



00381
9
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Efectos cromosómicos por insecticidas
carbámicos en las células meristemáticas
de la raíz de *Vicia faba* y *Allium cepa*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA)

P R E S E N T A

MARÍA DEL SOCORRO FERNÁNDEZ

25/10/85

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**El presente trabajo se realizó en
el Laboratorio de Citogenética Ambiental
del Centro de Ciencias de la Atmósfera
UNAM**

**Laboratorio de Toxicología Ambiental
de la Facultad de Biología-Xalapa**

Universidad Veracruzana

RECONOCIMIENTOS

A los sinodales:

Presidente	Dr. Rafael Villalobos Pietrini
Vocal	Dr. Jesús Manuel Leon Cázares
Vocal	Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo
Vocal	Dra. Patricia Ramos Morales
Secretario	Dr. Stefan Marian Waliszewki
Suplente	Dr. José Miguel Betancourt Rule
Suplente	Dr. Emilio Rojas Del Castillo

En especial a la Dr. Sandra L. Gómez Arroyo, por su dirección y comprensión.

A la Dra. Consuelo de la Torre, por su asesoría en el sistema de *Allium cepa*

A la Universidad Veracruzana

Dedico con mucho amor y cariño esta tesis a Ramón, quien inició conmigo el posgrado en mi vientre y casi terminamos juntos el Doctorado.

Y para el pequeño condotieri del siglo XX.

A los amigos que siempre me alentaron .

A todas las personas que contribuyeron para poder terminar esta tesis.

Indice

Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
Carbámicos	7
Generalidades de carbamatos.....	9
Insecticidas carbámicos.....	9
Modo de acción.....	10
Mecanismos de inhibición.....	10
Mecanismos de biotransformación.....	11
Carbofurán	13
Metomilo	14
Propoxur	15
Metabolismo de los N-metil Carbámicos en vegetales	17
Toxicidad.....	18
Aplicaciones.....	20
Mutagénesis.....	21
Carcinogénesis.....	21
Teratogénesis.....	22
Ensayo de mutagénesis en plantas.....	23
<i>Vicia faba</i>	24
<i>Allium cepa</i>	26
Aberraciones cromosómicas	28
Objetivos	30
Materiales y métodos	31
Obtención de meristemas.....	31
Tratamiento.....	32
Fijación y tinción.....	32
Preparaciones permanentes y análisis microscópico.....	33
Análisis estadístico.....	34
Resultados	35
Aberraciones cromosómicas.....	35
Micronúcleos.....	39
Índice mitótico.....	39
Discusión	41
Conclusiones	48
Bibliografía	49
Anexos	63
Tablas y figuras.....	64

Resumen

Carbofurán, Metomilo y Propoxur son insecticidas carbámicos muy utilizados en la agricultura, en la industria y en el control de insectos vectores.

Los meristemas de la raíz de *Allium cepa* y de *Vicia faba* fueron expuestos por períodos de 4 h a cada uno de los tres insecticidas en sus presentaciones comerciales de Furadán 350L, Lannate LV y Unden 50, disueltos en agua en concentraciones de 50, 100, 300, 500 y 700 mg/l. Se analizó los efectos citogenéticos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos e índice mitótico, a las 18 y 44 horas después del tratamiento.

Los resultados mostraron que los tres insecticidas produjeron aberraciones de tipo cromatídico y alteraciones al huso mitótico en todas las concentraciones. Con el Propoxur se obtuvo una respuesta dependiente de la concentración.

El Carbofurán produjo micronúcleos estadísticamente significativos ($p < 0.05$) a partir de 100 mg/l en *Allium*, y en *Vicia* sólo en 50 y 500 mg/l, con el Metomilo los micronúcleos fueron significativos a partir de 100 mg/l, las frecuencias aumentaron en relación con la concentración en *Allium*, en *Vicia* no se observó este comportamiento.

El Propoxur provocó en la cebolla y el haba micronúcleos en todas las concentraciones sin relación directa con la dosis.

La citotoxicidad del Carbofurán en *Allium* se presentó a partir de 300 mg/l y en haba sólo hubo efecto con 700 mg/l, el Metomilo mostró efecto tóxico, dependiente de concentración después de 100 mg/l en los meristemas del haba, en cebolla después de 50 mg/l en 18 h de recuperación y en 44 h el efecto mostró una clara relación con la concentración.

El Propoxur disminuyó los índices mitóticos en cebolla con todas las concentraciones en 18 h de recuperación y en 44 h, la disminución sólo fue significativa en 700 mg/l, en haba la citotoxicidad se manifestó a partir de 300 mg/l en 18 h de recuperación, en 44 h sólo disminuyó el índice mitótico con la concentración mayor.

En *Allium cepa* se observaron células binucleadas con el Carbofurán y el Propoxur a partir de la concentración de 300 mg/l y sólo el Propoxur produjo C-mitosis en las concentraciones de 500 y 700 mg/l.

Los tres insecticidas indujeron únicamente aberraciones de tipo cromatídico que aparecieron a partir de las 18 horas de recuperación por lo que su comportamiento fue de acción retardada, hecho que permitió clasificarlos como agentes de efecto S-dependiente.

ABSTRACT

Carbofuran, Methomyl and Propoxur are carbamate insecticides abundantly used in agriculture, in industry and to control of vector insects.

The root meristems of the *Allium cepa* and *Vicia faba* were exposed during 4 hours to each insecticide in their commercial form Furadan 350L, Lannate LV and Uden 50 in water at 50, 100, 300, 500 and 700 mg/l concentrations.

The cytogenetic effects analysis chromatid aberrations, micronuclei and mitotic index at 18 and 44 hrs recovery after treatment.

The results showed that all three insecticides induced chromatid aberrations and alteration of the mitotic spindle with all the concentrations proved; but only Propoxur produced a dose response effect.

Carbofuran induced micronuclei statistically significant ($p < 0.05$) from 100 mg/l in *Allium* and; for *Vicia*, only 50 and 500 mg/l were significant. Methomyl induced micronuclei a dose response from 100 mg/l in *Allium* but not in *Vicia faba*. Propoxur also induced micronuclei in all concentrations without dose response relations in both *Allium* and *Vicia*.

The cytotoxic effect of Carbofuran appeared after 300 mg/l in *Allium*; in the case of *Vicia* only after 700 mg/l. Methomyl also showed toxic effects depending on the concentration from 100 mg/l in the meristematic root-tip cells of *Vicia*, with *Allium* the effect was from 50 mg/l at 18 hrs of recovery and at 44 hrs effect showed a clearly dependent on the concentration.

Propoxur inhibited the mitotic index in onion all concentrations in 18 and 44 hrs recovery it was only with a clear statistically significant at 700 mg/l, while cytotoxicity effect in *Vicia* appeared from 300 mg/l at 18 hrs of recovery, at 44 hrs the mitotic index decreased at higher dose.

In *Allium cepa* binucleate cells were observed with Carbofuran and Propoxur after 300 mg/l concentrations. Only Propoxur produced C-mitosis at 500 and 700 mg/l.

In conclusion all three insecticides caused only chromatid type aberrations that appeared at 18 hours recovery. Showed to have a delayed reaction effect, which allowed to classify them as S-dependent agents.

