que no llegan a causar la muerte, siendo administrados por la vía esperada para la exposición a dicho agente en el ser humano. El estudio conocido bajo el nombre de las Tres Generaciones (Lehman, 1949; Cohlan, 1953; FDA Advisory Committee 1970; Dixon, 1985; Hayes y Laws, 1991; Ged y Chengelis, 1992; Scialli y Clegg 1992), es uno de los diseños experimentales más empleados en toxicología ya que es probablemente el que más parámetros toxicológicos permite evaluar, así como la mayor cantidad de datos Bioquímicos, Toxicocinéticos y Genéticos de una sustancia de prueba. De ésta prueba existen diversas variantes, de acuerdo al tiempo y número de generaciones en las que se desee observar el efecto del agente tóxico, pudiendo restringirse a dos generaciones o bien llevarse a seis o más generaciones, aunque el número más aceptado son tres generaciones de individuos (Hayes y Laws, 1991; Ged y Chengelis, 1992; Scialli y Clegg 1992).

## Toxicidad y niveles de Toxicidad

Es el potencial que tiene cualquier sustancia o materia para producir una alteración o daño en sistemas biológicos. También se emplea dicha palabra para describir la naturaleza de los efectos adversos o tóxicos inducidos en sistemas biológicos bajo condiciones determinadas.

Los niveles de toxicidad se clasifican de acuerdo a 3 escalas generales que son la escala Biológica, la de tiempo-sitio y la de desarrollo duración.

CUADRO 1: CLASIFICACION DE LOS NIVELES DE TOXICIDAD	
ESCALA	SUBDIVISION
BIOLOGICA	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Organismo,</li> <li>2. Aparato-Sistema,</li> <li>3. Órgano,</li> <li>4. Tejido,</li> <li>5. Célula,</li> <li>6. Macromolecular</li> </ol>
TIEMPO -SITIO	<ol style="list-style-type: none"> <li>I. Agudo               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Local</li> <li>• Sistémico</li> <li>• Combinado</li> </ul> </li> <li>II. Corto Término               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Local</li> <li>• Sistémico</li> <li>• Combinado</li> </ul> </li> <li>III. Crónico               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Local</li> <li>• Sistémico</li> <li>• Combinado</li> </ul> </li> </ol>
DESARROLLO-DURACION	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Persistente</li> <li>• Latente</li> <li>• Acumulado</li> </ul>

Modificado de: Ballantyne, B. 1993. General & Applied Toxicology. Stockton Press, U.K.

## Naturaleza de los Efectos Tóxicos

Hace referencia a la magnitud y fuente de los efectos tóxicos causados por una sustancia, en función de factores tales como: las propiedades fisicoquímicas de la sustancia, las condiciones de exposición por parte del organismo, así como la biotransformación y mecanismos de bioprotección con los cuales cuenta el organismo afectado. De éstos factores dependerá el daño o efecto, pudiendo ir desde una respuesta fisiológica extrema, la aberración o alteración de vías metabólicas hasta la degeneración y muerte del organismo (Ballantyne, 1993).

## 2. LOS HERBICIDAS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES

Los herbicidas son productos químicos destinados a destruir las plantas adventicias que entorpecen el libre desarrollo de los cultivos y cuyos daños a la agricultura se pueden dividir en cuatro grupos principales (Barbera, 1989):

1. Competencia: Las plantas adventicias (malesas o bien "malas hierbas") aprovechan más rápidamente los nutrientes del suelo que debieran ser aprovechados por el cultivo.
2. Contaminación: Los granos de las cosechas se contaminan con semillas de las plantas adventicias, disminuyendo e incluso anulando su valor para usarse en una siembra posterior o para su venta.
3. Entorpecimiento: Dificultan las labores habituales en los campos de cultivo.
4. Hospederos: Resultan ser hospederos temporales de plagas y enfermedades que pasan luego a los cultivos.

La aplicación, en distintas formas, de los avances tecnológicos y científicos al área agrícola han sido responsables del éxito en el aumento en la producción de alimentos, pero también han producido resultados inesperados y no deseados. Para lograr el avance en la producción agrícola se requirió del empleo y liberación al medio ambiente de muchas sustancias químicas para controlar diversas plagas animales o vegetales, sin tomar en cuenta la producción de desechos que contaminarían desde el suelo, al agua y el aire, hasta incluso las mismas cosechas (Woodwell, 1987; Stephenson, 1988; Bohmont, 1990 y Cochran, 1997).

Más de un centenar de sustancias químicas activas diferentes se encuentran aún en uso en Europa y los Estados Unidos (Villarias, 1981; Barbera, 1989; Bohmont, 1990; Cremlym, 1995 y Cochran, 1997) para el control de hierbas adventicias, todas ellas aunque han sido probadas por las comisiones de Regulación (RTECS: 1989-1997 Registry of the Toxic Effects of Chemical Substances. National Institute for Occupational Safety and Health, Atlanta, Georgia, E.U.) siguen presentando una alta resistencia a su biodegradación y constituyen de ésta manera un foco de contaminación ambiental de toxicidad considerable para el hombre y especies animales.

El espectro de control que provee un herbicida contra las plantas adventicias es inherente a sus propiedades químicas y actividad biológica. Dada la evidente diferencia entre los animales y los vegetales, los herbicidas actuales se han caracterizado por ser sustancias con una elevada toxicidad para las plantas y una baja toxicidad para los animales, en especial para los mamíferos. Sin embargo dentro de los herbicidas podemos encontrar también varias sustancias igualmente tóxicas para ambos, tal es el caso de los químicos Paraquat y Undergo (Amdur, 1991), que al

ser rápidamente metabolizados producen superóxidos, los cuales son responsables de la alta toxicidad tanto para plantas como para los mamíferos; aunque el punto de acción sea diferente, ya que para los primeros involucra al proceso celular conocido como fotosíntesis y en los segundos a las membranas de células epiteliales (Hayes y Laws, 1991; Amdur,1991; Cremlym,1995). Es por ello que la tendencia existente en la actualidad es la de crear agentes mucho más selectivos que presenten una significativa menor o nula toxicidad para los mamíferos y una mayor y específica fitotoxicidad contra las plantas adventicias.

### 3. CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS

Existen diferentes parámetros por medio de los cuales se pueden clasificar a los herbicidas, sin embargo existen cinco clasificaciones que son las más apropiadas para manejar las sustancias empleadas para el control de plantas indeseables (Villarias,1981;Barbera, 1989; Bohomont, 1990) estas clasificaciones son las siguientes:

#### A. Por su Selectividad:

- Selectivos: cuando no afectan a las plantas en cultivo
- Totales: cuando su acción afecta a todo tipo de vegetales

#### B. Por el Sistema de Aplicación:

- Foliare: cuando se aplican directamente a las hojas
- Residuales o de Superficie: si se aplican al suelo a cultivar
- Mixta: cuando posee ambas características de uso

#### C. Por su Modo de Acción:

- Residuales: cuando afectan a la planta a través de su sistema radicular
- De Contacto. cuando la fitotoxicidad afecta directamente sobre sus partes aéreas
- De Traslocación: cuando el herbicida es absorbido por el sistema radicular o foliar para ejercer su fitotoxicidad en toda la planta
- Geoesterilizantes: cuando impiden la germinación de las semillas
- Combinados: cuando presentan dos o más formas de acción en si mismos

## D. Por su Epoca de Aplicación:

- Presiembra: cuando se aplica antes de plantar la semilla de la planta a cultivar
- Preemergencia: cuando se aplica después de sembrar y antes de que nazca el cultivo
- Postemergencia: cuando se aplica después de que nazcan las plantas

## E. Por sus Propiedades Químicas:

CUADRO 2: CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS EN GRUPOS DE ACUERDO A SUS MOLÉCULAS QUÍMICAS BASE	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compuestos Inorgánicos:               <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ AMS</li> <li>⇒ Boron</li> <li>⇒ Sulfato de Cobre</li> <li>⇒ Cloruro de Sodio</li> </ul> </li> <li>• Compuestos Orgánicos:               <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ Acetanilidas:                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Metolaclor (Dual®)</li> <li>• Butaclor (Machette®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Ácidos del tipo Alifáticos-Halogenados                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dalapon (Dowpon®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Arsenicales Orgánicos</li> <li>⇒ Amidas Sustituidas                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alaclor (Lasso®)</li> <li>• Bensulfide (Betasan®)</li> <li>• Propaclor (Ramrod®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Aminoácidos:                   <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ Glifosate (Roundup®)</li> <li>⇒ Ácidos Benzóicos:                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dicamba (Banvel®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Benzonitrilos:                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diclóbenil (Casoron®)</li> <li>• Bromoxynil (Brominal®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Carbamatos:                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Clorprofam (Chloro-IPC®)</li> <li>• Barban (Carbyne®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Carbamílatos                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenedifam (Betanac®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Dinitroanilinas                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Benefin (Balan®)</li> <li>• Trifluralin (Treflan®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Difenílos (éteres)                       <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acifluorfen (Blazer®)</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diclótop-Metil (Hoelon®)</li> <li>⇒ Dipiridilos               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diquat (diquat®)</li> <li>• Paraquat (Paraquat®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Imidazolinonas               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Arsenal®</li> <li>• Asser®</li> <li>• Scepter®</li> </ul> </li> <li>⇒ Fenoles               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dinoseb (Sinox®)</li> <li>⇒ Fenoxidos (derivados)                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2,4-D</li> <li>• MCPA</li> <li>• MCPB</li> <li>• Silvex®</li> </ul> </li> <li>⇒ Fenilos (éteres)                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nitrofen (TOK®)</li> <li>• Bifenox (Modown®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Piridinas                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Picloram (Tordon®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Piridazolinonas                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pirazon (Pyramin®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Sulfonamidas                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Clorsulfuron (Glean®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Tiocarbamatos                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Butilato (Sutan®)</li> <li>• Molnato (Ordram®)</li> <li>• Vermolato (Vernam®)</li> </ul> </li> <li>⇒ Triazinas                   <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ Triazoles                       <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ Uraclios                           <ul style="list-style-type: none"> <li>⇒ Ureas</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

#### 4. HERBICIDAS TIOCARBAMATOS: ORDRAM® Y SUTAN®

Los herbicidas pertenecientes a este grupo químico son derivados del ácido carbámico ( $\text{NH}_2\text{COOH}$ ). Dentro de éste grupo se pueden encontrar también a los tiocarbamatos y a los ditiocarbamatos, a cuyos ácidos se asignan las fórmulas estructurales siguientes:

$\text{HO-OC-NH}_2$   
carbámico

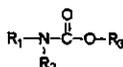
$\text{HS-OC-NH}_2$   
tiocarbamato

$\text{HS-SN-NH}_2$   
ditiocarbamato

De éstos ácidos se conocen sus respectivas sales y ésteres, los cuales son obtenidos por sustitución del H de los grupos -OH y -SH por radicales orgánicos ( Villarias,1981;Barbera, 1989; Cremlym, 1995), además los H del grupo amino  $\text{NH}_2$  se sustituyen también total o parcialmente por radicales orgánicos (ver cuadros 3-5).

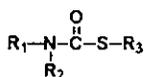
La actividad biológica de los carbamatos y tiocarbamatos se encuentra principalmente dada por su acción como insecticidas, fungicidas y desinfectantes de suelos (Woodweil,1988; Barbera, 1989; Bohmont, 1990; Hayes y Laws,1991) así como fitotóxicos o herbicidas. Las diferencias estructurales que se encuentran entre los carbamatos herbicidas y los carbamatos insecticidas, estriban en que, mientras los insecticidas suelen ser, en su mayoría, alquilcarbamatos, los herbicidas suelen ser predominantemente, arilcarbamatos. Sin embargo estas diferencias no pueden tomarse de manera tajante, pues hay insecticidas carbámicos con estructura de arilcarbamato y herbicidas alquilcarbámicos como por ejemplo el Terbutol ( Barbera, 1989; Hayes y Laws, 1991; Cremlym, 1995).

Cuadro 3: FÓRMULA GENERAL Y RADICALES DE ALGUNOS HERBICIDAS DEL TIPO DE LOS CARBAMATOS



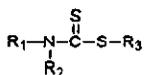
EJEMPLOS	SUSTITUYENTE R1	SUSTITUYENTE R2	SUSTITUYENTE R3
Asutam	H-	$\text{NH}_2$ -  - $\text{SO}_2$ -	$\text{CH}_3$ -
Barban	H-		$-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2\text{Cl}$
Carbetamida	H-		$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CONH}-\text{CH}_2\text{CH}_3$

CUADRO 4: FÓRMULA GENERAL Y RADICALES DE ALGUNOS HERBICIDAS DEL TIPO DE LOS TIOCARBAMATOS



EJEMPLOS	SUSTITUYENTE R1	SUSTITUYENTE R2	SUSTITUYENTE R3
Butilato	(CH <sub>3</sub> )-CH-CH <sub>2</sub> -	(CH <sub>3</sub> )-CH-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
Molinato	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
Vernolato	CH <sub>2</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	-CH(CH <sub>3</sub> )-CONH-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

CUADRO 5: FÓRMULA GENERAL Y RADICALES DE ALGUNOS HERBICIDAS DEL TIPO DE LOS DITIOCARBAMATOS



EJEMPLOS	SUSTITUYENTE R1	SUSTITUYENTE R2	SUSTITUYENTE R3
Metam	CH <sub>2</sub> -	H-	-Na
Sulfalato	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>2</sub> -CCl=CH <sub>2</sub>

Los herbicidas arilcarbámicos fueron introducidos en el año de 1946 con la finalidad de combatir malas hierbas del tipo de las monocotiledóneas, como los son los pastos, así como también a las gramíneas. Su penetración se efectúa normalmente a través de las raíces, pero no es el único camino de entrada, ya que se pueden absorber por los cotiledones, coleoptilos y por las hojas de las plantas jóvenes, es decir cuando se encuentren en estado de plántula. Su acción sobre las plantas por lo tanto lo ejercen de forma residual y son generalmente de tipo selectivo ( Ashton y Crafts, 1981; Villarias, 1981; Barbera, 1989; Cremlym, 1995).

La fitoacción de éstos tipos de herbicidas es por medio del bloqueo de la división celular, provocando una hipertrofia de las raíces, también suelen interferir en la reacción de Hill (ver figura 3), de tal manera que al interrumpir el ciclo de la fotosíntesis cesa la asimilación de gas carbónico, y por tanto la formación de hidratos de carbono. Así mismo inhiben la fosforilación oxidativa, la síntesis del RNA y de las proteínas (Cremlym, 1995).

Ashton y colaboradores estudiaron los procesos metabólicos disturbados por los herbicidas tiocarbámicos, demostrando que inhiben en un 52% la síntesis de lípidos, en un 28% la síntesis de RNA, la fotosíntesis en un 21%, la síntesis proteica en un 13% y la respiración en un 4%. Estos porcentajes varían de herbicida a herbicida y se ha observado que decrece su actividad fitotóxica con la prolongación de la cadena unida al oxígeno, o sustituyente R3 (Ashton y Crafts, 1981; Villarias, 1981; Barbera, 1989; Cremlym, 1995).

El metabolismo de los herbicidas carbámicos dentro de las plantas no está totalmente aclarado para Sutan®, pero se sabe que de manera general son transformados a conjugados de compuestos solubles o bien son hidrolizados. En el caso del herbicida Ordram, las rutas de transformación se encuentran ya totalmente aclaradas (ver figura 2), tanto en las plantas, como en los sedimentos terrestres y en el ecosistema existente en los campos de arroz (Mabury, Cox y Crosby, 1996). La resistencia de las plantas adventicias a éste tipo de herbicidas puede deberse en gran manera a la rapidez de su crecimiento, lo cual les obliga a mantener un metabolismo más acelerado capaz de desechar los compuestos conjugados de la molécula original del herbicida antes de que ésta lleve a cabo su efecto tóxico (Barbera, 1989; Cremlym, 1995).