Introducción

La modernización de la agricultura junto con el control de los vectores que transmiten enfermedades al hombre y a los animales (paludismo, dengüe, fiebre amarilla, etc.), han generado la incorporación del uso de productos químicos como plaguicidas, no obstante su empleo ha contribuido al aumento de la contaminación de los ecosistemas, debido principalmente a la persistencia de sus residuos en el ambiente, pudiendo representar un riesgo tanto para los animales como para el hombre mismo (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

El origen del combate de insectos y plagas se remonta en la antigüedad al año 70 A.C., en que se utilizaba arsénico. En China en el siglo XVI se describe el manejo de sulfuro de arsénico y en el XIX de varias sales de metales. La aplicación de productos naturales extraídos de plantas también tuvo impacto en los siglos pasados, durante las últimas décadas del XIX se introducen cianuro de hidrógeno y dinitrofenol como insecticidas y al inicio del XX, bromuro de metilo, naftaleno y paradicloro-benceno. Justo antes de la segunda guerra mundial la escasa producción de los llamados insecticidas naturales principalmente piretrina y nicotina forzaron a varios países a sintetizar sustancias que los sustituyeran, naciendo de esta manera la industria de los plaguicidas sintéticos y su utilización masiva (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Los pesticidas representan riesgo ocupacional especialmente para dos grupos de trabajadores, aquellos que los elaboran y los expuestos en las áreas agrícolas. Existe además la posibilidad de que ocurran accidentes que causan intoxicaciones agudas. Para la población general constituyen un riesgo menor a través de las cadenas tróficas (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Se consideran como plaguicidas a todas aquellas sustancias o sus mezclas que se destinan a destruir, controlar, prevenir o repeler la acción de cualquier forma perjudicial de vida vegetal, hongo y animal, que afecte la productividad agrícola y se les puede ubicar en tres categorías principales: insecticidas, herbicidas y fungicidas (CICOPLAFEST 1992); el primero es el grupo más importante y representa el mayor riesgo para la especie humana, mientras que los herbicidas y los fungicidas generalmente inducen baja toxicidad (WHO/FAO 1984).

Desde el punto de vista químico los insecticidas se dividen en clorados, fosforados, carbámicos y piretroides, estos últimos son los menos empleados y los que tienen menor permanencia en el ambiente.

Carbámicos

Existe mucha similitud entre el modo de acción de los compuestos organofosforados y los carbámicos en todas las clases de animales. Su toxicidad es debida a la inhibición de la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso central, que causa parálisis. De igual manera que los insecticidas organofosforados, los carbámicos no requieren de la transformación metabólica para manifestar sus efectos tóxicos. Además la inhibición puede ser reversible y la actividad enzimática regenerada (Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

Los plaguicidas carbámicos han sido muy utilizados debido a su baja toxicidad en mamíferos y a su relativamente rápida degradación en el suelo (Dulout *et al.* 1982).

Con respecto a su acción carcinogénica se han descrito resultados positivos cuando se usan los derivados nitrosos de estos compuestos, mientras que en su forma original son negativos (Eisenbrand *et al.* 1975, 1976, Lijinsky y Elespuru 1976, Lijinsky y Taylor 1977, Lijinsky y Schmäl 1978, Moutschen-Dahmen *et al.* 1984).

En cuanto a la acción mutagénica de algunos insecticidas carbámicos se han descrito tanto efectos positivos como negativos en *Salmonella typhimurium* (Seiler 1977; Shirasu *et al.* 1982; Moriya *et al.* 1983), *Saccharomyces cerevisiae* (Siebert y Eisenbrand 1974) y *Drosophila melanogaster* (Hoque 1972, Hemavathy y Krishnamurthy 1987).

En plantas varios plaguicidas carbámicos entre ellos el Metomilo y el Propoxur inducen alteraciones cromosómicas (Njagi y Gopalan 1981, Valencia-Quintana *et al.* 1993, Gómez-Arroyo *et al.* 1995).

La noción de que los agentes químicos ambientales pueden traer cambios al material hereditario, ha sido aceptada (Ames 1979, 1990); la acumulación de evidencias epidemiológicas ha fundamentado la hipótesis de la génesis química del cáncer, sugiriendo que la mayoría de éstos son de etiología ambiental (Miller 1977). Los plaguicidas son sustancias a las que una gran parte de la población está expuesta por razones de trabajo (exposición ocupacional), pero además se presume que la mayoría, si no es que toda la población humana, está en contacto con algún tipo de estos productos químicos o sus derivados, a través de los residuos que se ingieren en los alimentos (Albert 1990, Ames 1990).

En México la contaminación de alimentos por plaguicidas tiene características especiales en cada región, en zonas dedicadas a la agricultura de exportación suelen estar contaminados por plaguicidas poco persistentes, pero de alta toxicidad aguda, mientras que los que proceden de zonas del país que están o estuvieron dedicadas al cultivo de algodón, sobre todo los alimentos de origen animal como carne, leche, huevo y productos lácteos, son frecuentes las concentraciones elevadas de plaguicidas persistentes (Albert 1990).

En los estudios de frutas y verduras que se consumen sin cocinar, entre ellos, tomate, fresas, aguacate, lechuga, chile, cebolla, limón, piña y naranja se han encontrado residuos de plaguicidas organofosforados y carbámicos en exceso de las tolerancias establecidas por la Comisión del Codex (OPS 1993).

A pesar del riesgo que significan los plaguicidas como contaminantes ambientales y por sus efectos genotóxicos, su uso no ha sido controlado. Se calcula que se usan más de 1, 500 sustancias sintéticas con acción plaguicida (Henao y Corey 1991); en México hay más de 10 ingredientes activos de los carbámicos y cientos de formulaciones en empleo comercial (CICOPLAFEST 1992).

Generalidades de carbamatos

Con la síntesis de los ésteres alifáticos del ácido carbámico a principios de los años 30, se inició el desarrollo de los carbamatos, los que se introdujeron al mercado en 1953 (WHO 1986). El interés por este grupo, que inicialmente tenía poca utilidad como insecticida en comparación con los organofosforados y los organoclorados, resurgió a mediados de la década de los 50, durante la búsqueda de nuevas sustancias con actividad anticolinérgica. Como resultado se empezaron a sintetizar diversos ésteres arílicos del ácido metilcarbámico que resultaron plaguicidas muy potentes. Debido a las crecientes restricciones en el uso de los organoclorados y al reconocimiento de la elevada toxicidad aguda de los organofosforados, los carbamatos se convirtieron en los plaguicidas de la década de los 60.

La base de los carbamatos es el ácido carbámico (Fig. 1), que es la monoamina del ácido carbónico; esta molécula es muy inestable y se descompone con facilidad para dar bióxido de carbono y amoníaco.

El ácido carbámico se estabiliza por la formación de sales o por la síntesis de sus ésteres alquílicos (I) o arílicos; éstos pueden ser fenólicos (II), naftólicos(III) o benzofuranílicos (IV). La sustitución de uno de los hidrógenos del nitrógeno por un grupo metilo conduce al establecimiento del ácido N-mono-metil-carbámico, el cual, por esterificación con grupos ariloxi, da lugar a compuestos con propiedades insecticidas (Fig. 1) (Baron 1991).

Insecticidas carbámicos

La capacidad insecticida de los carbamatos está basada en su semejanza estructural con la acetilcolina, lo cual se logra con la naturaleza y la posición de los sustituyentes (Fig. 2), que compiten intensamente con la acetilcolina por los sitios reactivos de la acetilcolinesterasa.

Así, la actividad anticolinérgica de estos compuestos aumenta con la presencia de una cadena lateral pesada cercana al grupo carbonilo; por otro lado, se ha observado que el reemplazo del segundo átomo de hidrógeno del grupo N-carbamoilo por un radical alquilo reduce marcadamente la actividad insecticida del producto (Metcalf 1975).

El grupo más reciente de insecticidas carbámicos es el de los derivados de las oximas alifáticas, cuya estructura está relacionada con la de aldehídos y cetonas, ejemplos de ellos son el Metomilo y el Aldicarb (Fig. 3). La naturaleza de los sustituyentes no sólo altera las propiedades de selectividad de los carbamatos, sino que también influye sobre sus propiedades físico-químicas (Baron 1991).

La mayoría de los insecticidas carbámicos, son N-mono-metil carbamatos y por eso frecuentemente se les llama N-metil-carbamatos. La introducción de sustituyentes adecuados en algunas posiciones de los grupos arilo o de los anillos heterocíclicos de estos compuestos da lugar a gran variedad de estructuras con un amplio espectro de actividad insecticida y de selectividad. La conformación de los sustituyentes y su posición en los

anillos arilo proporcionan la clave de la nomenclatura.