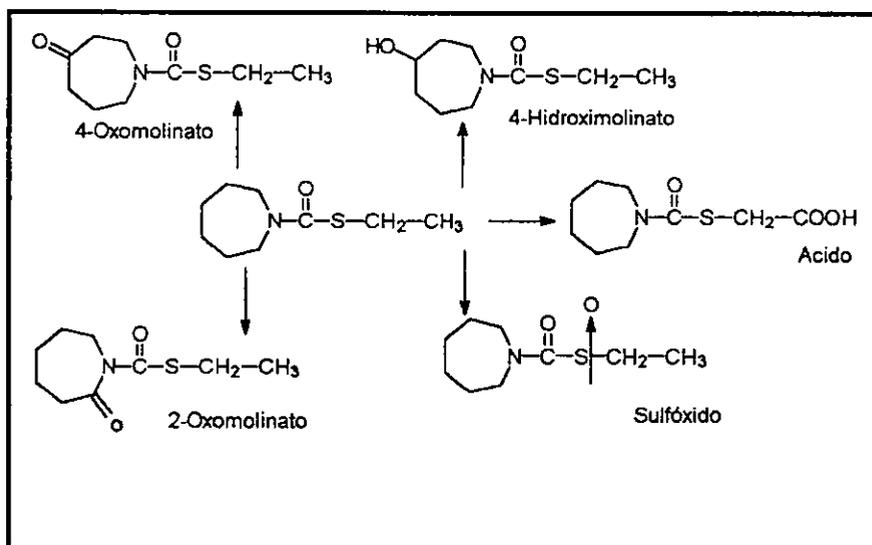
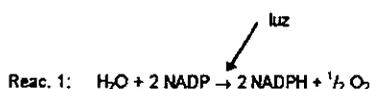


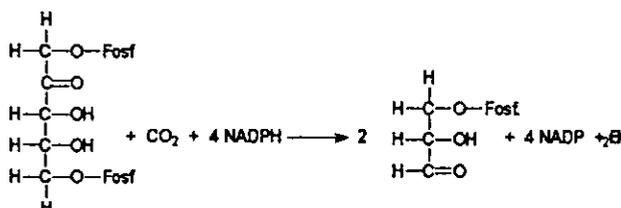
Figura 2: Rutas metabólicas del molinato (Ordram) en el ecosistema de existente en una plantación de arroz.

(Modificado de Mabury y Cox, 1996)

El ciclo de la fotosíntesis tiene lugar en dos etapas, una luminica y otra de oscuridad. Durante la luminica es indispensable la acción de la luz y la acción de los cloroplastos para que se efectúe la reacción principal:



En la fase oscura, la cual transcurre en ausencia de luz, el anhídrido carbónico se fija al difosfato de ribosa, que se separa en dos moles de gliceraldehído; el hidrógeno necesario lo aporta el NADPH formada durante la fase luminica:



Los herbicidas que interfieren con la fotosíntesis, generalmente inhiben el transporte de electrones, evitando la reacción luminosa II. Cuando se cuenta con preparaciones libres de células provenientes de plantas verdes o de cloroplastos aislados, se puede catalizar la fotólisis del agua en presencia de un aceptor de electrones como lo es el ferriicianuro. Esto se conoce como la reacción de Hill, la cual puede ser medida por medio de un electrodo, un oxímetro o bien espectrofotométricamente. Así se ha comprobado que los herbicidas que afectan la fotosíntesis tales como las ureas, las triazinas, los carbamatos y tiocarbamatos afectan la reacción II, o bien forman radicales libres estables, los cuales en presencia de oxígeno forman entidades tóxicas que terminan por matar a la planta.

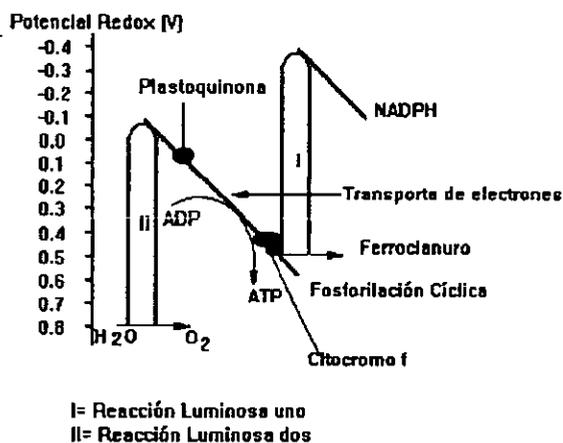
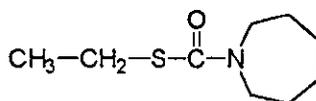


FIGURA 3: ALTERACIÓN DE LA REACCIÓN DE HILL POR LOS HERBICIDAS CARBAMATOS Y TIOCARBAMATOS (MODIFICADO DE: CREMLYM, 1995)

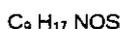
La metabolización de los carbamatos y tiocarbamatos se lleva cabo en las plantas rápidamente, tal como sucede con el butilato, el cual es convertido en  $\text{CO}_2$ , o bien metabolizado a diisobutilamina, o conjugado con ácidos grasos, aminas o glutatión. La persistencia en el suelo de los tiocarbamatos es poco elevada debido a su alta evaporación. Sin embargo su persistencia puede favorecerse al disminuir la evaporación, por aumento de la humedad de los terrenos a tratar. También esta comprobada su metabolización, degradación y adsorción al suelo vía microbiana en especial por la *Pseudomonas stricta*, *Fusarium spp.*, *Streptomyces spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Actynobacillus* y *Moraxella* (Ashton y Crafts, 1981; Villarias, 1981, Mabury, Cox y Crosby, 1996).

Dos sustancias características de los herbicidas tiocarbámicos son el Molinato (Ordram®) y Butilato (Sutan®), de los cuales describiremos, a continuación, sus propiedades químicas y físicas.

**Ordram®:** El nombre químico de éste compuesto es: S-etilhexahidro-1,1-N-azepina-carbotiato, pertenece al grupo de los herbicidas tiocarbámicos, siendo su estructura correspondiente la siguiente:



Su fórmula empírica es:



Su peso molecular es:

$$187.3 \text{ g/mol}$$

Sus propiedades Físicas son:

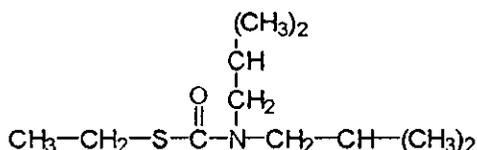
Punto de Ebullición a 70 mm de Hg .....137°C  
 Presión de Vapor a 25°C..... $5.6 \times 10^{-3}$  mm de Hg  
 Densidad a 20°C.....1.06 g/cm<sup>3</sup>

Es un líquido claro con un olor penetrante, en cuanto a su solubilidad el Molinato es miscible con la mayoría de los solventes orgánicos como acetona, benceno, 2-propanol y metanol, incluyendo también el queroseno, xileno y metil-isobutil-cetona; en agua es soluble en 880 ppm (880 mg/l) a 20°C. No es corrosivo y es estable a la hidrólisis.

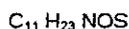
Los siguientes sinónimos son empleados a nivel mundial: BSI, ISO, JMAF, WSSA y Yalan, su código de designación toxicológica es R-4572 y su número de registro es CAS.2212-67-1, siendo reconocido como un herbicida tiocarbámico selectivo, de aplicación durante la preemergencia y postemergencia, recomendado para su uso en plantaciones de arroz principalmente. Es activo contra plantas del género *Echinochloa* y gramíneas adventicias en dosis de 3 Kg/ha.

Su dosis letal media en ratas es de 720 mg/kg., y la dosis letal media en ratones 295 mg/kg., la DL<sub>50</sub> dermal en conejos es de 3536 mg/kg. El molinado es metabolizado al correspondiente sulfóxido por las enzimas del sistema microsomal y después es cortado por el sistema de glutatión soluble. La excreción del 96% del compuesto se completa a las 48 horas, excretándose un 88% en la orina y un 11% en heces fecales y menos de 1% en el aire expirado (Hayes y Laws, 1991; Cremlym, 1995; Cochran, 1997).

**Sutan®** : El nombre químico de éste compuesto es: S-etil-diisobutiltiocarbamato, pertenece al grupo de los herbicidas tiocarbámicos, siendo su estructura correspondiente la siguiente:



Su fórmula empírica es:



Su peso molecular es:



Sus propiedades Físicas son:

Punto de Ebullición a 70 mm de Hg .....	145°C
Presión de Vapor a 25°C.....	$1.3 \times 10^{-3}$ mm de Hg
Densidad a 30°C.....	$0.930 \text{ g/cm}^3$

Es un líquido claro con un olor penetrante, en cuanto a su solubilidad el Butilato es miscible con los siguientes solventes orgánicos acetona, benceno, etanol y metil-isobutil-cetona; en agua es soluble en 50 ppm (50 mg/l) a 20°C. Su dosis letal media en ratas es de 3998 mg/kg., y la dosis letal media en cobayos de 1659 mg/kg. Es reconocido como un herbicida tiocarbámico selectivo, de aplicación durante la resiembra y recomendado para su uso en plantaciones de maíz principalmente.

Es activo contra los géneros *Echinochloa*, *Sorghum* y *Digitaria* en dosis de 4 kg/ha. No se recomienda su uso en suelos que presenten más de 3% de materia orgánica, pues esto disminuye su actividad. Se recomienda su uso con Atrazina para mejorar su efectividad y prolongar su persistencia en el suelo (Villarias, 1981; Hayes y Laws, 1991; Cremlym, 1995).

## 5. TOXICOLOGÍA Y PATOLOGÍA DE LOS HERBICIDAS TIOCARBAMATOS ORDRAM® Y SUTAN®

De acuerdo a una serie de experimentos llevados a cabo en animales de laboratorio desde la década de los sesentas hasta nuestros días, se ha demostrado que en lo concerniente a exposiciones continuas de molinato, el herbicida de referencia para los pesticidas agrícolas tiocarbámicos; vía oral o inhalatoria, se han observado efectos adversos a nivel reproductivo, neurotoxicidad y una posible oncogenicidad (Hayes y Laws, 1991; Cremlym, 1995; Cochran, 1997).

La administración de molinato a ratas macho jóvenes a una dosis de 3.6 mg/kg./día por un lapso de dos meses provocó cambios morfológicos en los espermatozoides, afectando principalmente las células de Sertoli. Durante la administración de este herbicida en estudios crónicos y subagudos no se observaron modificaciones en los niveles de gonadotropinas, descartándose de esta forma una acción a nivel hormonal y por lo tanto sobre las células de Leydig. Cuando fueron cruzados con hembras sin tratamiento, se observó una disminución en el índice de fertilidad, así como varios de los embriones fueron reabsorbidos y se aumentó la mortalidad postnatal (Hayes y Laws, 1991).

De acuerdo a los distintos estudios toxicológicos realizados en animales de laboratorio (ratas, ratones y conejos) a diferentes tiempos se pudieron establecer los diversos daños causados no sólo a nivel reproductivo. Los estudios de toxicidad a corto plazo del molinato (estudios agudos a 72 horas, 10 y 15 días de exposición), realizados en conejos y ratas arrojó como principales efectos la pérdida de peso, así como el alargamiento en el crecimiento uterino además de reabsorción de embriones durante la gestación. Los estudios subcrónicos por su parte revelaron que al exponer vía inhalatoria (únicamente por la nariz y también todo el animal completo a emanaciones del herbicida) a los animales durante periodos que abarcaron de 1 a 13 semanas, se observó un aumento en las concentraciones de 4-hidroxi molinato en la orina, lo cual indicaba un punto de referencia para evaluar el riesgo de la exposición de seres humanos al contaminante a nivel atmosférico (Cochran, 1997).

En los estudios crónicos se reveló la presencia de adenomas hepáticos además de efectos a nivel de sistema nervioso y un marcado daño a nivel de gónadas.

Se ha demostrado de forma experimental, que los herbicidas carbámicos y tiocarbámicos pueden causar diversos daños dependiendo de la dosis y el tiempo de exposición. Dichos datos permiten sugerir un comportamiento similar en las patologías que presenta el ser humano ante una exposición a los mismos agentes.

A continuación se presenta un cuadro en el cual se resumen esta serie de experimentos, tomando en cuenta la duración (agudos, subcrónicos o crónicos), la especie animal, la dosis y la vía de exposición.

Cuadro 6: Estudios toxicológicos del Molinato			
Tipo de Estudio	Especie animal	Dosis y Vía	Observaciones
<b>Agudo</b> (72 hrs., 10 a 15 días)	Se emplearon ratones, ratas y conejos. La finalidad: tener la DL <sub>50</sub> , el margen de seguridad, observar los daños a nivel sistémico probando diversas dosis diferentes a la letal.	20mg/Kg/día vía oral (conejo) 35mg/Kg/día vía oral (ratas) 11.5mg/Kg/día vía oral (c y r) 100mg/Kg dosis única (rata) 350mg/kg dosis única (rata)	Signos colinérgicos, decremento en el consumo de comida Salvación, hipersensibilidad, decremento en la fertilidad y en el crecimiento intrauterino
<b>Subcrónico</b> (de 1 a 13 semanas)	Se emplearon únicamente ratas. La finalidad: establecer la dosis absorbida durante una exposición atmosférica.	Exposición de los animales a una atmósfera controlada que contenía vapores de molinato. Las dosis absorbidas vía Inha- lación fueron de 0.40mg/Kg/día a 0.48mg/Kg/día.	Anormalidades en el esperma decremento en la fertilidad y en el crecimiento intrauterino, además de los signos antes mencionados
<b>Crónico</b> (de 1 a más de 10 años)	Se emplearon ratas y ratones La finalidad: establecer una posible oncogenicidad.	1.8 mg/Kg/día hasta una dosis de 11.5 mg/Kg/día.	Además de los signos ya mencionados se observaron adenomas hepáticos y también tumores de riñón.

Modificado de Cochran, Formoí et al. 1997

Los tiocarbamatos y carbamatos en general, son potentes inhibidores de la acetilcolinesterasa (Rotemberg, 1995), siendo esta una de las principales patologías asociadas con la intoxicación por pesticidas, compartiendo características sintomáticas con los organofosforados.

Los síntomas por intoxicación por carbamatos y tiocarbamatos en el hombre, y en mamíferos en general, corresponden a una hiperactividad del sistema nervioso parasimpático, y que pueden ser agrupados en tres categorías que son: las muscarínicas, las nicotínicas y los efectos sobre el sistema nervioso central (SNC).

1. Los síntomas que se presentan dentro del grupo muscarínico son salivación abundante e hipermotilidad gastrointestinal, lo que origina un dolor intenso, vómito y diarrea. También, caen dentro de éste grupo el lagrimeo excesivo, sudoración, disnea, miosis, palidez y cianosis.
2. Los síntomas clínicos del grupo nicotínico son el reflejo de un estímulo excesivo de los músculos esqueléticos que se manifiestan por contracciones de los músculos de la cara, párpados, lengua y finalmente de todos los músculos del cuerpo. Esta hiperactividad suele ir seguida por debilidad y parálisis del músculo esquelético, cuando aumenta el acúmulo de la acetilcolina en las uniones neuronales, los efectos sobre el SNC varían según la especie animal afectada presentándose con mayor frecuencia la depresión grave del SNC.
3. Los efectos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) van desde una estimulación ligera en la transmisión del impulso eléctrico hasta una hiperestimulación, que en animales pequeños como los perros, gatos, conejos, ratas y ratones, puede avanzar hasta provocar contracciones convulsivas.

Los síntomas clínicos de intoxicación por carbamatos son similares para todas las especies animales; la muerte suele ser consecuencia de la hipoxia provocada por espasmos bronquiales, exceso de secreciones bronquiales y contracciones cardíacas erráticas (Hellenhorn, 1988, Gilman, 1990 y Ballantyne, 1992).

Los cambios patológicos asociados al envenenamiento agudo por carbamatos, además de los efectos evidentes de hiperestimulación del sistema nervioso parasimpático, también se observa estimulación de glándulas, como las salivales, lo cual provoca un exceso de secreción que se observa en forma de salivación abundante.

Puede también llegarse a presentar edema pulmonar, e incluso apreciarse hemorragia difusa en pericardio y endocardio (Hellenhorn, 1988, Gilman, 1990 y Ballantyne, 1992).

El daño crónico se presenta por exposiciones prolongadas a concentraciones bajas del herbicida, lo cual llega a alterar tejidos diversos y por ende el metabolismo del individuo.

De manera general podemos decir que los herbicidas carbamatos producen lesiones en células hepáticas principalmente, seguidas por daños a nivel renal y más escasamente a nivel cerebral. El daño puede ser en grados variables dependiendo del tiempo y tipo de exposición. Los daños son por lo tanto también en grados, siendo el efecto más severo la necrosis del tejido.

Las denominadas lesiones hepáticas químicas (LHQ) engloban una serie de manifestaciones clínicas debidas a una toxicidad intrínseca (directa) o por metabolismo (indirecta) del compuesto o sustancia química (ya sea un fármaco o xenobiotico), pudiendo ser el daño de forma crónica o aguda. Cabe mencionar que la LHQ no es, en muchos casos, la única manifestación del efecto químico adverso, pudiendo ser acompañada por lesiones en otros órganos (ver cuadro 6).

CUADRO 7: CLASIFICACION DE LA LESIONES HEPATICAS QUIMICAS				
TIPO DE TOXICIDAD	DEPENDENCIA DE DOSIS	MECANISMO Y REPRODUCTIBILIDAD EXPERIMENTAL	TIPO DE LESION	EJEMPLOS
Directa	Si	Alteración directa bioquímica por interferencia del metabolismo general y destrucción de las bases estructurales de la morfología celular. Reproducible experimentalmente	La lesión principal es de tipo necrótico zonal	CCl <sub>4</sub> , CHCl <sub>3</sub> , Fósforo, isoniacida, halotano, pesticidas especialmente organofosforados y carbamatos
Indirecta de tipo citotóxico	Si	Interferencia en rutas metabólicas específicas que provocan lesión estructural. Reproducible experimentalmente	Lesión de tipo necrótico zonal y difusa	CCl <sub>4</sub> , CHCl <sub>3</sub> , Fósforo, isoniacida, halotano, toxinas de hongos y bacterias, tetraciclinas, pesticidas
Indirecta de tipo Colestásico	Si	Interferencia con las vías de excreción hepática. Reproducible experimentalmente	Obstrucción biliar	Clorpromacina, antineoplásicos, alcohol etílico, glucocorticoides, metotrexate

Modificado de: Stein, 1988 Medicina Interna.

Dentro de las lesiones a nivel de los hepatocitos, el daño que pueden presentar varía desde una alteración en la permeabilidad membranal (lesión hepática crónica) hasta una necrosis (lesión hepática aguda). En el caso del daño agudo por químicos, las lesiones pueden ser fundamentalmente de tipo citotóxico (necrosis) o bien de tipo obstructivo biliar (colestasis) o una combinación de ambas. Cualquiera de ellas redunda en un daño al parénquima hepático en grados diversos de acuerdo a la exposición y dosis, con lo cual se da origen a los siguientes trastornos detectables clínicamente:

- A. La síntesis de enzimas secretadas a torrente sanguíneo es insuficiente y se origina una disminución de su concentración en sangre, tal como es el caso de la colinesterasa y las enzimas de la coagulación.
- B. Las enzimas celulares contenidas por los hepatocitos, como las transaminasas, entre otras, pasan del citoplasma a los espacios extracelulares y de ahí al torrente sanguíneo aumentando su concentración.

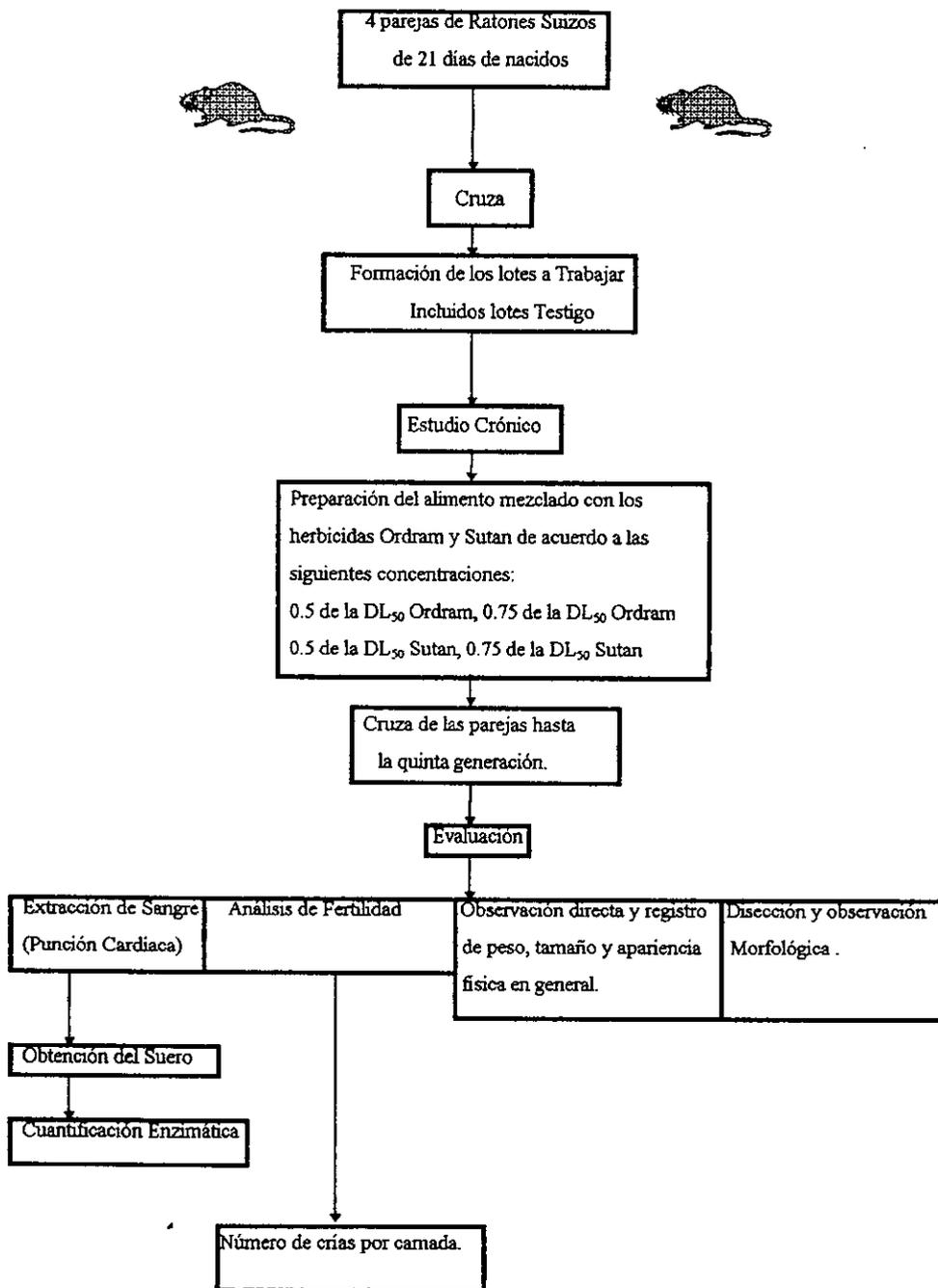
En el caso de lesiones leves de las células hepáticas, son las enzimas citoplasmáticas como la glutámico-pirúvico transaminasa, las que escapan a torrente sanguíneo, mientras que las ubicadas en mitocondria, sólo son liberadas en alteraciones intensas como necrosis (Ellenhorn, 1988).

En los casos de daño por exposición crónica (más de seis meses) a concentraciones bajas de este tipo de compuestos, se ha observado un estado subclínico de alteraciones hepáticas debidas a LHQ, lo cual redundo en un aumento en circulación de enzimas tales como las transaminasas glutámico-pirúvico transaminasa (GPT) y glutámico-oxalacético transaminasa (GOT), la lactato deshidrogenasa (LDH), así como también una serie de metabolitos que incluyen a las bilirrubinas, además de que existe una leucocitosis, principalmente se encuentran elevados granulocitos y neutrofilos (Ballantyne, 1993, Stein 1988, Kurtz, 1990). Estos datos no son distintivos de una intoxicación por carbamatos, sino que corresponden a una serie de trastornos hepáticos tales como la obstrucción hepática, cirrosis o hipertrofia hepática, razón por lo cual es conveniente realizar exámenes de laboratorio extras a las pruebas de funcionamiento hepático tal como lo es la medición de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa. Dicha enzima, al ser selectivamente alterada por una gama reducida de compuestos organicos, principalmente organofosforados y carbamatos, resulta ser el medio ideal de diagnóstico en los casos de intoxicación crónica.

En los casos de intoxicación aguda el cuadro clínico es muy similar al presentado por intoxicación con organofosforados y en algunos casos al de los organoclorados. El cuadro clínico presentado en humanos es el siguiente: convulsiones musculares, trastornos de las funciones cardiacas (disminución en presión sanguínea y arritmias entre otras) y respiratorias (disnea) además de coma hepático con la consecuente salida de enzimas citoplasmáticas tanto constitutivas de membrana como citoplasmáticas. En casos como estos se recomienda un tratamiento adecuado con oximas de acuerdo análisis rápido de los signos del paciente, que una vez estabilizado se le tomará una muestra sanguínea para modificar su tratamiento subsiguiente hasta su reestablecimiento, lo cual incluye la determinación de acetilcolinesterasa (Gilman, 1990; Kurtz, 1990; Ballantyne, 1993; Lifshitz, 1994; Rotemberg, 1995).

## ***MATERIAL Y METODOS***

## 1. Diagrama de Trabajo



## 2. Materiales

### A. Herbicidas:

Se emplearon los herbicidas tiocarbámicos Molinato (Ordram®) y Butiatio (Sutan®) con una pureza del 95%.

### B. Ratones:

Se emplearon para ambos estudios del experimento ratones blancos suizos cepa CFW.

### C. Alimento:

Se utilizó el alimento de Nutricubos® de Purina, los cuales presentaban el siguiente contenido de nutrientes:

- Proteínas mínimo	23%
- Grasas mínimo	2.5%
- Fibras máximo	6.0%
- Cenizas máximo	12%
- Humedad máxima	8.0%
- E.L.N. mínimo	48.5%
- Calcio mínimo	1.0%
- Fósforo mínimo	0.6%

La preparación del alimento con los herbicidas fue la siguiente:

Se procedió a moler el alimento suficiente (tomando en cuenta 15g/día/ratón, estimándose una población aproximada de 100 ratones) en un mortero hasta que se pulverizó. El polvo obtenido se pesó y con el alimento se formaron 4 lotes, uno por cada dosis de herbicida, es decir  $\frac{1}{4}$  y  $\frac{3}{4}$  de las DL de Ordram® y Sutan®, procurando evitar al máximo la evaporación. A continuación se agregó agua hasta formar una pasta homogénea, la cual se extendió y cortó en cuadros que tuviesen el peso aproximado de los cubos originales. Se secaron los cuadros al horno a 80° C por 24 horas, y posteriormente se comprobó la concentración de herbicida en los cuadros por cromatografía de gases, la cual se efectuó con un cromatógrafo Hewlett Packard® modelo 5880-A, con detector de ionización de flama y conductibilidad térmica con registrador automático.

## D. Equipos de Detección Enzimática Merck@:

Para la detección de las enzimas hepáticas en suero, se emplearon los siguientes Kits:

- a)  $\alpha$ -amilasa (Cat. 3301)  
 b) Colinesterasa (Cat. 3325)  
 c) Lactato Deshidrogenasa (Cat. 3349)  
 d) Glutámico Pirúvico Transaminasa (Cat. 3372)

CUADRO 8: RESUMEN DE LAS TÉCNICAS EMPLEADAS			
TÉCNICA	FUNDAMENTO	REACTIVOS	UNIDADES
<b><math>\alpha</math>-AMILASA</b> (Street & Close)	La degradación de almidón por la enzima y la formación de dextrinas reductoras y azúcares de bajo P.M. La amilasa sirve como sustrato y una solución de yodo permite observar la extinción del color azul, la cual es directamente proporcional a la actividad de la amilasa	1. Sustrato amortiguador 2. Sol. de amilosa 0.2 g/L, NaCl 15 mmol/L 3. Sol. de Yodo 0.008N	SOMOGYI/100ml Cantidad de enzima que a partir de almidón, en 30 minutos, a pH 7.5 y 37°C libera un microgramo de sustancias reductoras.
<b>COLINESTERASA</b> (Kendel & Szasz)	La hidrólisis de ésteres de colina, empleando como sustrato el yoduro de 3-butilcolina. Como indicador se emplea el 5,5-ditobis-2-nitrobenzato, el cual es reducido por la tiocolina liberada a 5-mercapto-2-nitrobenzato que permite observar la extinción del color amarillo, lo cual es directamente proporcional a la actividad de la colinesterasa	1. Amortiguador pH 7.7 2. Sol. de $\gamma$ -yoduro de s-butiltiocolina 6 mmol/L	U/ml Es la cantidad de enzima necesaria para transformar 1 mol de sustrato en un minuto bajo condiciones estándar de pH y temperatura.
<b>GLUTAMICO PIRUVICO TRANSAMINASA (GPT)</b> (Reitman & Frankel)	La transferencia de nitrógeno desde el glutamato al piruvato. El piruvato producido a su vez es transformado enzimáticamente en lactato por medio de la enzima lactato deshidrogenasa en presencia de NADH <sub>2</sub> . La velocidad de utilización del NADH <sub>2</sub> puede medirse por su extinción en la región del ultravioleta cercano. $\alpha$ -cetoglutarato + L-alanina $\leftrightarrow$ glutamato + piruvato  piruvato + NADH <sub>2</sub> $\leftrightarrow$ lactato + NAD	1. Amortiguador pH 7.4 2. L-alanina 800mmol/L 3. Cetoglutarato 0.18 mmol/L 4. NADH <sub>2</sub> 0.18 mmol/L 5. LDH 1.2 KU/L	U/ml Es la cantidad de enzima necesaria para transformar 1 mol de sustrato en un minuto bajo condiciones estándar de pH y temperatura.
<b>LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)</b> (Colorimétrico)	La reducción de piruvato por el NADH <sub>2</sub> según la siguiente ecuación piruvato + NADH <sub>2</sub> $\leftrightarrow$ lactato + NAD	1. Piruvato Sódico 0.6 mM 2. NADH <sub>2</sub> 0.18 mM 3. Amortiguador pH 7.5	U/ml Es la cantidad de enzima necesaria para transformar 1 mol de sustrato en un minuto bajo condiciones estándar de pH y temperatura.

Todas las mediciones enzimáticas se siguieron espectrofotométricamente, realizándose las lecturas a las siguientes longitudes:

- a)  $\alpha$ -amilasa (620 nm)  
 b) Colinesterasa (405 nm)  
 c) Lactato Deshidrogenasa (340-365 nm)  
 d) Glutámico Pirúvico Transaminasa (334-365 nm)

**F. Espectrofotómetros:**

Se emplearon dos tipos diferentes de espectrofotómetros durante la fase experimental para realizar las lecturas de las enzimas; estos fueron:

- a) Espectrofotómetro Coleman modelo 7350
- b) Espectrofotómetro Zeiss modelo 2580

**G. Material Diverso:**

- Balanza granataria
- Equipo de disección
- Centrífuga clínica
- Equipo de cristalería:
  - + Tubos de Ensayo para centrifuga
  - + Probetas (100 ml)
  - + Pipetas (1 ml, 5 ml y 10 ml)

### 3. Métodos

Se llevó a cabo un estudio toxicológico crónico para evaluar los daños tanto a nivel reproductivo como metabólico, de manera tal que se pudiese encontrar una correlación entre las alteraciones metabólicas como biomarcadores y el tiempo de exposición al tóxico (véase diagrama de trabajo).

#### Estudio Crónico:

Se realizó una variante del estudio toxicológico denominado como "Estudio de las tres Generaciones" (Hayes y Laws, 1991; Ged y Chengelis, 1992; Scialli y Clegg, 1992). Para ello se tomaron dos parejas de ratones de 21 días de nacidos y se cruzaron, la pareja 1 tuvo 6 ratones y la pareja 2 tuvo 8 ratones, de éstos 14 ratones ( 6 machos y 9 hembras) se formaron 4 parejas, a las cuales se les administró el alimento preparado con los herbicidas Ordram® y Sutan®, con las dosis de  $1/2$  y  $3/4$  de la  $DL_{50}$  y una pareja se utilizó como testigo.

Las cinco parejas de ratones fueron cruzadas, así como sus descendientes, hasta llegar a la quinta generación de cada una de las parejas de ratones.

Se observó en los ratones los siguientes parámetros: el índice de preñación, el índice de gestación, y el índice de viabilidad a término, además fueron tomados algunos de los ratones al azar y se les extrajo sangre por medio de una punción cardiaca, para obtener el suero, en el cual se cuantificaron las enzimas:  $\alpha$ -amilasa, colinesterasa, glutámico-pirúvico transaminasa y lactato deshidrogenasa (Hayes y Laws, 1991; Cox y Chengelis, 1992).

#### Métodos de detección Enzimática:

Para la detección de los niveles de actividad enzimática se emplearon equipos comerciales de Merck Co., efectuándose las determinaciones de acuerdo a las técnicas marcadas en los instructivos anexos (ver cuadro 8) para la  $\alpha$ -amilasa (Street & Close), acetilcolinesterasa (Kendel & Szasz) y glutámico-pirúvico transaminasa (Reitman & Frankel), así como para la lactado deshidrogenasa (Deutsche Biochim. o colorimétrico).

### Métodos Estadísticos:

A los resultados obtenidos de la variación de peso a los 15 meses de tratamiento, a los tiempos de gestación y al número de crías por camada en cada generación y tratamiento, así como a los niveles de actividad enzimática, se les efectuó el análisis estadístico de Bloques Aleatorios con 5 tratamientos (Ordram ¼ DL, Ordram ¾ DL, Sutan ¼ DL, Sutan ¾ DL y el lote testigo) y de 3 a 6 bloques (las generaciones); el cual emplea un análisis de varianza de un factor con una sola muestra por grupo, realizándose a un  $\alpha= 0.01$ , así como un análisis de Contraste lineal (pruebas posteriori), sobre aquellas pruebas que resultaron significativas para determinar las diferencias estadísticas existentes entre lotes y el lote control a un  $\alpha= 0.05$  (Daniel, 1988).

## *RESULTADOS*

## RESULTADOS

Desde que se realizó la primera cruce de cada una de las parejas hasta que se llegó a la quinta generación, se dio un tratamiento sostenido por un tiempo de 15 meses, para cada una de las dosis de los herbicidas.