Los ésteres carbámicos suelen usarse como insecticidas y nematicidas; en medio ácido se descomponen lentamente, mientras que en alcalino la hidrólisis es más rápida. Con excepción del Metomilo y del Aldicarb, son estables, tienen baja presión de vapor y poca solubilidad en agua, moderada en benceno y alta en tolueno, metanol y acetona (Tabla 1). A pesar de la estabilidad relativa de estos compuestos, su degradación puede acelerarse al aumentar la temperatura del medio. También sufren fotodegradación en presencia de la luz ultravioleta y oxidación durante la exposición al aire (WHO 1986, Baron 1991). Las características químicas de la mayoría de los carbamatos, los hacen poco persistentes una vez que han cumplido su función, no se consideran contaminantes de los mantos freáticos o de los suelos, ni se dispersan a sitios remotos de aquel donde se emplean, sin embargo, debido a la gran variedad de constituciones en los compuestos de este tipo que se usan en la actualidad, esto no puede generalizarse, ya que se han dado casos de persistencia del Aldicarb en los mantos freáticos, contaminándolos; lo que ha obligado a la clausura de varios pozos en los Estados Unidos de América (Baron 1991).

Modo de acción

Los carbamatos deben sus propiedades insecticidas a su capacidad para inhibir a la acetilcolinesterasa (AChE), que es la enzima que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (ACh) a colina y ácido acético (Fig. 4a). La AChE, tiene principalmente dos sitios activos de gran importancia, el aniónico con carga negativa y el esteárico o catalítico (Fig. 4b). El primero atrae el nitrógeno cuaternario de la acetilcolina que está cargado positivamente. La parte esteárica cataliza el proceso hidrolítico del sustrato y puede ser acetilado (Reiner y Aldridge 1967, Aldridge y Reiner 1972, Fukuto 1990).

La acetilcolina es el transmisor químico del impulso nervioso en las terminales de fibras pre y postganglionares parasimpáticas, unión neuromuscular del músculo esquelético, fibras preganglionares simpáticas y en ciertas sinapsis del sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos. La Ach origina un cambio de potencial en la membrana de estas terminales (Fig. 5) su vida media es de cerca de 1/500 seg. Al ser inhibida la AChE, por el carbamato hay acumulación del neurotransmisor en las terminales nerviosas y musculares, continuando el proceso de estimulación, manifestándose con una gran variedad de síntomas que pueden llegar hasta el paro respiratorio y la muerte, tanto en los insectos como en los mamíferos incluyendo al hombre (Corey y Henao 1991).

Mecanismos de inhibición de los carbamatos

Los insecticidas carbámicos deben su capacidad de inhibición, como se menciona anteriormente, a su semejanza estructural con la acetilcolina, que es el sustrato natural de la enzima AChE. El compuesto carbámico compite fuertemente por los puntos activos de la acetilcolinesterasa. El sitio para la carbamoilación de la AChE es el hidroxilo de la serina;

la enzima carbamoilada se hidroliza lentamente en forma reversible, para regenerar la acetilcolinesterasa activa (Fig. 6); la recuperación de la enzima es más rápida cuando es suprimida por estos insecticidas, que cuando lo es por organofosforados, lo que explica la menor toxicidad de los carbamatos en mamíferos. La actividad anticolinesterásica de los carbamatos aumenta con la presencia de una cadena lateral pesada cercana al grupo carbonilo (Reiner y Aldridge 1967, Aldridge y Reiner 1972).

Los carbamatos pueden inhibir también las esterasas de la serina en su centro catalítico (serina esterasas o beta esterasas). La toxicidad aguda debida a esta inhibición es menos significativa, que la de la AChE; sin embargo, después de exposiciones largas, puede inducir efectos de potenciación en presencia de otros compuestos (Sakai y Matsumura 1968, 1971, Aldridge y Magos 1978).

Mecanismos de biotransformación

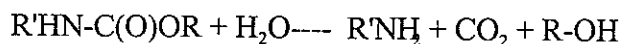
Los carbamatos son metabólicamente transformados en moléculas más polares que incrementan su solubilidad en agua, por tres reacciones químicas principales (oxidación, hidrólisis y conjugación).

Oxidación

Es la principal ruta metabólica de los insecticidas carbámicos, asociada generalmente con enzimas oxidasas de función múltiple, presentes en varios tejidos animales y vegetales. Dependiendo de los grupos funcionales del insecticida, pueden ocurrir gran variedad de reacciones por estas enzimas: (A) O-desalquilación, (B) N-desalquilación, (C) la tioéter oxidación a sulfóxidos, (D) N-metilhidroxilación, (E) hidroxilación del anillo aromático y (F) hidroxilación del alquilo en el anillo (Fig. 7) (Aldridge y Magos 1978, WHO 1986).

Hidrólisis

Los carbamatos son hidrolizados espontáneamente o por el grupo de enzimas A-esterasas o arilesterasas, tanto *in vivo* como *in vitro*, dando como productos finales, una amina, dióxido de carbono y un alcohol o fenol (Aldridge y Reiner 1972), mediante la reacción:



La velocidad de hidrólisis, depende de la estructura del carbamato y de la enzima específica, que al parecer son más activas en mamíferos que en plantas e insectos (Fukuto 1972).

Conjugación

Los carbamatos hidrolizados son convertidos por el sistema enzimático que metaboliza drogas a compuestos conjugados tales como O- y N-glucurónidos, sulfatos y ácido

mercaptúrico, solubles en agua y de fácil eliminación por la orina y por las heces (Dawson *et al.* 1964, WHO 1986).

Entre este grupo de insecticidas se incluyen por su importancia comercial y por su gran empleo en México el Carbofurán, el Metomilo y el Propoxur.

Carbofurán

Absorción, distribución, metabolismo y excreción

En estudios de exposición dérmica en ratones con Carbofurán disuelto en acetona y que tenía una marca con ^{14}C en su anillo, se describe que a los 15 minutos se había absorbido en un 72%, 8 horas después el 73% de la dosis administrada se localizó como productos de excreción y distribuido en diversas partes del cuerpo, 3% en intestino, 3% en estómago, 1.0% en hígado y 0.8% en sangre (Shah *et al.* 1981). Ahdaya *et al.* (1981), encontraron que el 63% de la dosis aplicada se absorbió a los 60 minutos en ratones evidenciando las más altas concentraciones de la marca de ^{14}C en sangre durante un lapso de 35 a 40 minutos y de ahí los niveles altos se detectaron en todos los tejidos, lo que indica su rápida distribución.

La administración oral en ratas de Carbofurán marcado radiactivamente, se localizó por menos de 7 minutos en plasma y luego tuvo una distribución uniforme en los tejidos (Ferguson *et al.* 1984). Las ratas expuestas a inhalación de Carbofurán en su presentación de aerosoles, mostraron una absorción más rápida y mayor, comparada con la oral (Ferguson *et al.* 1982).

El metabolismo del Carbofurán fue muy similar en rata, ratón y vaca, fue completamente metabolizado vía oxidación del carbono 3 del anillo (3-hidroxi Carbofurán y 3-ceto Carbofurán), el enlace éster fue hidrolizado, produciendo los metabolitos 7-hidroxi (3-hidroxi-7-fenol, 3-ceto-7-fenol y 7-fenol). La mayoría de los metabolitos fueron excretados como conjugados glucurónidos o sulfatos (Metcalf *et al.* 1966, Marshall y Dorough 1977, Ferguson *et al.* 1982) (Fig. 8).

En estudios con Carbofurán marcado con ^{14}C , en el carbonilo, la marca se localizó en el CO_2 espirado y este también fue incorporado al cuerpo como constituyente normal. En vacas lactantes los productos de hidrólisis del Carbofurán, sólo fueron determinados en 0.001% en la leche como conjugados 3-ceto-7-fenol Carbofurán e hidroxicarbofurán (Dorough y Casida 1964, Metcalf *et al.* 1966, Marshall y Dorough 1977).