Inicialmente se tomaron dos parejas de ratones de 21 días de nacidos y se cruzaron. La pareja 1 tuvo 6 ratones y la pareja 2 tuvo 8 ratones (ver fig. 4 y 5), de éste total de ratones se formaron 5 parejas de ratones; dos parejas se emplearon para formar los lotes de Ordram, dos más para Sutan y una pareja quedó como testigo. A continuación se cruzaron de forma sucesiva hasta llegar a la quinta generación para cada una de las parejas de ratones.

Durante este lapso de tiempo se observaron tanto el aspecto físico como el comportamiento de los ratones tratados y se les comparó con el testigo.

Las enzimas que se determinaron fueron: la  $\alpha$ -amilasa, la colinesterasa, la glutámico-pirúvico transaminasa (GPT) y la lactato deshidrogenasa (LDH), cuya determinación se realizó por duplicado. Los ratones a los cuales se les realizó la punción cardíaca fueron tomados al azar, escogiéndose tanto ratones machos como hembras de las siguientes generaciones: F2, F3, y F5.

Los resultados de esta parte experimental se reportan en el siguiente orden:

1. Determinación de la concentración de los herbicidas en el alimento preparado
2. Cruzas realizadas en cada una de las parejas por lote y tratamiento
3. Tiempo de Tratamiento
4. Peso inicial y variación del mismo durante el Tratamiento
5. Tiempo de Gestación
6. Nacimientos
7. Concentraciones Enzimáticas

## 1. Alimento

Las galletas fueron preparadas de la forma ya descrita en la sección de materiales y métodos. El peso individual promedio de las galletas secas ya preparadas fue de 7 gr. El análisis realizado por cromatografía de gases arrojó las concentraciones de herbicida que se muestran en el cuadro 9.

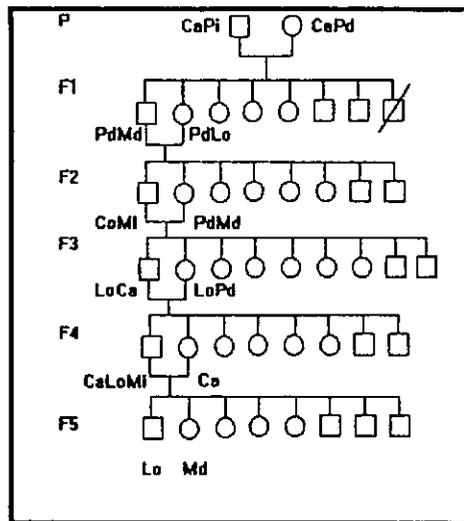
Cuadro 9: Dosis de los herbicidas contenidas en las galletas		
Herbicida	Dosis Teórica	Dosis Real detectada por cromatografía
Ordram ½ DL <sub>50</sub>	13.38 mg	11.44 mg
Ordram ¾ DL <sub>50</sub>	21.73 mg	21.20 mg
Sutan ½ DL <sub>50</sub>	32.50 mg	27.98 mg
Sutan ¾ DL <sub>50</sub>	45.90 mg	37.15 mg
Porcentaje promedio de pérdida de los herbicidas:		8.45% Ordram 16.48% Sutan

Se encontró que en ambos herbicidas existe una pérdida en las dosis preparadas, siendo las más grandes las de Ordram ½ DL<sub>50</sub> con un 14.5% con respecto a la concentración teórica, y Sutan ¾ DL<sub>50</sub> con un 19.06% con respecto a la dosis teórica. Dichas pérdidas son atribuibles a la manipulación de los herbicidas (Villarias,1981; Barbera,1989), produciéndose, probablemente, dichas pérdidas durante el proceso de mezclado y posteriormente durante el secado de las galletas.

## 2. Cruzas

En las figuras que a continuación se presentan, se pueden apreciar los árboles genealógicos de los progenitores originales empleados en el estudio, así como también se presentan las diferentes cruzas realizadas con cada una de las parejas formadas, hasta llegar a la quinta generación para cada una de las diferentes dosis de herbicidas manejadas.

En cada uno de éstos árboles se emplea la nomenclatura tradicional para especificar el sexo de los animales, el número de descendientes así como también los decesos ocurridos.



(A)

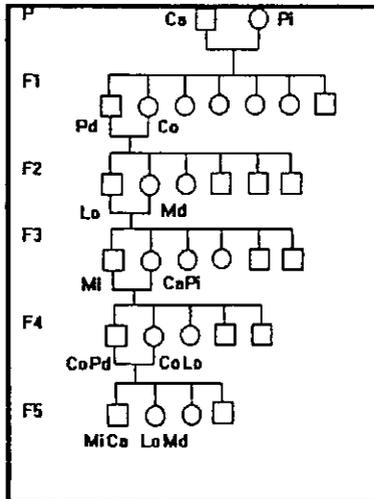
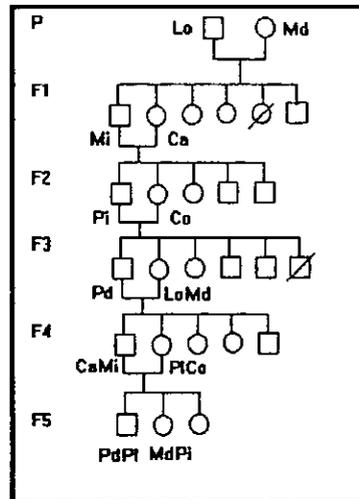
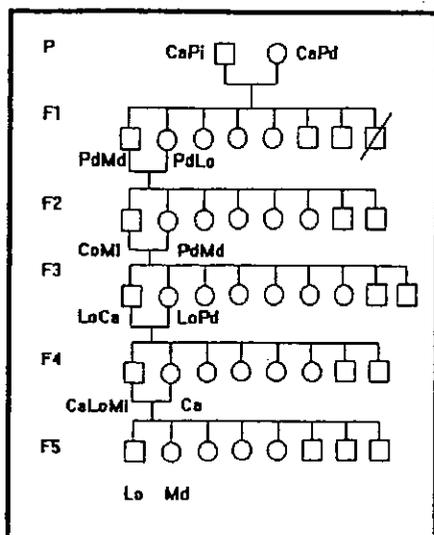
(B<sub>1</sub>)(B<sub>2</sub>)

Figura 4: Árbol genealógico en el cual se muestran las cruces realizadas desde la P hasta la F5 para los ratones del lote testigo (A) y los tratados con Ordram  $\frac{1}{2}$  (B<sub>1</sub>) y  $\frac{3}{4}$  (B<sub>2</sub>) de la DL<sub>50</sub>.



(A)

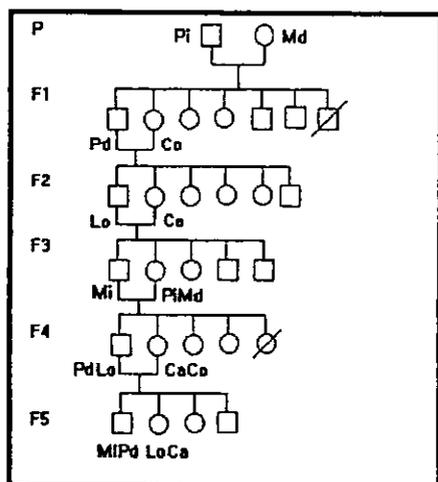
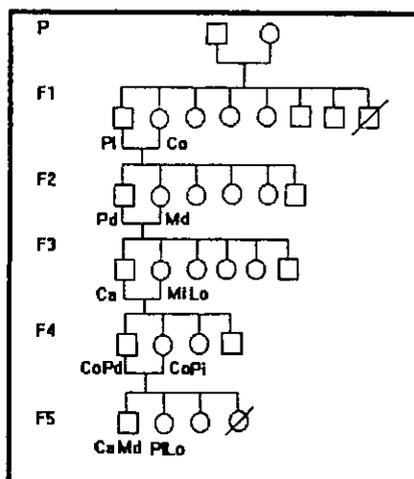
(B<sub>1</sub>)(B<sub>2</sub>)

Figura 5: Árbol genealógico en el cual se muestran las cruces realizadas desde la P hasta la F5 para los ratones del lote testigo (A) y los tratados con Sutan  $\frac{1}{2}$  (B<sub>1</sub>) y  $\frac{1}{4}$  (B<sub>2</sub>) de la DL<sub>50</sub>

### 3. Tiempo de Tratamiento

Desde que se realizó la primera cruce de cada una de las parejas hasta que se llegó a la quinta generación, el tratamiento que recibieron los ratones de los diferentes herbicidas, a las dos dosis probadas para cada uno de ellos, fue sostenido durante un lapso de tiempo de 15 meses, tiempo en el cual se reprodujeron hasta la quinta generación.

En el cuadro 10 se dan los tiempos de tratamiento para cada una de las generaciones de los lotes respectivos.

CUADRO 10. TIEMPO DE TRATAMIENTO CON LOS HERBICIDAS PARA CADA UNA DE LAS GENERACIONES					
Generación	Ordram ½ DL <sub>50</sub>	Ordram ¼ DL <sub>50</sub>	Sutan ½ DL <sub>50</sub>	Sutan ¼ DL <sub>50</sub>	Testigo
P	15 meses	15 meses	15 meses	15 meses	15 meses
F1	14 meses	14 meses	14 meses	13 meses	14 meses
F2	12 meses	12 meses	13 meses	12 meses	12 meses
F3	10 meses	10 meses	09 meses	10 meses	10 meses
F4	08 meses	05 meses	06 meses	05 meses	08 meses
F5	04 meses	02 meses	03 meses	02 meses	05 meses

### 4. Peso Inicial y Variación del mismo durante el Tratamiento.

En las tabla siguientes se muestran los pesos iniciales y la variaciones de los mismos de acuerdo al herbicida y la dosis administrada. En estas tablas se puede observar lo siguiente:

1. En los ratones testigo el peso aumenta conforme pasa el tiempo, teniendo desde los tres hasta los quince meses, una ganancia de peso promedio al mes de 2.3 g para los machos, y de 1.58g para las hembras.
2. Para los ratones tratados con Ordram ½ DL<sub>50</sub> (11.44 mg/Kg/día), los pesos de los ratones disminuyeron, perdiendo en promedio al mes, 2.81 g los machos y 2.05 g las hembras.
3. Para los ratones tratados con Ordram ¼ DL<sub>50</sub> (21.20 mg/Kg/día), los pesos de los ratones disminuyeron, perdiendo en promedio al mes, 4.33 g los machos y 3.15 g las hembras.
4. Para los ratones tratados con Sutan ½ DL<sub>50</sub> (27.98 mg/Kg/día), los pesos de los ratones disminuyeron, perdiendo en promedio al mes, 3.68 g los machos y 2.98 g las hembras.

5. Para los ratones tratados con Sutan 3/4 DL<sub>50</sub> (37.15 mg/Kg/día), los pesos de los ratones disminuyeron, perdiendo en promedio al mes, 4.88 g los machos y 3.87 g las hembras.

Estos resultados se muestran en las cuadros siguientes:

CUADRO 11 : VALORES MEDIOS DE LOS PESOS EN RATONES TESTIGO					
GENERACION	TIEMPO EN MESES				
	3	6	9	12	15
P	28.45 g	28.35 g	31.15 g	35.70 g	35.35 g
F1	27.35 g	27.60 g	29.15 g	31.50 g	35.20 g
F2	27.35 g	29.20 g	30.55 g	34.30 g	38.85 g
F3	25.80 g	27.20 g	30.45 g	31.65 g	33.65 g
F4	27.30 g	28.90 g	29.70 g	30.80 g	35.75 g
F5	29.20 g	29.25 g	30.30 g	32.95 g	34.80 g
PROMEDIO	27.57 g	28.08 g	30.21 g	32.81 g	35.23 g

CUADRO 12: VALORES MEDIOS DE LOS PESOS EN RATONES TRATADOS CON ORDRAM 1/2 DL <sub>50</sub>					
GENERACION	TIEMPO EN MESES				
	3	6	9	12	15
P	31.55 g	31.00 g	29.15 g	27.60 g	24.75 g
F1	30.40 g	32.25 g	25.50 g	27.45 g	26.00 g
F2	29.95 g	29.90 g	28.10 g	26.05	23.35 g
F3	29.70 g	28.80 g	28.05 g	24.64 g	23.15 g
F4	29.05 g	27.05 g	27.85 g	26.30 g	23.95 g
F5	29.00 g	26.60 g	24.00 g	23.35 g	22.35 g
PROMEDIO	29.94 g	29.30 g	27.77 g	25.90	23.82 g

GENERACION	TIEMPO EN MESES				
	3	6	9	12	15
P	28.35 g	28.00 g	29.70 g	27.95 g	25.65 g
F1	28.60 g	29.00 g	26.20 g	27.60 g	23.70 g
F2	30.65 g	30.40 g	26.35 g	24.80 g	23.05 g
F3	29.10 g	28.60 g	25.65 g	24.25 g	21.55 g
F4	28.00 g	28.95 g	23.00 g	21.75 g	21.25 g
F5	28.80 g	26.95 g	23.00 g	21.75 g	20.95 g
PROMEDIO	28.91 g	28.34 g	25.99 g	24.82 g	22.69 g

GENERACION	TIEMPO EN MESES				
	3	6	9	12	15
P	27.80 g	29.60 g	29.40 g	29.20 g	27.35 g
F1	28.80 g	30.10 g	30.00 g	25.65 g	23.35 g
F2	28.80 g	29.85 g	28.70 g	26.98 g	25.00 g
F3	27.95 g	27.00 g	27.60 g	26.20 g	24.55 g
F4	27.50 g	26.80 g	26.70 g	24.45 g	22.85 g
F5	27.70 g	26.25 g	23.55 g	22.40 g	21.35 g
PROMEDIO	28.09 g	28.26 g	27.65 g	25.80 g	24.07 g

GENERACION	TIEMPO EN MESES				
	3	6	9	12	15
P	29.95 g	30.35 g	28.35 g	26.90 g	25.65 g
F1	29.80 g	29.30 g	29.55 g	26.05 g	26.50 g
F2	28.50 g	30.80 g	28.10 g	25.20 g	23.70 g
F3	29.40 g	28.25 g	27.60 g	25.70 g	22.85 g
F4	29.00 g	27.95 g	27.60 g	24.55 g	24.00 g
F5	29.30 g	28.00 g	25.10 g	24.50 g	33.20 g
PROMEDIO	29.55 g	29.10 g	27.71 g	25.88 g	25.98 g

## 5. Tiempo de Gestación

El tiempo de gestación de los ratones tratados con Ordram y Sutan se ve afectado, ya que éste se va haciendo más prolongado de una generación a otra, tomando en cuenta que el tiempo de gestación normal promedio, para los ratones aquí manejados es de 35 días.

En el siguiente cuadro se muestran los tiempos de gestación, dados en días, para cada uno de los diferentes tratamientos así como para los ratones del lote testigo.

Generación	Ordram $\frac{1}{2}$ DL <sub>50</sub>	Ordram $\frac{3}{4}$ DL <sub>50</sub>	Sutan $\frac{1}{2}$ DL <sub>50</sub>	Sutan $\frac{3}{4}$ DL <sub>50</sub>	Testigo
p	0 días	0 días	0 días	0 días	0 días
F1	35 días	33 días	38 días	40 días	25 días
F2	51 días	49 días	47 días	45 días	34 días
F3	60 días	65 días	63 días	72 días	32 días
F4	134 días	148 días	141 días	172 días	40 días
F5	166 días	174 días	179 días	188 días	41 días
F6					38 días
F7					35 días
Promedio	89.2 días	93.8 días	93.6 días	103.4 días	35 días

## 6. Nacimientos

El número de ratones por camada disminuyó a partir de la segunda generación para ambos tratamientos de Ordram y Sutan, viéndose afectados más drásticamente el número de ratones por camada en la quinta generación, mientras que para los ratones testigo se mantuvo el número de crías por camada en un promedio de 8.2 ratones. Los resultados se muestran en la siguiente tabla y en las figuras 5 a 8.