El 72% del Carbofurán suministrado a ratas, se excretó por la orina y el 2% en heces 24 h después. En dosis orales bajas (0.05 mg/kg), del 41 al 47% apareció en el CO_2 espirado, después de 8 horas sólo el 15% se encontró en la orina. En las exposiciones a aerosoles de 31 al 38% se evidenció en el CO_2 exhalado, del 9 al 12 % en la orina y del 2 al 5% en las heces (Ferguson *et al.* 1982). Krieger *et al.* (1984) concluyeron que tanto en la ruta de ingreso oral como intravenosa, el destino del Carbofurán es el mismo.

En ratones, 60 minutos después de aplicado este insecticida, el CO_2 de la respiración contuvo 6% de la dosis y un 24% es eliminado en la orina (Ahdaya *et al.* 1981). En vacas en una sola dosis oral, 94% de metabolitos se presentaron en la orina, 0.2% en la leche y 0.7% en las heces (Ivie y Dorough 1968).

Metomilo

En ratas que fueron mantenidas con dietas durante 90 días, conteniendo Metomilo en cantidades de 0, 10, 50, 250, hasta 500 mg/kg de peso, sólo en los grupos que consumieron las concentraciones de 250 y 500 mg/kg, se notó una ligera disminución del peso corporal y no hubo cambios significativos de las acetilcolinesterasas del plasma y de los eritrocitos (Kaplan y Sherman 1977).

Los mismos autores administraron dietas que contenían 0, 50, 100 y 400 mg/kg de peso a perros por períodos de 90 días y 2 años y no encontraron cambios clínicos a nivel hematológico, urinario, bioquímico o alguna modificación patológica en el período corto. En animales que se trataron hasta por dos años se evidenciaron cambios histopatológicos en el riñón y en el bazo, sólo en los grupos que ingirieron la dieta de 400 mg/kg. Otro conjunto de animales al que le fueron administrados 1,000 mg/kg también por dos años, además de los cambios histológicos mencionados, tuvieron alteraciones en hígado y médula osea (*Harvey et al.* 1973). Asimismo se han descrito daños histopatológicos en tiroides y testículos (Ivanova-Chemishanska y Antov 1980).

La exposición dérmica del Metomilo en monos, con temperatura y humedad altas provocó, efectos colinérgicos más severos y se presentaron más rápidamente que cuando las condiciones ambientales fueron normales (du Pont 1986). El Metomilo también inhibió otros sistemas enzimáticos como las ATP_{asas}, glucosa-6 fosfato, LDH y GTP_{asas} (Ivanova-Chemishanska y Antov 1976).

Propoxur

Después de suministrar Propoxur a ratas en dosis de 50 mg/kg por día durante cuatro semanas, se detectó el metabolito 2-isopropoxifenol (M2), en riñones, hígado, sangre y cerebro, en los días 1, 7, 14, 28 y 42 (Krechniak y Foss 1983), la concentración más alta del insecticida siempre se ubicó en los riñones (1.6 a 7.0 mg/kg). En estudios de distribución y excreción en ratas *Wistar*, el M2 se manifestó en concentraciones elevadas en sangre y riñones, la orina contenía más de 50%, después de cinco días de la última dosis (FAO/WHO 1989). Otros análisis identificaron el metabolito 5-hidroxi-propoxur, que tiene actividad anticolinesterasa y que contribuye a la severa toxicidad del insecticida (Oonithan y Casida 1968, Fukuto 1972).

Dawson *et al.*, (1964), investigaron el metabolismo en tres hombres voluntarios, en los que se aplicó una dosis de 50 mg/kg de peso, encontrando en orina después de 8 a 10 horas, el metabolito 2-isopropoxifenol. Al parecer la hidrólisis fue la reacción más importante del metabolismo del insecticida y aparentemente la sustancia excretada fue el fenol tanto en humanos como en otros mamíferos.

La distribución del Propoxur marcado con ^{14}C después de 72 h de administrado en ratas se localizó en altas concentraciones en los riñones, en el contenido del tracto gastrointestinal y en la vejiga, en el fluido linfático y en los epitelios nasales y faríngeos; niveles más bajos estuvieron en sangre, pulmón, glándulas salivales y tejido conectivo, se eliminaron rápidamente por la orina y en menor grado por las heces (Kimmerle e Iyatomi 1976, FAO/WHO 1989).

El Propoxur es despropilado al ser incubado con enzimas microsómicas y NAPH2 de diferentes insectos (Tsukamoto y Casida 1967). En estudios recientes en ratones, ratas, cricetos, monos y humanos, se detectó que las biotransformaciones principales del Propoxur son: despropoxilación, hidrólisis del enlace éster, hidroxilación y desmetilación del N-metilo, hidroxilación del anillo en las posiciones 3,4 y 5, en los roedores y sólo en la posición 4 y 5 en los primates (Hahnemann y Rühl-Fehlert 1988). En personas que han intentado el suicidio con la formulación EC-Propoxur, se han encontrado varios metabolitos libres o conjugados con glucurónidos o sulfatos y al parecer se sigue el mismo camino metabólico que en monos *Rhesus*. En la figura 9, se muestra el metabolismo de este insecticida en ratas (Eben *et al.* 1984, 1985, citado en FAO/WHO 1989) y en la figura 10 su degradación en insectos y con microsomas del mosquito *Culex pipiens fatigans*.

En ratas machos y hembras (Long-Evans) que recibieron una sola aplicación de Propoxur marcado con ^{14}C , después de 14 y 48 horas fueron detectados en la orina 34% de Propoxur sin cambio, los metabolitos M2 y M3 (Fig. 9) en 8% y 5% respectivamente y el 52% no se identificó; en las heces el insecticida permaneció sin transformación en 37%, el metabolito M2 estuvo presente en 40% y el M3 en 9%, el 14% no fue identificado (Abd-Elraof *et al.* 1981, citado en FAO/WHO 1989).

Administrado en la dieta de ratas *Wistar* a concentraciones de 50, 250 ó 5000 mg/kg y una sola aplicación de 1 mg/kg de peso de Propoxur marcado con carbono 14 y mantenidas con distinto tipo de nutrientes (caseína sintética y altromín) durante cuatro semanas, se observó que el 90% de la marca con ^{14}C se recuperó en la orina en todos los

grupos. Los metabolitos conjugados son comparables para las diferentes concentraciones y las diversas dietas. En la concentración más alta (5000 mg/kg) los metabolitos M5 y M6 estuvieron en cantidades elevadas mientras que M2 y M7 en las más bajas (Tabla 2).

En estudios *in vivo* usando la fracción post-mitocóndrica del hígado de ratas, ratones, cricetos y monos, se observó que el principal metabolito es M5 y en menor proporción se presentaron M3 y M6. En monos *Rhesus*, M3 y M6 fueron formados más que el M5, el metabolismo de éste en criceto ocurrió de manera limitada. En hígados humanos donados se notó que al igual que en monos el M5, fue transformado en otros cuatro compuestos (Schmidt 1987, citado en FAO/WHO 1989).

Metabolismo de los N-Metil Carbámicos en vegetales

Los plaguicidas son metabolizados en plantas más lentamente que en animales. Tanto los conjugados solubles en agua como los residuos insolubles permanecen por largo tiempo y prácticamente las oxidaciones a CO_2 y H_2O no son significativas (Frear 1976). La naturaleza química de los metabolitos así como su cantidad, lo mismo que el compuesto insoluble, dependen del sitio de absorción del plaguicida, de la distribución y del tiempo de persistencia en la planta (Baldwin 1977, Shimabukuro *et al.* 1982, citado en Matsumura y Murti 1982), marcando una diferencia importante entre el metabolismo del insecticida en animales y plantas.

Absorción

La punta de la raíz y la superficie de las hojas son los sitios principales de absorción, después de atravesar las barreras primarias, la endodermis en la raíz y la cutícula en las hojas.

En aplicaciones de largo-término en suelo y en hojas aumenta la probabilidad de absorción de mezclas de los productos de degradación formados por la actividad microbiana y/o fotoquímica (Crosby 1973).

Distribución

Una vez que el plaguicida es absorbido se distribuye por los sistemas vasculares del xilema (transporte pasivo) desde la raíz a las hojas y el floema (transporte activo) y de las hojas a los centros de alta actividad metabólica, que son los puntos de crecimiento de la raíz y del tallo, haciendo que la distribución no sea uniforme en la planta (Matsumura y Murti 1982).

Los carbamatos en las plantas son hidroxilados en el anillo aromático o en el grupo N-metil, son conjugados con moléculas como amino ácidos (cisteína), glicósidos solubles en agua o pueden ser oxidados a sulfóxidos o ligeramente transformados a sulfonas (Kuhr y Casida 1967, Fukuto 1972), los cuales son almacenados como metabolitos terminales (Still y Rusness 1977, Aldridge y Magos 1978). Al igual que en mamíferos la hidroxilación del Propoxur, del Carbofurán y del Metomilo parece ser la principal vía metabólica (WHO 1986).

El Carbofurán en plantas es oxidado a 3-hidroxicarbofurán y de ahí a 3-oxo, los residuos de los metil carbamatos son rápidamente hidrolizados, para producir los correspondientes compuestos 7-hidroxi (Figs. 8 y 11). La movilidad de estos residuos dentro de la planta es facilitada por su conversión a glicósidos (unión de azúcar a los residuos de 3-hidroxi y/o grupos 7-hidroxi), los compuestos conjugados son muy solubles en agua (Tannock y Wessels 1981).

De plantas de haba tratadas con Carbofurán, es extraído el metabolito 3-hidroxicarbofurán en 45% y en forma de conjugados 55%, después de 28 días de haber terminado el tratamiento. El 3-hidroxicarbofurán es altamente tóxico para mamíferos (LD_{50} en rata 7 mg/kg) (Kuhr y Casida 1967).

El Propoxur en maíz origina dos metabolitos: O-hidroxi-fenil y el N-

hidroximetilcarbamato. El Metomilo es degradado rápidamente (3-6 días) a bióxido de carbono y acetonitrilo, el cual se volatiliza del tejido de las plantas (Fukuto 1972, Harvey y Reiser 1973, WHO 1986).

Los conjugados son tóxicos también, tomando en cuenta las condiciones ácidas del estómago de los mamíferos, en donde éstos pueden ser hidrolizados (FAO/WHO 1977, 1981). La mayoría de los derivados nitrosos han mostrado ser potentes mutágenos y/o carcinógenos en diferentes sistemas de prueba (Eisenbrand *et al.*, 1976, Tannenbaum *et al.* 1974, Regan *et al.* 1976, Uchiyama *et al.* 1975, Blevins *et al.* 1977a,b, González-Cid *et al.* 1990).

El Propoxur reacciona con nitrito en condiciones ácidas, formando nitrosopropoxur (NO-PPX), que es muy mutagénico en *Arabidopsis thaliana*, asimismo, en presencia de los ácidos húmicos, el para-aminobenzoico y el ascórbico inhiben la inducción del NO-PPX y de esta manera reduce su actividad mutagénica en dicha planta (Gichner *et al.* 1990).

Toxicidad

Tanto el Carbofurán como el Metomilo, han sido clasificados como muy peligrosos por su toxicidad, mientras que el Propoxur se considera moderadamente peligroso (Tabla 3).

En pruebas de corta duración, la administración por vía oral de Carbofurán a ratas y perros (20 mg/kg), se produjo inhibición de la acetilcolinesterasa de plasma, eritrocitos y cerebro (Carpenter *et al.* 1961, Ivanova-Chemishanska y Antov 1976, citado en WHO 1986, Krechniak y Foss 1982). El suministro por un año en la dieta diaria del insecticida a perros (5 a 10 mg/kg), provocó pérdida de peso corporal y reducción en el tamaño de corazón y de cerebro, degeneración testicular, inflamación en pulmones, cambios electrolíticos y disminución de la actividad anticolinesterasa (Baron 1991).

La aplicación de 100 mg/kg de Carbofurán en la dieta durante dos años a ratas, causó pérdida del peso corporal, ligero descenso de la actividad de la acetilcolinesterasa de eritrocitos y cerebro; cuando se hicieron estudios de este tipo en ratones pero con dosis de 500 mg/kg (En la dieta durante un año), hubo una rápida caída del peso corporal y la actividad de la enzima en los eritrocitos y el cerebro. Dietas con 20 mg/kg con Carbofurán no indujeron daño en ratas ni en ratones (Baron 1991), tampoco causaron efectos en la administración de 1.0 mg/kg/día en ratas y 2.5 mg/kg/día en ratones (FAO/WHO 1981).

En experimentos *in vitro* de enlace-proteínas en humanos el 98% del Carbofurán se unió a la albúmina, el 1.4% a las proteínas de baja densidad y el 1.8% a las de alta densidad (Maliwal y Guthrie 1981), cuando se aplicó en forma oral o dérmica el metabolito que se detectó en orina es el 7-fenol (FMC 1986, citado en Baron, 1991).

Al ser administrado el Propoxur a ratas *Wistar* en concentraciones orales de 0, 1, 5 y 25 mg/kg, la actividad de la colinesterasa del plasma de eritrocitos y del cerebro, medida cada media hora durante 14 días después de la exposición, mostró que la actividad de la enzima disminuye a los 30 minutos en el plasma y a los 60 en los eritrocitos, 1 y 5 mg/kg no tuvieron efecto. En cerebro la actividad de la colinesterasa bajó de las 3 a las 5 horas en el mismo grupo (Heimann 1982, citado en FAO/WHO 1989).

En ratas macho en aplicación oral única de 2.1, 7.0, 20.9, 50 y 70 mg/kg de Propoxur, la actividad de la colinesterasa de sangre total empezó a decrecer a partir de los

10 minutos en todas las concentraciones, después de 24 horas ya no hay disminución de la actividad enzimática (Krechniak y Foss 1982). Estos mismos investigadores midiendo la actividad de la enzima en sangre y en cerebro de ratas macho que recibieron concentraciones orales de 30 mg/kg (por día) durante 14 días, seguida de dosis de 50 mg/kg por la misma ruta, durante 28 días más, observaron un descenso de la actividad de la enzima tanto en sangre como en cerebro, durante los 14 primeros días recuperándose en los 28 días siguientes al tratamiento, lo que indica un proceso adaptativo.

Ratones machos a los que se les dio de tomar una solución de Propoxur (98.8% de pureza), en una dosis inicial de 50 mg/kg, que se fue incrementado a 2,000 mg/kg, durante las seis semanas del experimento, mostraron una CL_{50} significativamente más alta que la del grupo de testigo, de lo que se infiere que los animales tratados habían desarrollado tolerancia a la intoxicación aguda por el insecticida, sin un incremento significativo de la actividad de las carboxiesterasas del hígado (Costa *et al.* 1981).

También se ha notado en pruebas de corta duración (5 días), en ratas y de larga duración (52 semanas) en perros, un retardo del crecimiento e inhibición de la actividad de la colinesterasa en sangre y cerebro. En estudios de larga duración en ratas *Wistar*, se describió retraso en el crecimiento, alteraciones de la vejiga e inhibición de la acetilcolinesterasa, cambios neoplásicos e hiperplasia, ésta última se redujo con la administración de cloruro de amonio, probablemente por un cambio del pH urinario. Estas modificaciones no fueron observadas en ratones, cricetos, perros o monos *Rhesus* (Hahnemann y Rühl-Fehlert 1988 citado en FAO/WHO 1989).

Al ser expuestas ratas hembras y machos por seis horas diarias, en un período de 12 semanas, a Propoxur con una pureza de 98.9% en aerosol (5.7 a 31.7 mg/m³), sólo se evidenció la disminución de la actividad acetilcolinesterasa de plasma y eritrocitos, en cerebro únicamente se notó efecto en la concentración más alta (Kimmerle e Iyatomi 1976).