Generación	Ordram $\frac{1}{2}$ DL <sub>50</sub>	Ordram $\frac{3}{4}$ DL <sub>50</sub>	Sutan $\frac{1}{2}$ DL <sub>50</sub>	Sutan $\frac{3}{4}$ DL <sub>50</sub>	Testigo
F1	7 (2M,5H)	6 (4M,2H)	7 (4M,3H)	8 (4M,4H)	8 (4M,4H)
F2	6 (4M,2H)	5 (3M,2H)	6 (2M,4H)	6 (2M,4H)	8 (4M,4H)
F3	6 (3M,3H)	6 (4M,2H)	5 (3M,2H)	6 (2M,4H)	9 (3M,5H)
F4	5 (3M,2H)	5 (2M,3H)	5 (1M,4H)	4 (2M,2H)	8 (4M,4H)
F5	4 (2M,2H)	3 (1M,2H)	4 (2M,2H)	4 (1M,3H)	8 (4M,4H)

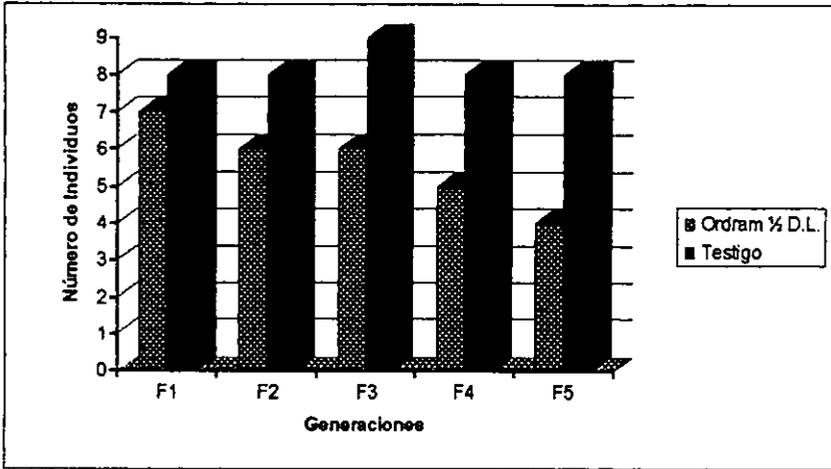


Figura 6: Gráfica de nacimientos en el lote tratado con Ordram  $\frac{1}{4}$  D.L. contrastados con el lote testigo

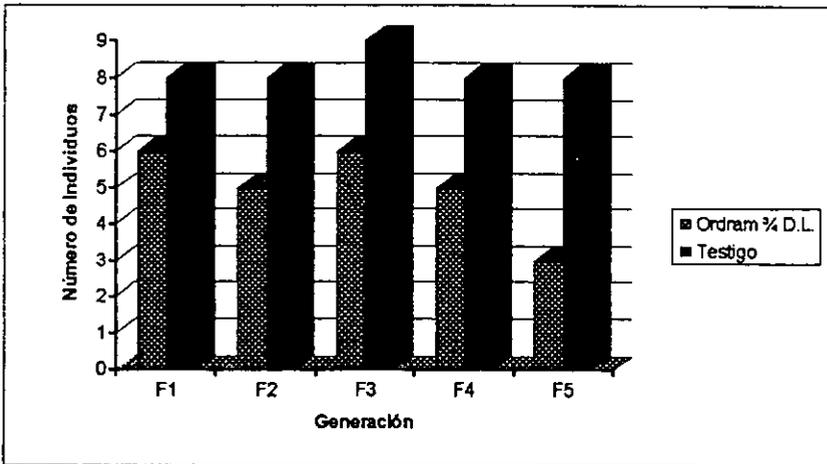


Figura 7: Gráfica de nacimientos en el lote tratado con Ordram  $\frac{3}{4}$  D.L. contrastados con el lote testigo

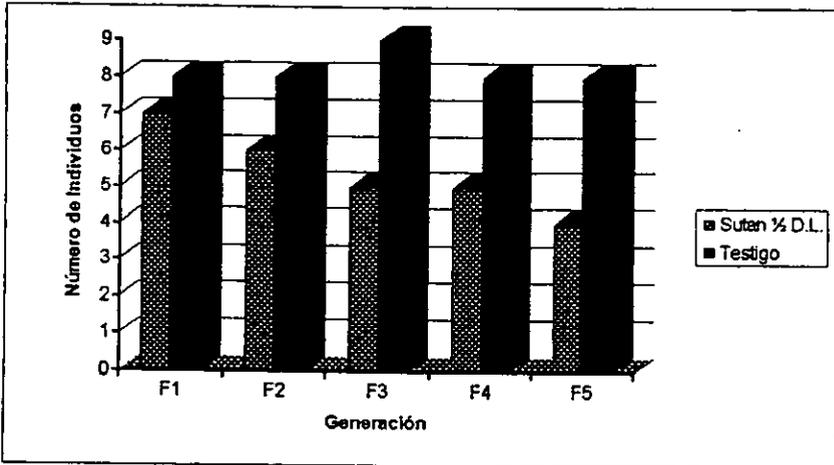


Figura 8: Gráfica de nacimientos en el lote tratado con Sutan 1/2  $D.L.$  contrastados con el lote testigo

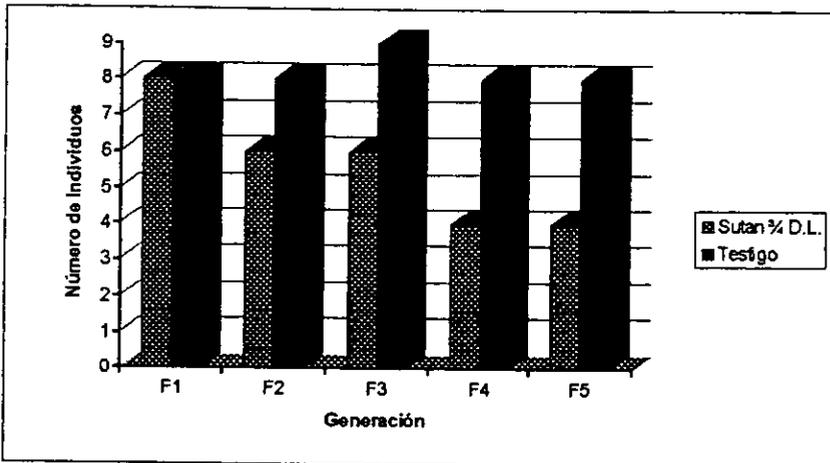


Figura 9: Gráfica de nacimientos en el lote tratado con Sutan 3/4  $D.L.$  contrastados con el lote testigo

## 7. Concentraciones Enzimáticas

A continuación se muestran los resultados de las determinaciones de los niveles enzimáticos de los ratones tratados y los valores medios de los testigos.

En el cuadro 18 se muestran los valores obtenidos para la  $\alpha$ -amilasa, en donde se observa un aumento en los valores de la actividad enzimática de los lotes tratados en comparación con el lote testigo.

CUADRO 18: VALORES EXPERIMENTALES PARA $\alpha$ -AMILASA EN U/L					
Generación	Ordram 1/2 DL <sub>50</sub>	Ordram ¼ DL <sub>50</sub>	Sutan ½ DL <sub>50</sub>	Sutan ¼ DL <sub>50</sub>	Testigo
F2	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	195.9	208.4	217.1	228.1	153.0
	192.5	206.1	216.8	226.9	152.3
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	194.2	209.2	217.8	226.7	151.0
	192.9	208.1	218.0	225.1	149.1
F3	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	193.2	208.6	216.2	225.9	153.2
	192.8	207.4	217.5	224.7	152.2
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	192.5	208.0	216.5	225.9	149.8
	194.7	207.5	218.7	228.5	150.3
F5	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	193.3	206.7	215.9	223.8	152.2
	191.3	208.0	217.7	225.4	152.5
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	193.4	208.0	217.1	225.0	150.0
	192.4	206.8	216.2	225.7	152.0
Promedio	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =
	193.1	207.5	216.8	225.8	152.6
	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =
	193.5	207.9	217.2	226.5	150.3

En el cuadro 19 se muestran los valores obtenidos para la colinesterasa, en donde se observa una disminución en los valores de la actividad enzimática de los lotes tratados con ambos herbicidas y en ambas dosis, en comparación con el lote testigo.

CUADRO 19: VALORES EXPERIMENTALES PARA COLINESTERASA EN U/ML					
Generación	Ordram 1/2 DL <sub>50</sub>	Ordram ¼ DL <sub>50</sub>	Sutan ½ DL <sub>50</sub>	Sutan ¼ DL <sub>50</sub>	Testigo
F2	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	1.61	1.53	1.40	1.33	1.89
	1.67	1.56	1.41	1.35	1.87
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	1.67	1.56	1.46	1.37	1.81
	1.64	1.58	1.43	1.37	1.83
F3	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	1.65	1.53	1.46	1.39	1.89
	1.66	1.56	1.43	1.35	1.89
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	1.68	1.67	1.41	1.35	1.85
	1.61	1.52	1.43	1.34	1.83
F5	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	1.61	1.59	1.43	1.34	1.89
	1.67	1.56	1.40	1.33	1.87
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	1.61	1.65	1.46	1.35	1.85
	1.65	1.528	1.48	1.34	1.81
Promedio	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =
	1.63	1.55	1.42	1.34	1.88
	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =
	1.64	1.59	1.44	1.35	1.83

En el cuadro 20 se muestran los valores obtenidos para la Glutámico-Pirúvico Transaminasa (GPT), en donde se observa un aumento en los valores normales de la actividad en suero para dicha enzima en los lotes tratados con ambos herbicidas y a ambas dosis, en comparación con el lote testigo.

CUADRO 20: VALORES EXPERIMENTALES PARA GPT EN U/L					
Generación	Ordram 1/2 DL <sub>50</sub>	Ordram ¾ DL <sub>50</sub>	Sutan ½ DL <sub>50</sub>	Sutan ¾ DL <sub>50</sub>	Testigo
F2	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	250.1	254.8	258.3	261.7	221.8
	248.7	253.4	257.5	262.5	221.6
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	249.5	252.7	257.3	260.4	220.7
	248.5	253.2	258.0	262.0	220.4
F3	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	249.2	255.0	258.5	263.2	221.4
	248.8	254.5	257.8	262.4	220.9
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	248.9	253.1	257.6	261.5	219.9
	248.6	253.7	257.0	262.0	222.3
F5	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	249.0	249.9	256.9	261.7	221.0
	249.7	250.2	255.6	260.9	222.5
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	239.7	250.9	258.3	263.0	223.0
	240.5	251.4	259.2	265.8	221.8
Promedio	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =
	249.2	252.9	257.4	262.0	221.5
	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =
	245.9	252.5	262.0	262.4	221.3

En el cuadro 21 se muestran los valores obtenidos para la Lactato-Deshidrogenasa (LDH), en donde se observa un aumento en los valores de la actividad enzimática de los lotes tratados con ambos herbicidas y a ambas dosis, en comparación con el lote testigo.

CUADRO 21: VALORES EXPERIMENTALES PARA LDH EN U/L					
Generación	Ordram 1/2 DL <sub>50</sub>	Ordram ¼ DL <sub>50</sub>	Sutan ¼ DL <sub>50</sub>	Sutan ¼ DL <sub>50</sub>	Testigo
F2	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	186.0	244.5	215.6	237.3	114.8
	187.4	242.9	215.0	236.9	115.4
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	185.4	243.6	214.8	236.8	113.4
	186.0	241.1	214.0	240.1	114.6
F3	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	187.6	240.8	216.0	236.2	114.5
	187.4	241.6	215.3	236.6	115.3
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	186.4	240.7	216.5	237.2	113.9
	187.0	242.7	215.7	237.1	114.2
F5	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :	Machos :
	188.0	241.9	215.6	237.2	116.1
	187.6	242.3	216.5	236.4	115.6
	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:	Hembras:
	186.9	240.1	216.1	236.8	115.0
	186.4	242.8	216.3	236.7	115.4
Promedio	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =	$\bar{X}$ machos =
	187.3	242.0	215.6	236.7	115.2
	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =	$\bar{X}$ hembras =
	186.3	246.8	215.5	237.4	114.4

A continuación se detalla el análisis estadístico al cual se sometió a los diversos resultados, el cual emplea un análisis de varianza de un factor con una sola muestra por grupo, realizándose a un  $\alpha = 0.01$  y un análisis de Contraste lineal (pruebas a posteriori) sobre aquellos resultados que fueron significativos, esto con la finalidad de determinar las diferencias estadísticas existentes entre en los diversos lotes y el lote control, empleando un  $\alpha = 0.05$  (Daniel, 1988).

Las hipótesis a probar en cada uno de los diferentes análisis fueron las siguientes:

Para las filas ( factor 1: generaciones):

$$H_0 : \mu P = \mu F1 = \mu F2 = \mu F3 = \mu F4 = \mu F5$$

H1 : no lo sean

Para las columnas (Factor 2: tratamientos):

$$H_1 : \mu \text{Ordram } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} = \mu \text{Ordram } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50} = \mu \text{Sutan } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} = \mu \text{Sutan } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50} = \mu \text{Testigo}$$

H1 : no lo sean

Las hipótesis de las pruebas a posteriori de Contraste Lineal, empleadas para determinar las diferencias existentes entre los diversos tratamientos y el lote testigo, así como las existentes entre los tratamientos y las dosis administradas de fueron las siguientes:

I. Ordram contra Sutan

$$\frac{\text{Ordram } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} + \text{Ordram } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50}}{2} \quad \text{v.s.} \quad \frac{\text{Sutan } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} + \text{Sutan } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50}}{2}$$

II. Ordram  $\frac{1}{2}$  DL<sub>50</sub> contra Ordram  $\frac{3}{4}$  DL

$$\text{Ordram } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} \quad \text{v.s.} \quad \text{Ordram } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50}$$

III. Sutan  $\frac{1}{2}$  DL contra Sutan  $\frac{3}{4}$  DL<sub>50</sub>

$$\text{Sutan } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} \quad \text{v.s.} \quad \text{Sutan } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50}$$

IV. Sutan contra testigo

$$\text{Sutan } \frac{1}{2} \text{ DL} + \text{Sutan } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50} \quad \text{v.s.} \quad \text{Testigo}$$

V. Ordram contra testigo

$$\text{Ordram } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} + \text{Ordram } \frac{3}{4} \quad \text{v.s.} \quad \text{Testigo}$$

VI. Ordram  $\frac{1}{2}$  DL<sub>50</sub> y Sutan  $\frac{1}{2}$  DL<sub>50</sub> contra Ordram  $\frac{3}{4}$  DL<sub>50</sub> y Sutan  $\frac{3}{4}$  DL<sub>50</sub>

$$\frac{\text{Ordram } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50} + \text{Sutan } \frac{1}{2} \text{ DL}_{50}}{2} \quad \text{v.s.} \quad \frac{\text{Ordram } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50} + \text{Sutan } \frac{3}{4} \text{ DL}_{50}}{2}$$

## A. Análisis del peso a los 15 meses de Tratamiento

Generación	Ordram 1/2 DL	Ordram 3/4 DL	Sutan 1/2 DL	Sutan 3/4 DL	Testigo
P	24.75	25.65	27.35	25.65	35.35
F1	26	23.7	23.35	26.5	35.2
F2	23.35	23.05	25	23.7	36.85
F3	23.15	21.55	24.55	22.95	33.65
F4	23.95	21.25	22.85	24	35.75
F5	22.35	20.95	21.35	33.2	34.6

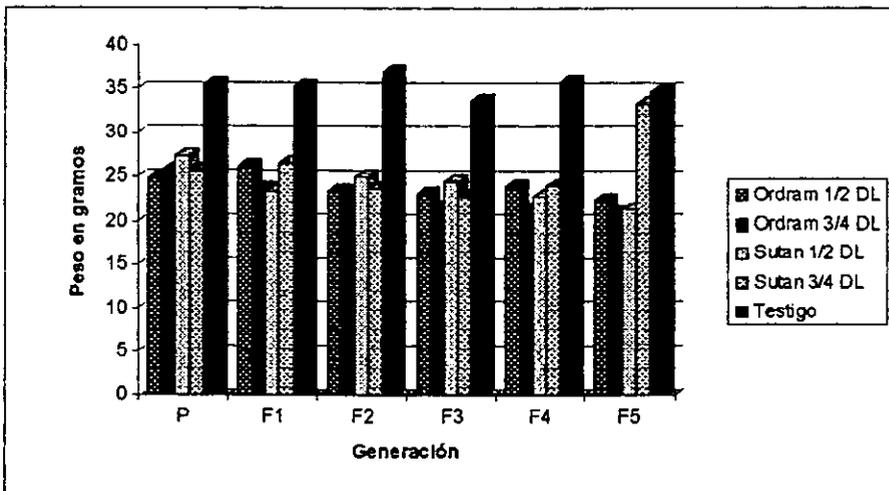


Figura 10: Gráfico que muestra la variación de peso de los ratones en los diferentes lotes y generaciones

## Análisis de datos

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	138.75	27.75	18.935
Fila 2	5	174.75	28.95	23.1725
Fila 3	5	131.95	26.39	34.744255
Fila 4	5	125.75	25.15	23.715
Fila 5	5	127.8	25.56	33.6855
Fila 6	5	132.45	26.49	46.26175
Columna 1	6	143.55	23.925	1.67975
Columna 2	6	136.15	22.6916667	3.26241667
Columna 3	6	144.45	24.075	4.25175
Columna 4	6	155.9	25.9833333	14.2846667
Columna 5	6	211.4	35.233333	1.18066667

## Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	21.99841667	5	4.399283333	0.86942016	4.1026737556
Columnas	620.8961667	4	155.2240417	30.8767396	4.430717127
Error	101.1998333	20	5.059991667		
Total	744.08224167	29			

## Pruebas a posteriori para las columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	EL	$\Sigma L_i$	F
143.55	136.15	144.45	155.9	211.4			
-1	-1	-1	-1	4	265.55	120	116.2876412
1	1	-1	-1	0	-20.85	24	3.516017782
1	-1	1	-1	0	-4.05	24	0.135244932
1	-1	0	0	0	7.4	12	0.903034592
0	0	1	-1	0	-11.45	12	2.181981188
0	0	-1	-1	2	122.45	36	82.42089538
-1	-1	0	0	2	143.1	36	112.5638564

Empleando la F de 4.35 a (1,20) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en una disminución del peso (ver figura 10), así como entre el ordram y el sutan por separado, no así entre las dosis probadas (1/2 y 3/4 de la DL) en cada herbicida. El decremento de peso se puede inferir que está dado conforme nacen las nuevas generaciones y es independiente de la dosis administrada del herbicida.