En ratas de los dos sexos expuestas a aerosoles con Propoxur (99.6%) por seis horas diarias, en concentraciones de 15.3, 45.3 y 139.6 mg/m³, por períodos de 4 y 8 semanas, se presentaron síntomas colinérgicos en cerebro a partir de la semana 4 en las dosis más altas, y a las 8 semanas en todas las concentraciones disminuyó la actividad de la enzima y no se manifestó daño de órganos ni alteraciones en el epitelio urinario (Pauluhn y Ruhl 1985, citado en FAO/WHO 1989).

El Metomilo tiene alta toxicidad aguda en diferentes especies (Kennedy *et al.* 1986), pero es baja en exposiciones crónicas. En dietas administradas a ratas por 90 días, conteniendo Metomilo en concentraciones de 10, 50, 125 y 250 mg/kg, el peso corporal disminuyó ligeramente (Kaplan y Sherman 1977). Los mismos autores, en estudios con perros, durante dos años, describieron daño histológico en riñón y bazo sólo en los animales que ingirieron diariamente 400 a 1000 mg/kg.

En aplicaciones diarias (200 mg) a la piel intacta en conejos, se presentaron señales de intoxicación como, estornudos, jadeo y diarrea, todos los animales sobrevivieron a 15 de estas aplicaciones; sin embargo, cuando los tratamientos se hicieron en piel lesionada, los estornudos fueron más severos, hubo salivación, temblores, poca coordinación e hipertonia abdominal y algunos animales murieron (Kaplan y Sherman 1977). El insecticida también indujo un ligero grado de hepatomegalia y daño reversible en

los túbulos del riñón (El-Sewedy *et al.* 1982). Los datos de toxicidad concuerdan con los estudios de metabolismo, que indican que el Metomilo es rápidamente metabolizado y eliminado (Harvey *et al.* 1973).

En humanos, el Carbofurán, el Metomilo y el Propoxur, provocan síntomas de toxicidad tales como náusea, diarrea, vómito, debilidad, dolores de cabeza y sudoración. En voluntarios a los que se había administrado el menos tóxico de los tres, el Propoxur, en concentraciones orales de 0.75 y 1.0 mg/kg, a intervalos de media hora, por un período de 2.5 horas, se observó reducción de 60% de la acetilcolinesterasa de eritrocitos, regresando a niveles normales, después de tres horas de terminado el tratamiento. En aplicación única de 1.5 mg/kg la actividad de la enzima decreció en 27%, con manifestaciones de vómito, sudoraciones y pérdida de la visión, que desaparecieron después de una hora, al recuperarse los niveles normales de la acetilcolinesterasa (FAO/WHO 1977).

En algunos países el uso del Carbofurán y del Metomilo está restringido (WHO 1986), con el primero se han descrito casos de intoxicación, con náuseas y desvanecimiento en 74 de los 150 trabajadores, que cosechaban un campo al día siguiente de la fumigación. Se aplicó tratamiento hospitalario con sulfato de atropina a 29 de ellos y sólo uno permaneció internado (Baron 1991). Una mujer sobrevivió a una intoxicación aguda con 60 mg de Carbofurán, en donde la actividad de la acetilcolinesterasa se inhibió hasta un 80%, recobrándose la actividad normal de la enzima a las 72 h (Izmirova *et al.* 1981, citado en Baron 1991).

En personas con intoxicación severa con Metomilo internados en el hospital para su tratamiento, con sulfato de atropina (0.05 mg/kg, cada 10 minutos hasta la desaparición de síntomas muscarínicos), su recuperación empezó a las 4 ó 5 horas y fue completa a las 24 horas.

Aplicaciones

El Carbofurán que se desarrolló en los años 60, fue introducido al mercado como insecticida-nematicida sistémico y de contacto de amplio espectro, ligeramente persistente, se usa en una gran variedad de cultivos, generalmente es aplicado al suelo cerca de la raíz.

El Metomilo es un insecticida de empleo agrícola y pecuario (WHO 1986, CICOPLAFEST 1992). Tanto el Carbofurán como el Metomilo son utilizados en las presentaciones de granulados, polvo y soluciones acuosas, para el control de plagas como nemátodos, áfidos, pulgones, chinches, ácaros, etc., que atacan diferentes cultivos de interés económico, como son: alfalfa, algodón, café, caña de azúcar, arroz, cebada, betabel, apio, papa, frijol, soya, trigo, maíz, frutales y hortalizas.

El Propoxur es un insecticida de aplicación pecuaria, doméstica, urbana e industrial, así como agrícola, generalmente durante la precosecha. Se encuentra disponible en una variedad de formulaciones: concentrados emulsificados, talcos, polvos, gránulos, aceites, aerosoles, humos, cebo envenenado, etc., para el control de áfidos, pulgones, cucarachas, mosquitos, del hogar, hospitales, fábricas y horticultura (WHO 1986, CICOPLAFEST 1992). La tabla 4 resume los cultivos en los que se usan principalmente los tres insecticidas.

Mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis

Mutagénesis

La mayoría de los metil y dimetilcarbamatos no son mutagénicos (WHO 1986), sin embargo se han descrito tanto resultados positivos como negativos de algunos insecticidas carbámicos en *Salmonella typhimurium* (Seiler 1977, Jaszczuk y Syrowatka 1980, Shirasu *et al.* 1982), en *Saccharomyces cerevisiae* (Siebert y Eisenbrant 1974) y en *Drosophila melanogaster* (Hoque 1972).

En plantas se han inducido alteraciones cromosómicas (Njagi y Gopalan 1981, Salomón 1987, Valencia-Quintana *et al.* 1993).

El Carbofurán en *Hordeum vulgare* provoca efectos genotóxicos (Posztai 1983). En *Vicia faba*, se observan fragmentos y puentes cromosómicos, cromosomas con centrómero inactivado, isocromosomas y micronúcleos (Reyes-Pérez 1994). En el sistema de Ames con *Salmonella typhimurium* (con y sin S9 de hígado de rata) la respuesta es negativa (Anderson *et al.* 1972, Waters *et al.* 1980)

Con el Metomilo la mayoría de los ensayos son negativos con procariontes, particularmente en los que detectan mutación génica (Tabla 5) y datos no decisivos en *Drosophila melanogaster* (Hemavathy y Krishnamurthy 1987). En *Vicia faba*, Valencia-Quintana *et al.* (1993), encuentran aberraciones de tipo cromatídico, isocromosomas y cromosomas con el centrómero inactivado con una correlación concentración-efecto. En cultivo de linfocitos humanos, el Metomilo y la formulación de Lannate 25, muestran actividad clastogénica y aneugénica (Bonatti *et al.* 1994), en estudios *in vivo* en ratón, se señala que no hay formación de aductos con Metomilo puro, pero sí con la formulación de Lannate 25 con una respuesta de concentración-efecto (Bolognesi *et al.* 1994), la tabla 6 resume la información correspondiente a la acción de este insecticida en eucariotes.

En los ensayos *in vitro* e *in vivo* con Propoxur (95 a 99.6% de pureza) en los sistemas procariontes y eucariotes en donde se han probado concentraciones diversas, los resultados son negativos (Tablas 7 y 8). En *Vicia faba*, se observan fragmentos y puentes cromosómicos, anafases multipolares y micronúcleos (Salomón 1987). Con la prueba de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) *in vitro*, en linfocitos humanos, hay datos positivos (González-Cid *et al.* 1990) y negativos (González-Quirasco 1991, Gómez-Arroyo *et al.* 1995).

Carcinogénesis

No hay evidencias de que los insecticidas metil y dimetilcarbamatos sean carcinogénicos, algunos de sus derivados nitrosos que se han sintetizado muestran un potente efecto mutagénico y carcinogénico. Los nitrosocarbamatos ocasionan transformación celular en cricetos (Quarles y Tennant 1975), causan sarcomas en ratas (Eisenbrand *et al.* 1975), tumores en piel de ratones con aplicaciones agudas o crónicas (Lijinsky y Winter 1981, Deutsch-Wenzel *et al.* 1985) y tumores en estómago con exposiciones crónicas en ratas (Lijinsky y Schmähl 1978). Los carbamatos pueden convertirse en compuestos nitrosos en las condiciones ácidas del estómago (Elespuru y Lijinsky 1973, Eisenbrand *et al.* 1976,

Oliver 1981, IARC 1983).

En estudios de ingestión crónica con Metomilo en ratas y perros no hay certeza de su actividad carcinogénica (Kaplan y Sherman 1977, Baron 1991).

En ratones (CFI/W74) machos y hembras alimentados con dietas que contenían Propoxur (99.6%), en concentraciones de 700, 2000 y 6000 mg/kg, después de 24 meses no se manifestó aumento en la incidencia de tumores, sólo hubo retardo del crecimiento en las ratas machos en todas las concentraciones, así como un incremento relativo de tamaño de los testículos y disminución del bazo (Bomhard y Loser 1981, citado en FAO/WHO 1989).

Teratogénesis

Se tienen datos de que algunos carbamatos provocan efectos teratogénico (IARC 1976, 1983). En estudios de reproducción en ratas por tres generaciones, en donde los machos y las hembras antes de la fecundación ingirieron dietas diarias de 0, 1, 10 y 100 mg/kg de Carbofurán, sólo en la concentración mayor se observó disminución en el peso corporal de los padres y una marcada reducción de la sobrevivencia de las crías, las concentraciones de 1 y 10 mg/kg no tienen actividad, sin embargo se observaron algunos efectos en la reproducción con dietas de 20 mg/kg pero no se mantuvieron en las generaciones siguientes (McCarthy *et al.* 1971, FAO/WHO 1981).

Por otra parte, se ha mencionado que el Carbofurán se ha administrado en ratas preñadas (del día 6 al 15) y conejas albinas (del día 6 al 18 de gestación), en ambos organismos las concentraciones de 1.0 y 2.0 mg/kg, provocaron efectos de toxicidad en las madres sin afectar el desarrollo embrionario, la viabilidad, ni se afectó el peso fetal, toda la progenie fue considerada como normal, registrándose el insecticida como no teratogénico (McCarthy *et al.* 1971, FAO/WHO, 1981).

Los estudios de desarrollo embrionario-etapa de renacuajo en sapos (*Microhyla ornata*) con Carbofurán indican que los renacuajos son más sensibles que los embriones. Se presentan ampollas, disminución de la circulación de la sangre y de la pigmentación, retardo de crecimiento corporal, pérdida de balance y comportamiento anormal (Pawar *et al.* 1984).

El Metomilo administrado en concentraciones de 50 y 100 mg/kg, durante los días 8 a 16 de la gestación en conejas, no originó alteración esquelética ni visceral en los fetos (Kaplan y Sherman 1977). Tampoco se observaron efectos teratogénicos o fetotóxicos, cuando se aplicó en dosis de máxima tolerancia en la dieta de ratas y conejas preñadas (Baron 1991).

Roszkowski (1982) analizó la acción del Propoxur sobre el desarrollo intrauterino y el estado de osificación en fetos de ratas, encontrando daños embriogénicos en concentraciones de 20% de la CL_{50} , administrado en los días 7 a 19 del período de gestación, presentándose 11.9% de anormalidades, tales como reducción en el peso corporal y alteraciones en los procesos de osificación, así como disminución en los niveles de calcio y magnesio en el suero de madres cuyos fetos mostraron anomalías en los huesos.

En 1977, Tyrkiel describió que dosis de Propoxur de 50 mg/kg de peso corporal, aumentan la muerte temprana en embriones de ratas durante las dos primeras semanas

después del tratamiento y 8.5, 25 y 50 mg/kg, en los días 6, 8 y 11 del período de gestación, no se observó acción mutagénica o teratogénica, alterando el peso corporal de los fetos.

Ensayo de mutagénesis en plantas

Los cromosomas de las plantas superiores, se han utilizado desde hace tiempo (Levan 1938, 1949), para entender la naturaleza y el proceso que afecta la estructura de los cromosomas, ya que ofrecen muchas ventajas para tamizar y vigilar el efecto de agentes químicos ambientales y determinar si éstos causan cambios en el arreglo de los genes, constituyendo un riesgo mutagénico (Ma y Harris 1985).

Las especies ideales para el estudio de mutagénesis, son aquellas genéticamente bien conocidas y que tienen pocos cromosomas, de estructura bien definida, de gran tamaño y de fácil identificación sus homólogos. Los trabajos realizados tanto en células somáticas como meióticas, proporcionan información del daño cromosómico inducido por mutágenos, que no es fácil obtener estos datos con especies animales (Ma 1979).

En la revisión de la literatura que hizo Shelby (1980), se observa que son los meristemas de la raíz, el material más empleado para ensayos de mutagénesis, los meristemas de hoja y primordios de tallo también son utilizados. Los análisis de metafases y anafases son comúnmente usados para conocer las aberraciones cromosómicas y las alteraciones del huso que provocan los compuestos (Grant *et al.* 1981).

El Comité Gene-tox (IPCS/WHO 1985), ha considerado los bioensayos en plantas, para vigilar agentes químicos ambientales por las siguientes ventajas:

- Las plantas superiores son eucariotes, sus cromosomas tienen una estructura similar a la del hombre. Las alteraciones pueden analizarse en células mitóticas y meióticas en un mismo organismo.
- Los agentes químicos a ensayar se pueden emplear, solos o en mezclas, bajo diferentes condiciones ambientales (pH, temperatura, concentración, etc).
- Las plantas también se usan en ensayos *in situ*.
- Los estudios de genotoxicidad con resultados positivos, tienen una correlación positiva con los estudios citogenéticos hechos en mamíferos.
- Poseen la capacidad de activar promutágenos a mutágenos.
- Muestran una elevada sensibilidad (pocos falsos negativos) en predecir el riesgo la carcinogénesis.
- Son sistemas muy económicos, de fácil manejo y se obtienen resultados reproducibles.

Vicia faba

Ventajas del ensayo de *Vicia*

Vicia faba, es una de las plantas más empleada para estudios acerca del efecto citogenético de los contaminantes ambientales, ya que ocupa cerca de un tercio del total de los trabajos sobre el análisis de aberraciones cromosómicas en plantas (Shelby 1980), por el hecho de poseer pocos cromosomas ($2n = 12$) y muy grandes, siendo un excelente material para este tipo de estudios.

Esta especie ha sido propuesta como una prueba citogenética para la evaluación de mutágenos ambientales por el Gene-tox Program (Ma 1982).

Las características de *Vicia faba* como sujeto experimental está basada en su sensibilidad a tratamientos cortos (Grant *et al.* 1992) y el hecho de que los métodos estén estandarizados, permite hacer comparaciones de los resultados entre los diferentes laboratorios del mundo (Sandhu *et al.* 1994).

El sistema es de bajo costo, es de fácil manejo y no requiere equipo complicado (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995). Los meristemos de las raíces contienen alta proporción de células en las distintas etapas de la mitosis. Su complemento cromosómico está constituido por un par de cromosomas metacéntricos (M) con un gran satélite separado del resto del cromosoma por la constricción secundaria y cinco pares de subacrocéntricos (S) que son similares en tamaño (Evans y Bigger 1961). La longitud del cromosoma M con respecto a la de los cromosomas S, es de 2.3:1 (Fig. 12a) su ciclo celular es corto (Fig. 12b) ya que dura 19.3 h a 19°C, en donde el periodo presintético (G_1) es de 4.9 h, el sintético (S) 7.5, el posintético (G_2) 4.9 y la mitosis 2 h (Evans y Scott 1964).

Los meristemos se obtienen en corto tiempo de 4 a 5 días (20° C), germinando semillas en condiciones que están bien estandarizadas y son de fácil manejo (Kihlman 1966, Kihlman y Andersson 1984). Estos meristemos contienen una alta proporción de células en mitosis, con una baja frecuencia de aberraciones espontáneas (Kihlman 1966, Kihlman y Andersson 1984).