## B. Análisis del Tiempo de Gestación para las diversas generaciones y tratamientos

CUADRO 23. TIEMPO EN DÍAS DEL PERIODO DE GESTACIÓN					
Generación	Ordram ½ D.L.	Ordram ¼ D.L.	Sutan ½ D.L.	Sutan ¼ D.L.	Testigo
F1	35	33	38	40	25
F2	51	49	47	45	34
F3	60	65	63	72	32
F4	134	148	141	172	40
F5	186	174	179	188	41

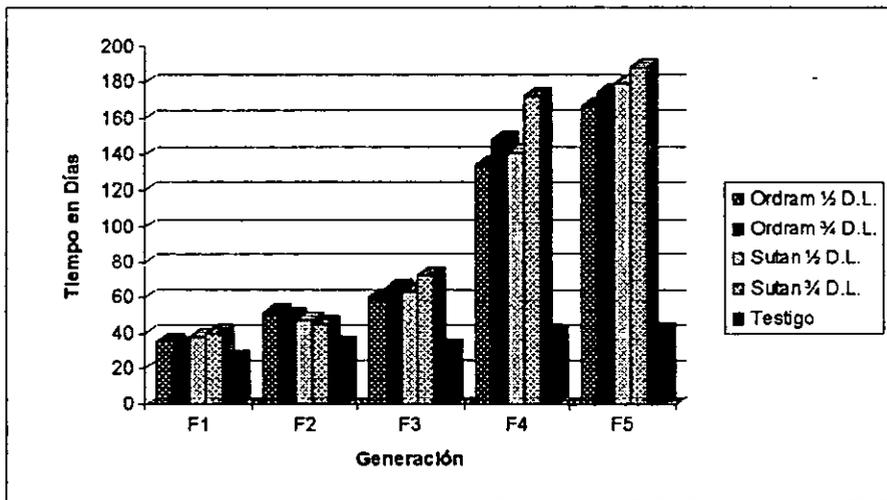


Figura 11: Gráfica que muestra la variación en el tiempo de gestación en las generaciones de los lotes tratados así como en las generaciones del lote testigo

## Análisis de datos

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	171	34.2	33.7
Fila 2	5	226	45.2	44.2
Fila 3	5	292	58.4	237.3
Fila 4	5	635	127	2570
Fila 5	5	748	149.6	3749.3
Columna 1	5	448	89.6	2288.7
Columna 2	5	489	97.8	3975.7
Columna 3	5	468	93.6	3934.8
Columna 4	5	517	103.4	6689.8
Columna 5	5	172	34.4	42.3

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	53934.64	4	13483.66	19.07409298	4.772573448
Columnas	15227.44	4	3806.86	5.385211698	4.772573448
Error	11310.56	16	706.91		
Total	80472.64	24			

## Pruebas a posteriori para las columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	$\Sigma L$	$\Sigma Li$	F
448	489	468	517	172			
-1	-1	-1	-1	4	-1212	100	20.77978809
1	1	-1	-1	0	-70	20	0.346576772
1	-1	1	-1	0	-72	20	0.36686195
1	-1	0	0	0	-23	10	0.074832723
0	0	1	-1	0	-48	10	0.339647197
0	0	-1	-1	2	-641	30	19.37450783
-1	-1	0	0	2	-571	30	15.37399858

Pruebas a posteriori para las filas

Fila 1	Fila 2	Fila 3	Fila 4	Fila 5	$\Sigma$	$\Sigma \lambda_i$	F
171	226	292	835	748			
-1	-1	-1	-1	4	1668	100	39.35754198
1	1	-1	-1	0	-530	20	18.86815861
1	-1	1	-1	0	-398	20	11.20397222
1	-1	0	0	0	-55	10	0.427918688
0	0	1	-1	0	-343	10	16.64271265
0	0	-1	-1	2	569	30	15.26648843
-1	-1	0	0	2	1088	30	56.95213441

Empleando la F de 4.49 a (1,6) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en un aumento del tiempo de gestación (ver figura 11), el cual resulta estar más influenciado por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, y por tanto ésta aumenta entre cada una de las generaciones observadas. El aumento del tiempo de gestación se puede inferir que está alterado en cada una de las nuevas generaciones que nacen (obsérvese la mínima variación en el lote testigo), y es dependiente de las dosis administradas del herbicida, ya que el efecto más marcado es apreciable en ambas dosis del herbicida ordram que en las dosis de sutan, y sólo es superada por la de 3/4 DL de sutan.

C. Análisis del número de crías por camada en cada uno de los lotes y generaciones:

CUADRO 24. NÚMERO DE CRIAS POR CAMADA					
Generación	Ordram ½ D.L.	Ordram ¼ D.L.	Sutan ½ D.L.	Sutan ¼ D.L.	Testigo
F1	7	6	7	8	8
F2	6	5	6	6	8
F3	6	6	5	6	9
F4	5	5	5	4	8
F5	4	3	4	4	8

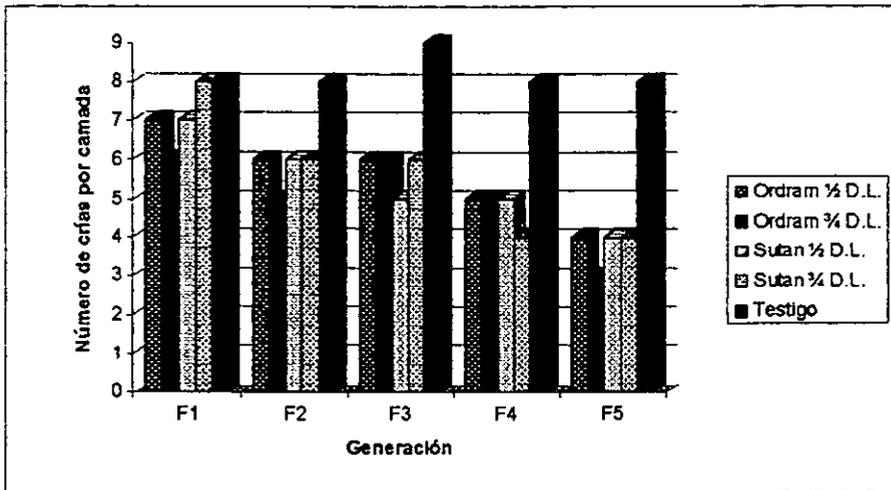


Figura 12: Gráfica que muestra el número de crías por camada en los lotes tratados y en el testigo

## Análisis de datos

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	36	7.2	0.7
Fila 2	5	31	6.2	1.2
Fila 3	5	32	6.4	2.3
Fila 4	5	27	5.4	2.3
Fila 5	5	23	4.6	3.8
Columna 1	5	28	5.6	1.3
Columna 2	6	25	5	1.5
Columna 3	5	27	5.4	1.3
Columna 4	5	28	5.6	2.8
Columna 5	5	41	8.2	0.2

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	19.76	4	4.94	9.148148148	4.772573448
Columnas	32.56	4	8.14	15.07407407	4.772573448
Error	8.64	16	0.54		
Total	60.96	24			

## Pruebas a posteriori para filas

Fila 1	Fila 2	Fila 3	Fila 4	Fila 5	IL	$\Sigma \lambda_i$	F
36	31	32	27	23			
-1	-1	-1	-1	4	-34	100	21.40740741
1	1	-1	-1	0	8	20	5.925925926
1	-1	1	-1	0	10	20	9.259259259
1	-1	0	0	0	5	10	4.62962963
0	0	1	-1	0	5	10	4.62962963
0	0	-1	-1	2	-13	30	10.43208877
-1	-1	0	0	2	-21	30	27.22222222

Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	$\Sigma I$	$\Sigma \lambda_i$	F
29	25	27	28	41			
-1	-1	-1	-1	4	56	100	58.07407407
1	1	-1	-1	0	-2	20	0.37037037
1	-1	1	-1	0	2	20	0.37037037
1	-1	0	0	0	3	10	1.666666667
0	0	1	-1	0	-1	10	0.185185185
0	0	-1	-1	2	27	30	45
-1	-1	0	0	2	29	30	51.91358025

Empleando la F de 4.49 a (1,16) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en una disminución en el número de crías por camada (ver figura 12), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, como de la acumulación en cada generación. Así, la disminución del número de crías por camada es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL tanto para ordram como para sutan.

D. Análisis de los niveles de actividad enzimática de  $\alpha$ -amilasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones macho

Generación	Ordram 1/2 DL.	Ordram 3/4 DL.	Sutan 1/2 DL.	Sutan 3/4 DL.	Testigo
F2	194.2	207.25	216.95	227.5	152.65
F3	193	208	216.85	225.3	152.7
F5	192.3	207.35	218.8	224.6	152.35

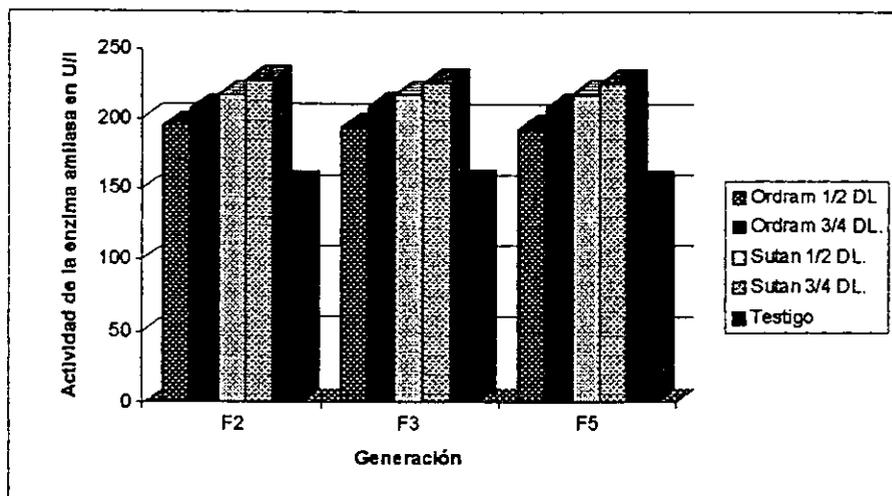


Figura 13: Gráfica que muestra el aumento en los niveles de actividad de la enzima  $\alpha$ -amilasa

Análisis de datos				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	998.56	199.71	942.83925
Fila 2	5	995.85	199.17	817.7145
Fila 3	5	993.4	198.68	815.63075
Columna 1	3	579.5	193.1666667	0.923333333
Columna 2	3	622.6	207.5333333	0.165833333
Columna 3	3	650.6	216.8666667	0.005833333
Columna 4	3	677.4	225.8	2.29
Columna 5	3	457.7	152.5666667	0.035833333

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	2.65433333	2	1.327166667	2.535583 <sub>20</sub> 6	6.64906724
Columnas	9900.5 <sub>20</sub> 667	4	2475.137667	4728.809425	7.00606 <sub>20</sub> 61
Error	4.18733333	8	0.523416667		
Total	9907.392333	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	EL	ELt	F
579.5	622.6	620.6	677.4	457.7			
-1	-1	-1	-1	4	-899.3	60	15571.4214
1	1	-1	-1	0	-125.9	12	2523.61248
1	-1	1	-1	0	-89.9	12	777.9032
1	-1	0	0	0	-43.1	6	591.201353
0	0	1	-1	0	-26.6	6	228.702436
0	0	-1	-1	2	-412.6	18	18069.1779
-1	-1	0	0	2	-286.7	18	8724.39526

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en aumento en los niveles de actividad de la  $\alpha$ -amilasa (ver figura 13), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, no observándose una influencia por acumulación en cada generación. Así, el aumento de la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL para sutan.

E. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la acetilcolinesterasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones machos

CUDRO 26. VALORES MEDIOS DE COLINESTERASA U/ML PARA LOS RATONES MACHOS					
Generación	Ordram 1/2 DL	Ordram 3/4 DL	Sutan 1/2 DL	Sutan 3/4 DL	Testigo
F2	1.64	1.55	1.41	1.34	1.88
F3	1.65	1.53	1.445	1.37	1.89
F5	1.64	1.58	1.415	1.335	1.88

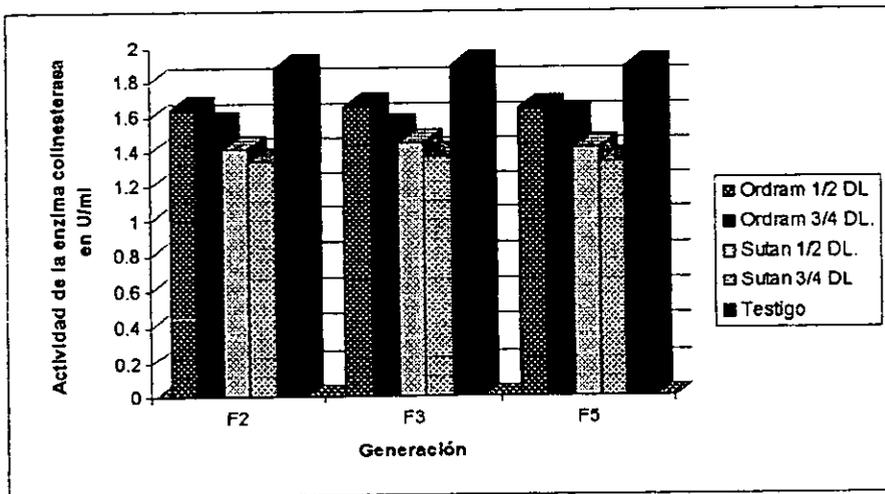


Figura 14: Gráfica que muestra la disminución en la actividad de la enzima colinesterasa

#### Análisis de datos

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	7.82	1.564	0.04493
Fila 2	5	7.885	1.577	0.041445
Fila 3	5	7.85	1.57	0.045875
Columna 1	3	4.83	1.643333333	3.33333E-05
Columna 2	3	4.66	1.553333333	0.000633333
Columna 3	3	4.27	1.423333333	0.000358333
Columna 4	3	4.045	1.348333333	0.000358333
Columna 5	3	5.65	1.883333333	3.33333E-05

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	0.000423333	2	0.000211667	0.702627939	8.64906724
Columnas	0.52344	4	0.13086	434.3900415	7.00608 <sub>10</sub> 81
Error	0.00241	8	0.00030125		
Total	0.526273333	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	EL	$E\lambda_1$	F
4.93	4.66	4.27	4.045	5.65			
-1	-1	-1	-1	4	4.695	60	1219.53112
1	1	-1	-1	0	1.275	12	449.6887967
1	-1	1	-1	0	0.495	12	67.78008289
1	-1	0	0	0	0.27	6	40.3319 <sub>10</sub> 21
0	0	1	-1	0	0.225	6	28.00829876
0	0	-1	-1	2	2.985	18	1043.18 <sub>10</sub> 21
-1	-1	0	0	2	1.71	18	539.253112

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en una disminución en la actividad de la enzima colinesterasa (ver figura 14), el cual resulta estar dado por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, más no como fenómeno de la acumulación en cada generación. Así, la disminución en la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en ambas dosis ( 1/2 y 3/4 DL) para sutan.

F. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la glutámico-pirúvico transaminasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones machos

CUADRO 27. VALORES MEDIOS DE GPT EN U/L PARA RATONES MACHO					
Generación	Ordram 1/2 DL	Ordram 3/4 DL.	Sutan 1/2 DL.	Sutan 3/4 DL.	Testigo
F2	249.4	254.1	257.9	262.1	221.7
F3	249	254.75	258.15	262.8	221.15
F5	249.35	250.05	256.25	261.3	221.75

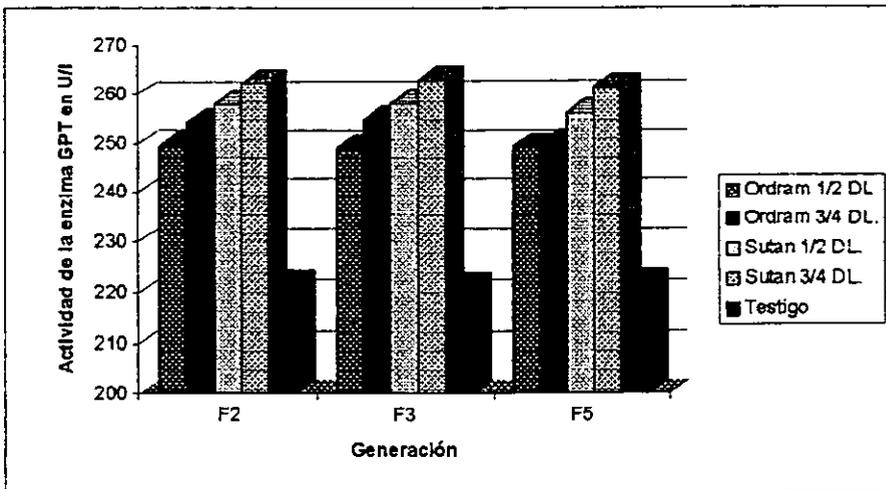


Figura 15: Gráfica que muestra el aumento en los niveles de actividad de la enzima GPT

Análisis de datos				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	6	1246.2	249.04	256.568
Fila 2	5	1245.85	249.17	270.87575
Fila 3	6	1238.7	247.74	234.8255
Columna 1	3	747.75	249.25	0.0475
Columna 2	3	758.9	252.966667	6.485833333
Columna 3	3	772.3	257.4333333	1.065833333
Columna 4	3	786.2	262.066667	0.583333333
Columna 5	3	664.6	221.5333333	0.110833333

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	8.253	2	3.1265	2.429843593	8.64908724
Columnas	3034.383333	4	758.5958333	589.5631818	7.00806 <sub>97</sub> 81
Error	10.29368667	8	1.286708333		
Total	30 <sub>39</sub> .83	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	EL	$\Sigma \lambda_i$	F
747.75	758.8	772.3	786.2	884.6			
-1	-1	-1	-1	4	-408.75	60	2143.00784
1	1	-1	-1	0	-51.85	12	174.11499
1	-1	1	-1	0	-27.05	12	47.3885237
1	-1	0	0	0	-11.15	6	18.1034293
0	0	1	-1	0	-13.9	6	25.0263916
0	0	-1	-1	2	-229.3	18	2270.1549
-1	-1	0	0	2	-177.45	18	1359.58316

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en aumento en los niveles de actividad de la GPT (ver figura 15), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, no observándose una influencia por acumulación en cada generación. Así, el aumento de la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL para sutan.

G. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la lactatodeshidrogenasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones machos

Generación	Ordram 1/2 DL	Ordram 3/4 DL	Sutan 1/2 DL	Sutan 3/4 DL	Testigo
F2	186.7	243.7	215.3	237.1	115.1
F3	187.5	241.2	215.85	236.4	114.9
F5	187.8	242.1	218.05	236.8	115.85

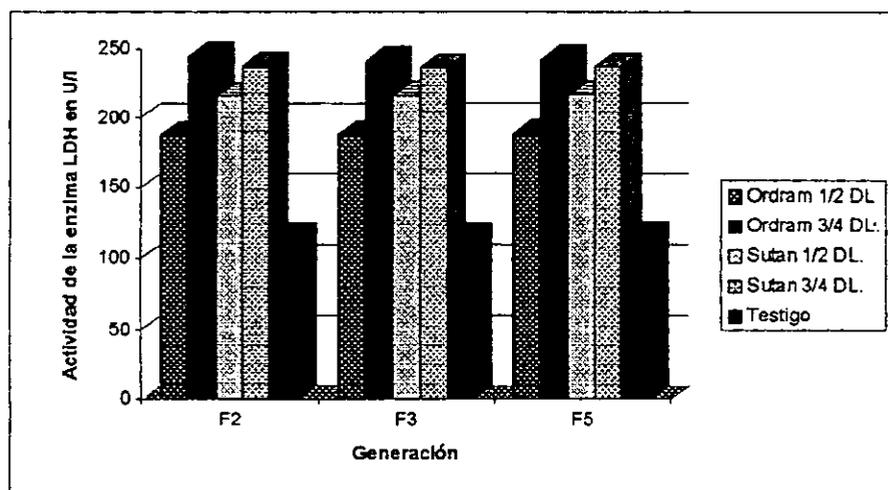


Figura 16: Gráfica que muestra el aumento en la actividad de la enzima LDH

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	997.9	199.58	2726.052
Fila 2	5	995.85	199.13	2895.4495
Fila 3	5	998.6	199.72	2853.48075
Columna 1	3	582	187.3333333	0.323333333
Columna 2	3	727	242.3333333	1.803333333
Columna 3	3	647	215.6666667	0.140833333
Columna 4	3	710.3	236.7666667	0.123333333
Columna 5	3	345.85	115.2833333	0.298333333

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	0.9 <sub>99</sub> 333333	2	0.475166667	0.966522586	8.64906724
Columnas	32175.898	4	8043.999	16362.06255	7.00606 <sub>99</sub> 81
Error	3.933	6	0.481625		
Total	32180.87933	14			

El análisis de varianza para la enzima LDH resultó ser estadísticamente significativo, experimentalmente se observó un aumento en la actividad de ésta enzima en suero, lo cual puede verse en la gráfica 7, en donde se aprecia de nuevo el comportamiento debido a las dosis manejadas y casi sin variación a través de las generaciones.

H. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la enzima  $\alpha$ -amilasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones hembra

Generación	Ordram 1/2	Ordram 3/4	Sutan 1/2	Sutan 3/4	Testigo
F2	193.6	208.7	217.9	225.9	150.05
F3	193.6	207.8	217.6	227.2	150.05
F4	192.9	207.4	216.7	225.4	151

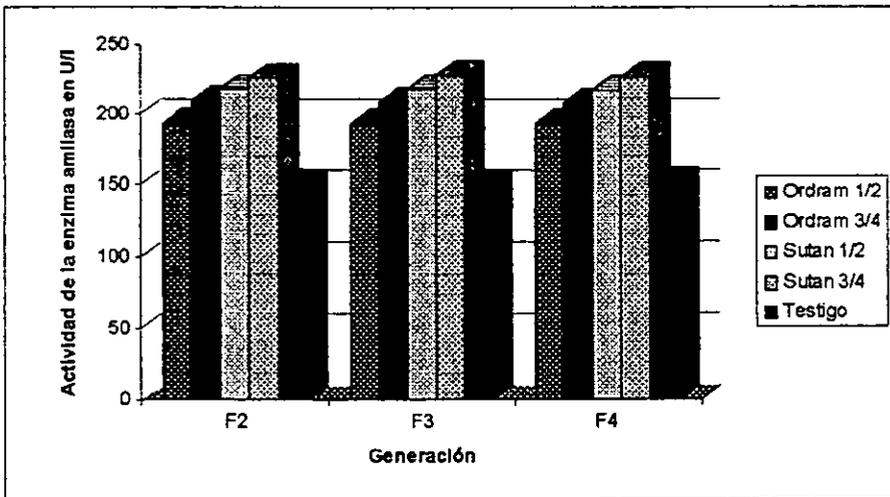


Figura 17: Gráfica que muestra el aumento en la actividad de la enzima amilasa

Análisis de datos				
RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	996.15	199.23	899.877
Fila 2	5	996.25	199.25	910.8975
Fila 3	5	993.4	198.68	855.377
Columna 1	3	580.1	193.3666667	0.183333333
Columna 2	3	623.9	207.9666667	0.443333333
Columna 3	3	652.2	217.4	0.39
Columna 4	3	678.5	226.1666667	0.863333333
Columna 5	3	451.1	150.3666667	0.300833333

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	1.046333333	2	0.523166667	1.277834317	8.64906724
Columnas	10661.73067	4	2665.432667	6510.317932	7.00606 <sub>90</sub> 61
Error	3.275333333	8	0.409416667		
Total	10666.05233	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	$\Sigma L$	$\Sigma \lambda_i$	F
580.1	623.8	652.2	678.5	451.1			
-1	-1	-1	-1	4	1016.5	60	149520.5474
1	1	-1	-1	0	-126.7	12	3267.431302
1	-1	1	-1	0	-70.1	12	1000.205576
1	-1	0	0	0	-43.8	6	780.9647667
0	0	1	-1	0	-26.3	6	281.5754119
0	0	-1	-1	2	-428.5	18	24915.15705
-1	-1	0	0	2	-301.6	18	12359.48707

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en aumento en los niveles de actividad de la  $\alpha$ -amilasa (ver figura 17), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, no observándose una influencia significativa por acumulación en cada generación. Así, el aumento de la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL para sutan.

I. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la enzima colinesterasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones hembra

Generación	Ordram ½	Ordram ¾	Sutan 1/2	Sutan ¾	Testigo
F2	1.66	1.57	1.45	1.37	1.82
F3	1.85	1.6	1.42	1.35	1.84
F4	1.83	1.57	1.47	1.35	1.83

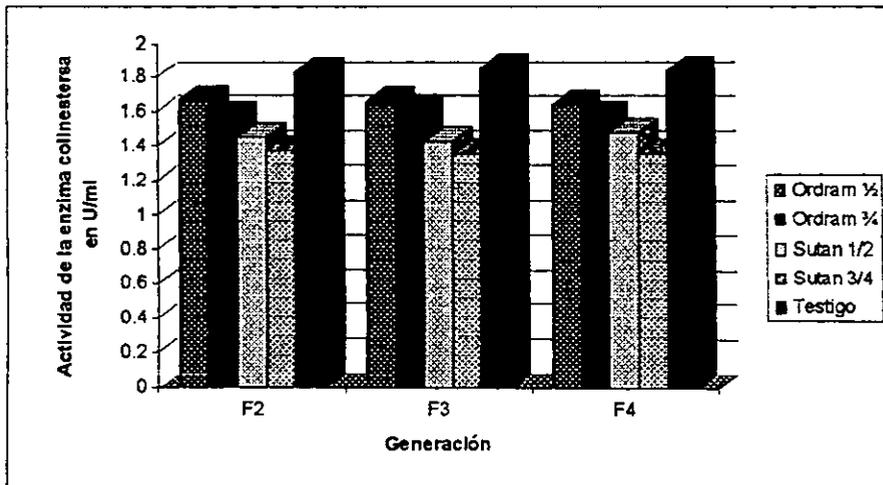


Figura 18: Gráfica que muestra la disminución en los niveles de actividad de la enzima colinesterasa

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	7.87	1.574	0.03123
Fila 2	5	7.86	1.572	0.03777
Fila 3	5	7.85	1.57	0.0324
Columna 1	3	4.94	1.64666667	0.000233333
Columna 2	3	4.74	1.58	0.0003
Columna 3	3	4.34	1.44666667	0.000633333
Columna 4	3	4.07	1.35666667	0.000133333
Columna 5	3	5.49	1.83	1E-04

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	4E-05	2	2E-05	0.057971014	8.64906724
Columnas	0.40284	4	0.10071	291.9130435	7.00806 <sub>27</sub> 81
Error	0.00276	8	0.000345		
Total	0.40564	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	$\Sigma L$	$\Sigma Lt$	F
4.94	4.74	4.34	4.07	5.49			
-1	-1	-1	-1	4	3.87	80	723.521739
1	1	-1	-1	0	0.82	12	182.415459
1	-1	1	-1	0	0.47	12	53.3574879
1	-1	0	0	0	0.2	6	19.3236715
0	0	1	-1	0	0.27	6	35.2173913
0	0	-1	-1	2	2.57	18	1063.59098
-1	-1	0	0	2	1.3	18	272.141707

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en una disminución en la actividad de la enzima colinesterasa (ver figura 18), el cual resulta estar dado por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, más no como fenómeno de la acumulación en cada generación. Así, la disminución en la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en ambas dosis (1/2 y 3/4 DL) para sutan.

J. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la enzima glutámico-pirúvico transaminasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones hembra

Generación	Ordram 1/2	Ordram 3/4	Sutan 1/2	Sutan 3/4	Testigo
F2	249	252.9	257.7	261.2	220.6
F3	248.8	253.4	257.3	261.8	221.1
F4	240.1	251.2	258.8	264.4	222.4

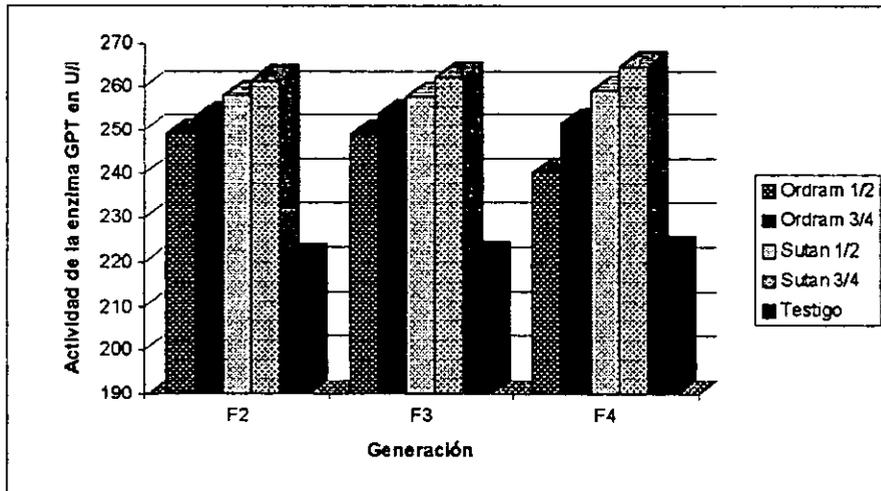


Figura 19: Gráfica que muestra el aumento en los niveles de actividad de la enzima GPT

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	1241.4	248.28	260.927
Fila 2	5	1242.4	248.48	257.297
Fila 3	5	1236.9	247.38	277.922
Columna 1	3	737.9	245.9666667	25.82333333
Columna 2	3	757.5	252.5	1.33
Columna 3	3	773.6	257.8333333	0.603333333
Columna 4	3	787.4	262.4666667	2.893333333
Columna 5	3	664.1	221.3666667	0.863333333

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	3.433333334	2	1.716666667	0.230429833	6.84906724
Columnas	3124.990687	4	781.2476667	104.8771898	7.00606261
Error	58.59333333	8	7.449166667		
Total	3188.017333	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	EL	EL <sub>1</sub>	F
737.9	757.5	773.8	787.4	864.1			
-1	-1	-1	-1	4	-400.2	60	358.336649
1	1	-1	-1	0	-85.8	12	48.4353955
1	-1	1	-1	0	-33.2	12	12.3306858
1	-1	0	0	0	-19.8	6	8.59514487
0	0	1	-1	0	-13.6	6	4.1382705
0	0	-1	-1	2	-233	18	404.884961
-1	-1	0	0	2	-167.2	18	208.493418

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en aumento en los niveles de actividad de la GPT (ver figura 19), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, no observándose una influencia por acumulación en cada generación. Así, el aumento de la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL por sutan.

K. Análisis de los niveles de actividad enzimática de la enzima lactatodeshidrogenasa en cada uno de los lotes bajo tratamiento para las generaciones F2, F3 y F5 en los ratones hembra

Generación	Ordram 1/2	Ordram 3/4	Sutan 1/2	Sutan 3/4	Testigo
F2	185.7	242.4	214.4	238.5	114
F3	186.7	241.7	216.1	237.2	114
F4	186.7	241.5	216.2	236.8	115.2

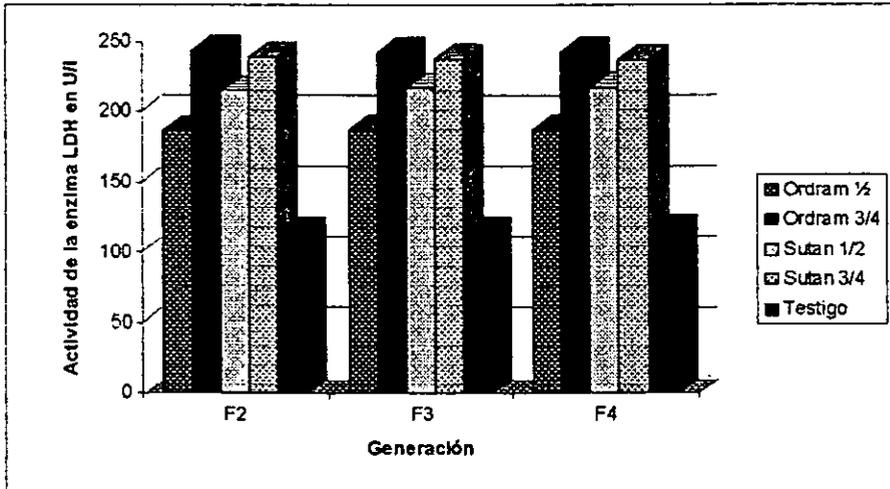


Figura 20: Gráfica que muestra el aumento en los niveles de actividad de la enzima LDH

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	995	199	2770.715
Fila 2	5	995.7	199.14	2737.793
Fila 3	5	996.4	199.28	2676.067
Columna 1	3	559.1	186.3666667	0.333333333
Columna 2	3	725.6	241.8666667	0.223333333
Columna 3	3	646.7	215.5666667	1.023333333
Columna 4	3	712.5	237.5	0.79
Columna 5	3	343.2	114.4	0.48

## Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Filas	0.196	2	0.098	0.14244186	8.64906724
Columnas	32732.756	4	8183.189	11894.17006	7.00606781
Error	5.504	8	0.688		
Total	32738.456	14			

## Pruebas a posteriori para columnas

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5	$\Sigma L$	$\Sigma \lambda_i$	F
559.1	725.6	646.7	712.5	343.2			
-1	-1	-1	-1	4	-1271.1	60	39139.9033
1	1	-1	-1	0	-74.5	12	672.268853
1	-1	1	-1	0	-232.3	12	6536.25121
1	-1	0	0	0	-166.5	6	6715.66134
0	0	1	-1	0	-65.8	8	1048.8469
0	0	-1	-1	2	-672.6	18	36551.9897
-1	-1	0	0	2	-598.3	18	28905.2721

Empleando la F de 5.32 a (1,8) grados de libertad y a  $\alpha=0.05$ , se tiene que existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el lote testigo, lo cual se refleja en aumento en los niveles de actividad de la LDH (ver figura 20), el cual resulta estar dado tanto por las dosis (1/2 y 3/4 de la DL) de cada herbicida, no observándose una influencia significativa por acumulación en cada generación. Así, el aumento de la actividad es dependiente de las dosis administradas del herbicida, observándose el efecto más marcado en la dosis de 3/4 DL para sutan.

## *DISCUSSION*

## DISCUSION

Concluido el tratamiento durante el cual se administraron diferentes dosis tóxicas de dos herbicidas de tipo tiocarbámico, con la finalidad de observar sus efectos a través de varias generaciones, se encontró una disminución de peso en los diferentes lotes tratados. Dicha disminución al ser analizada estadísticamente, resultó ser mayor en cada nueva generación y mostró una dependencia con la dosis del herbicida, siendo la dosis de  $\frac{3}{4}$  DL, la que demostró tener un mayor efecto en la disminución de peso (ver figura 10). Las variaciones de peso mostradas por el lote testigo, no resultaron ser significativas estadísticamente y se puede considerar un aumento de peso por generación uniforme en los individuos (consultar análisis de varianza para la figura 10).

Es muy probable que la disminución de peso se deba a los efectos de los herbicidas administrados en la comida y la interferencia de los mismos con el metabolismo general de los animales. Además dentro de los síntomas de una intoxicación crónica por carbamatos o bien por organofosforados se encuentra la disminución en la ingesta de alimentos (Cox y Chengelis, 1992; Cochran, 1997).

En cuanto al tiempo de gestación, este se vió notablemente aumentado en los lotes bajo tratamiento, observándose un aumento mayor en cada generación, así como una dependencia de la dosis y el tipo de herbicida. La gestación promedio de los ratones testigo a través de las generaciones observadas fue de 34.4 días, mientras que para el herbicida Sutan  $\frac{3}{4}$  DL fue de 103.4 días. Así mismo el número de crías y viabilidad a término por sexo de las crías, se observa un decremento en la fertilidad en los lotes tratados en comparación con el lote control, en donde nacen aproximadamente por cada generación 57.5% de hembras contra el 42.5% de machos, tomando como camada promedio, una camada de 8 individuos. Empleando como base estos datos experimentales, es posible comparar al resto de los lotes tratados y encontrar que no sólo el número de individuos por camada baja, sino también el sexo de los individuos, siendo los machos los más afectados en este caso (ver los árboles genealógicos figuras 4 y 5).

Estos datos nos hacen pensar que se trata muy probablemente de un efecto letal dominante influido por el sexo causado por la administración de los herbicidas, con una expresividad y penetración mayor en los ratones machos que en los ratones hembra (Cox y Chengelis, 1992; Cochran, 1997).

El efecto causado por los carbamatos en cuanto a fertilidad se refiere, se tiene bien descrito para el ordram, del cual se sabe que su sitio de acción a nivel de gónadas se centra en el paso de las espermátides a espermaticitos (Working, 1989; Witorsh, 1995; Cochran, 1997), principalmente en la región de los túbulos seminíferos. Además se descarta que la disminución en la fertilidad se deba a una alteración de los niveles hormonales, sino más bien por un efecto necrosante a nivel

de las células de Sertoli (Ewing y Desjardins, 1991; Witorsh 1995), lo cual se traduce en una serie de anomalías morfológicas y funcionales en los espermatozoides.

Estos datos aunados a los reportados por la compañía química Stauffer, permiten establecer a los tiocarbamatos como potenciales reprotóxicos para el ser humano (Stauffer Chemical Co., Cold Creek, Alabama, 1984, DPR by ICI Vol. 228-001, N° 019849-019851).

Otros de los efectos aquí evaluados fueron la hepatotoxicidad y la utilidad de la variación de los niveles de actividad enzimática en suero, no sólo como consecuencia de las alteraciones de la actividad metabólica debido a daño crónico, sino también como biomonitores de detección temprana de toxicidad.

Con esta finalidad se emplearon diversas enzimas, las cuales se escogieron debido a que presentan una implicación clínica directa con trastornos metabólicos (amilasa y LDH), otras por que se afectan al haber daño hepático (GPT y LDH), y por último enzimas que se ven afectadas directamente por el tóxico a probar (acetilcolinesterasa).

El hígado contiene muy diversas enzimas, algunas de las cuales están presentes en el suero en concentraciones muy pequeñas (Stein, 1988; Murray, Granner et al, 1996). Los niveles de dichas enzimas en suero permiten determinar la existencia de alteraciones hepáticas. La elevación de la actividad de una enzima hepática concreta, refleja un aumento en la excreción de ésta, desde los hepatocitos hacia la sangre. La salida puede deberse desde un aumento en la permeabilidad de las membranas de los hepatocitos hasta necrosis del tejido, manifestándose el aumento de su nivel circulante en sangre por su aumento en su actividad detectable en suero (Stein 1988).

Los herbicidas probados en el experimento, resultaron afectar al hígado, durante una exposición crónica vía oral, lo suficiente como para elevar el nivel de actividad de las transaminasas y la lactatodeshidrogenasa en suero. Las aminotransferasas han sido empleadas como indicadores sensibles de alteración celular hepática, permitiendo el reconocimiento de afecciones o daños de tipo agudo principalmente, aunque no se ha descartado su empleo clínico en los casos de afecciones crónicas (Stein, 1988). Los niveles de GPT observaron un aumento desde la segunda generación en todos los lotes tratados, y mantuvieron casi constante dicha elevación hasta la quinta generación (ver figuras 15 y 19). Se aprecia además una influencia directa debida a la dosis administrada, siendo la mayor elevación por el herbicida Sutan en su dosis de  $\frac{1}{4}$  DL.

Por su parte la medición de la lactatodeshidrogenasa (LDH) no nos revela únicamente daño a nivel hepático, si no también un trastorno general del metabolismo, ya que dicha enzima se encuentra presente en diferentes órganos y tejidos. Esta enzima al igual que la alfa amilasa, resultaron elevadas en las tres generaciones observadas, pero al igual que la GPT sólo resultaron estar elevadas dependiendo del tratamiento y no por acumulación a través de las generaciones

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

(ver figuras 16 y 20), con lo cual se descarta un efecto potenciado debido al tratamiento a través de las generaciones, es decir el daño no aumento en individuos provenientes de padres previamente dañados.

El comportamiento de los niveles de actividad enzimática en suero fue similar en ratones machos como en ratones hembra, no existiendo una diferencia significativa estadísticamente a un alfa de 0.01, observándose nuevamente una relación entre los diferentes tratamientos, siendo el valor más elevado en todos los casos el de la dosis de sutan  $\frac{3}{4}$  DL<sub>50</sub>.

Para el caso de la acetilcolinesterasa, enzima que se ve alterada con especificidad por parte de los químicos empleados, y cuya medición de sus niveles de actividad en suero resulta ser un excelente indicador de intoxicación por carbamatos o bien por organofosforados (Rotemberg, 1995), se observó con una marcada disminución en los niveles de actividad en suero en los lotes bajo tratamiento, siendo esta disminución dependiente de la dosis de herbicida (ver figuras 14 y 18), observándose una mayor disminución para el caso de sutan  $\frac{3}{4}$  DL, tanto para machos como para hembras. Al igual que el resto de las enzimas analizadas, no se observó un comportamiento en su disminución de su actividad debida a acumulación a través de las generaciones. La disminución de la actividad en este caso es debida a una inhibición por parte de las moléculas de herbicida sobre el sitio activo, con lo cual se bloquea su acción sobre la acetilcolina, presentandose de esta manera los síntomas colinérgicos de la intoxicación por carbamatos (Gilman y Rall, 1990; Lifshitz y Rotemberg, 1994).

En cuanto a la necropsia se refiere, la comparación de los diversos órganos blanco a ser afectados por los herbicidas en los ratones bajo los distintos tratamientos y el lote testigo, no presentaron diferencias que evidenciaran una anomalía patológica de acuerdo a los lineamientos propuestos por Bartosék en 1982 (*Animals in Toxicology Research*), así como Cox y Chengelis en 1992 (*Animal Models in Toxicology*). Su evaluación se realizó mediante la observación del tamaño, irrigación y presencia o ausencia de fibras protéicas o acumulación de grasa, que en un momento revelarían un proceso degenerativo en hígado, tanto para machos como para hembras; y para el caso de gónadas en los machos y útero en las hembras.

Con las necropsias se pudo apreciar que el único órgano con alteraciones macroscópicas en forma de un acúmulo graso fue el hígado en los cuatro lotes tratados, de este fenómeno sin embargo no podemos establecer una relación directa de forma cuantitativa por dependencia exclusiva a la dosis del herbicida empleado, o bien, al tiempo de tratamiento y la dosis del químico.

En base a los resultados obtenidos podemos proponer el análisis de la actividad enzimática de las transaminasas y la acetilcolinesterasa como una forma de detección de intoxicación crónica por carbamatos en los seres humanos.

## *CONCLUSIONES*

## CONCLUSIONES

- El periodo de gestación de los ratones tratados se afecta, encontrándose que el tiempo entre el apareamiento y el nacimiento de las camadas, se ve aumentado en un 171% en promedio en cada generación.
- El número de ratones por camada va disminuyendo de una generación a otra, pasando de 8.2 ratones por camada a 3.75 en promedio para la última generación.
- El peso de los ratones tratados con los herbicidas disminuye, siendo mayor la pérdida en los machos que en las hembras, con una pérdida promedio del 32% con respecto al lote testigo.
- La actividad de la enzima colinesterasa disminuye en los ratones tratados, debido a la inhibición selectiva de los tóxicos empleados.
- La actividad de las enzimas  $\alpha$ -Amilasa, Glutámico Pirúvico Transaminasa y Lactato Deshidrogenasa, se encuentran aumentadas, debido posiblemente a una alteración en la permeabilidad de las membranas de los hepatocitos.
- No se observó una lesión mayor del parénquima hepático en las necropsias, ni tampoco cambios morfológicos en el hígado completo, por lo cual las enzimas hepáticas pueden ser empleadas como indicadores tempranos de daño causados por el herbicida Sutan.
- El herbicida molnato, Sutan por su nombre comercial, resultó ser el químico que más alteró la salud de los ratones expuestos de manera crónica y generacional, causando un mayor grado de reprotoxicidad y alteraciones metabólicas, que el herbicida butilato (Ordram).

*BIBLIOGRAFIA*

## BIBLIOGRAFIA

- ♦ Albert, L.A. 1996. Persistent Pesticides in Mexico. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 147: 1-42.
- ♦ Ames, B.N. y Gold, L.S. 1997. Environmental Pollution, Pesticides and Prevention of Cancer: Misconceptions. *The FASEB Journal* 11: 1041-1052.
- ♦ Ashton, F.M. y Crafts, A.S. 1981. MODE OF ACTION OF HERBICIDES. Editorial Wiley and Sons, N.Y., U.S.A.
- ♦ Ballantyne, B. 1993. GENERAL AND APPLIED TOXICOLOGY. Editorial Stockton Press, U.K.
- ♦ Barbera, C. 1989. PESTICIDAS AGRICOLAS. 4<sup>ta</sup> Edición. Editorial Omega, Barcelona, España.
- ♦ Bohomont, B.L. 1990. THE STANDARD PESTICIDES USERS GUIDE. Editorial Prentice Hall, N. Jersey, U.S.A.
- ♦ Bunyan, P. 1989. Carbamate Poisoning Effects Of Selected Carbamate Pesticides. *Life Science* 29:158-184.
- ♦ Cantoni, C. y Comi, C. 1997. Changes in the Concentrations of Pesticide-Residues in Foods and in Human tissues between 1960 and 1996. *Outlook on Agriculture* 26: 47-52.
- ♦ Cochran, R.C., Formoli, T.A. Pfeifer, K.F. y Aldous, C.N. 1997. Characterization of Risks associated with the use of Molinate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 25: 146-157.
- ♦ Corbett, J.R. 1982. THE BIOCHEMICAL MODE OF ACTION OF PESTICIDES. Editorial Academic Press, London, U.K.
- ♦ Cortinas, C. Galvan, S. 1981. El riesgo genético de los compuestos químicos. *Ciencia y Tecnología* 31: 200-208.
- ♦ Cox, G.S. y Chengelis, P.C. 1992. ANIMAL MODELS IN TOXICOLOGY. Editorial Marcel Dekker Inc. N.Y., U.S.A.
- ♦ Cremlym, R.J. 1995. PLAGUICIDAS MODERNOS Y SU ACCION BIOQUIMICA. Editorial Uteha/Limusa, México D.F., México.

- ♦ Daniel, W.W. 1988. BIOESTADISTICA. Editorial Limusa, D.F., México.
- ♦ Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G. 1988. MEDICAL TOXICOLOGY. DIAGNOSIS AND TREATMENT OF HUMAN POISONING. Editorial : Elsevier, North Holland, Amsterdam.
- ♦ Ewing, L.L. y Desjardins, C. 1991. CELL BIOLOGY OF THE TESTIS. Editorial Oxford University Press, N.Y., U.S.A.
- ♦ Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P. 1990. THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS. Editorial Oxford Pergamon Press, U.S.A.
- ♦ Guner, F. 1980. INTRODUCTION TO ENVIROMENTAL TOXICOLOGY. Editorial Elsevier, N.Y.; U.S.A.
- ♦ Hayes, W.J., Laws, E.R. y Wayland, J. 1991. HANDBOOK OF PESTICIDE TOXICOLOGY. Editorial Academic Press, U.S.A.
- ♦ Kearney, P.C. y Kaufman, D.D. 1975. HERBICIDES: CHEMISTRY, DEGRADATION AND MODE OF ACTION. 2<sup>a</sup> Edición. Editorial Marcel Dekker Inc., N.Y. U.S.A.
- ♦ Kurtz, P.H. 1990. Pralidoxime in the treatment of carbamate intoxication. *Am. J. Emergency Med* 8: 68-70.
- ♦ Lifshitz, M., Rotenberg, M. Sofer, S., et al. 1994. Carbamate poisoning and oxime treatment in Children : A clinical and laboratory study. *Pediatrics* 93: 652-655.
- ♦ Mabury, S.A., Cox, J.S. y Crosby, D.G. 1996. Environmental Fate of Rice Pesticides in California. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 147: pp.
- ♦ National Research Council 1989. Biological markers in reproductive toxicology. Editorial National Academy Press, Washington D.C. U.S.A.
- ♦ Ostrosky, P.W. 1994. El índice mitótico y la cinética de proliferación linfocitaria en el monitoreo biológico. *Gaceta Médica de México* p.p. 432-437.
- ♦ Parry, E.W. 1987. Toxicity and Hazard of the Herbicide. *Poultry Science* 52: 1625-1628.
- ♦ Rotenberg, M., Shefi M. et al. 1995. Differentiation between organophosphate and carbamate poisoning. *Clínica Chimica Acta* 234: 11-21.

- ♦ Sanz, P., Rodríguez, Vicente, M.C., Díaz, D., Repetto, J., Repetto M. 1991. Red-blood cell and total blood acetylcholinesterase and plasma pseudocholinesterase in humans: observed variances. *Clin. Toxicol* 29:81-90.
- ♦ Stein, H.J. 1988. MEDICINA INTERNA. Editorial Salvat, Barcelona, España.
- ♦ Stephenson, G.y Mc Ewn, F. 1988. THE USE AND SIGNIFICANCE OF PESTICIDES IN THE ENVIROMNTAL . Editorial John Wiley and Sons, N.Y., U.S.A.
- ♦ Villarias, J.L. 1981. GUIA DE APLICACION DE LOS HERBICIDAS. Editorial Mundi Prensa, Madrid, España.
- ♦ Wain, L. 1988. El Control Quimico del Crecimiento de las Plantas en los Reguladores de las Plantas y los Insectos. *Editorial Conacyt*.
- ♦ Witorsh, R.J. 1995. REPRODUCTIVE TOXICOLOGY: TARGET ORGAN TOXICOLOGY. Editorial Raven Press, U.S.A.
- ♦ Woodweil, G. 1987. Toxic substances and Ecological Cycles. *Scientific American* p.p. 270-27.
- ♦ Working, P.K. 1989. TOXICOLOGY OF THE MALE AND FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEMS. Editorial Hemisphere Publishing, U.S.A.