Es importante mencionar que *Vicia faba* posee la fracción metabólica S-10 que es capaz de transformar promutágenos a mutágenos (Takehisa *et al.* 1982, Velemínsky y Gichner 1988, Calderón-Segura 1993, Gómez-Arroyo *et al.* 1995), este aspecto es importante ya que muchos agentes químicos no son mutagénicos por sí mismos si no que requieren del metabolismo animal o vegetal para activarse y provocar daño al ADN.

Otra ventaja de *Vicia faba* es su uso como bioensayo en estudios realizados tanto en el laboratorio como *in situ* para evaluación de aguas contaminadas (Grant *et al.* 1992) Por lo antes mencionado, *Vicia* aporta una prueba que permite obtener buenos resultados especialmente con relación a las aberraciones cromosómicas y a los intercambios de cromátidas hermanas (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995). Así como para probar agentes químicos que producen aneuploidías (Grant 1978).

Diversos agentes químicos como los disolventes orgánicos y las oxipurinas metiladas han sido probados en *Vicia faba*, para conocer el daño citogenético como aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas (Gómez-Arroyo *et al.* 1988, Vogel y Friebe 1989, Adam *et al.* 1990, Kihlman y Andersson 1992).

Para conocer el daño genético en el sistema de *Vicia faba*, también se han ensayado varios insecticidas como los organoclorados, los carbamatos y los reguladores del crecimiento y los fertilizantes (Amer y Farah 1974, Njagi y Gopalan 1981, de Kergommeaux *et al.* 1983, Gómez-Arroyo *et al.* 1985, , Abdel y Ragab 1989, Abraham y Nair 1989, Valencia-Quintana *et al.* 1993). La prueba de intercambio de cromátidas hermanas en *Vicia faba*, se ha ensayado para conocer el efecto que producen los insecticidas organofosforados (Gómez-Arroyo *et al.* 1988).

Desventajas del ensayo de *Vicia*

La pared celular de los vegetales, puede resultar un obstáculo para estudios bioquímicos y citológicos, interfiriendo con las sustancias químicas evitando que penetren a la célula o bien dificultando la dispersión del tejido en monocapa.

Para eliminar la lámina media de la pared y separar las células, se emplean ácidos o la enzima pectinasa, sin embargo el tratamiento con pectinasa debe hacerse con cuidado y asegurarse que ésta no contenga impurezas que puedan afectar la composición química de los cromosomas, en sus proteínas y ácido nucleico (ADN), dificultando el análisis citológico, como ocurre en las tinciones diferenciales como la de intercambio de cromátidas hermanas. Se ha observado que la pared celular y la organización multicapa de los meristemos, dificultan la penetración de agentes físicos como la luz ultravioleta (UV) que tiene baja penetración (Kihlman y Andersson 1992).

La asincronía de las células meristemáticas de la raíz, hacen que estas se encuentren en diversas etapas del ciclo celular, las que tienen diferente sensibilidad al tratamiento con los agentes químicos (Kihlman y Andersson 1992).

Allium cepa

Ventajas del ensayo de *Allium*

La cebolla común *Allium cepa*, es otro de los materiales clásicos en el estudio de cromosomas, que fue introducido por Levan (1938, 1949), para conocer los efectos de agentes químicos en los cromosomas y en la división celular. Es otra de las plantas superiores incluida en el programa Gene-tox (Grant 1982).

El cariotipo de *A. cepa*, fue descrito por Mensinkai en 1939 (citado en Grant 1982), consiste de ocho pares de cromosomas ($2n = 16$); cinco de los cuales con centrómero medio, o ligeramente submedio (relación de los brazos cercano a 1), dos pares con el centrómero submediano (relación de los brazos 1.6 y 1.8) y un par de cromosomas acrocéntricos 3.4 relación de brazos, con satélite situado en el extremo del brazo corto (Fig 13a). El tamaño de los cromosomas es relativamente grande, con un promedio de 10 μm de longitud (Ved Brat 1965, citado por Grant 1982), las aberraciones e intercambios son fácilmente observados y se ha reportado que *Allium cepa*, puede ser más sensible a los efectos de las oxipurinas metiladas que *Vicia faba* (Kihlman 1966).

La duración del ciclo celular lo han determinado varios autores, a 19°C es de 20.5 h (Nutti Ronchi y Arcara 1967, citado por Grant 1982) de 18.8 horas a 20°C (López-Saez *et al.*, 1966) y a 21°C, de 23 horas (Matagne 1968, citado por Grant 1982), de las cuales 4 corresponden a la mitosis, 3.3, 12 y 3.7 h para los períodos G1, S y G2 respectivamente (Fig. 13b).

Allium cepa se ha utilizado para estudiar diversos aspectos citológicos después del tratamiento con agentes químicos y físicos, en los que se han identificado rompimientos, puentes subcromatídicos, cromatídicos y cromosómicos, intercambios y rearrreglos (Evans 1962, Kihlman 1966, Auerbach 1976). *A. cepa*, también se emplea para conocer los mecanismos de regulación del ciclo celular (López-Saez *et al.* 1975, Giménez-Martín *et al.* 1977, Giménez-Abian *et al.* 1988).

Los primeros estudios sobre agentes químicos con comportamiento de C-mitosis, fueron detectados en *Allium cepa* por Levan (1938). Asimismo ha sido observada la acción clastogénica de diversos agentes químicos en las células de la cebolla (Levan y Tjio 1948 citado en Kihlman 1966, López-Saez *et al.* 1966, Grant 1982).

Diversos efectos genéticos y citológicos provocados por agroquímicos como insecticidas, herbicidas y fertilizantes han sido observados en *Allium cepa* (Grover y Malhi 1988, Rao *et al.* 1988, El-Khodary *et al.* 1989, 1990, Kumar y Sinha 1989, Chauhan y Sundararaman 1990, Pandey *et al.* 1994); se ha mostrado también en éste sistema la actividad mitótica y la antimitótica de productos naturales como la holoturina extraída de *Holothuria vagabunda*, extractos de *Nicotiana tabacum* (Santhakumari y Stephen 1988, Saggoo y Kumari 1991, Banerjee 1992), así como la acción antimutagénica y anticlastogénica de vitaminas (Hoda y Sinha 1992, Hoda y Afzal 1992).

La prueba de *Allium*, por su alta sensibilidad y especificidad se aplica para evaluar la genotoxicidad de las aguas residuales industriales y de mezclas complejas (Rank y Nielsen 1994).

Las condiciones de cultivo de los bulbos de la cebolla son fáciles y se pueden obtener alrededor de 15 meristemos por cada uno, en un período de 3 a 5 días a 25°C, la prueba es de manejo sencillo y muy económica.

Desventajas del ensayo de *Allium*

Los bulbos de cebolla comerciales son tratados con inhibidores del crecimiento, como la hidracina málica para que estos no germinen durante su venta, lo cual constituye un obstáculo para la obtención de los meristemos.

Algunos autores como Nilan (1978), han argumentado que los sistemas vegetales son fisiológica y filogenéticamente muy diferentes a los de mamíferos; sin embargo, se han correlacionado observaciones simultáneas en sistemas de plantas y de mamíferos sobre la inducción de aberraciones cromosómicas y de C-mitosis que ocasionan diversos plaguicidas (Grant 1978, 1982).

Aberraciones cromosómicas

Para analizar aberraciones cromosómicas, es importante establecer las etapas del ciclo celular que son más sensibles a los efectos del agente químico, según Kihlman (1966) con base en experimentos que realiza en *Vicia faba*, cuando las células de los meristemas se exponen a períodos de 1 a 4 horas con agentes químicos y las aberraciones son observadas entre 0 y 8 h después de terminado el tratamiento, se considera que tienen un efecto no retardado, ejemplo de ellos son la cafeína, 8-metoxi-cafeína, 8-etoxi-cafeína, el ácido 1,3,7,9-tetrametilúrico, pero si las aberraciones aparecen entre las 8 y las 48 después de terminado el tratamiento, se le atribuye efecto retardado, como los agentes alquilantes, la hidrazina málica, etc.

Los agentes físicos y químicos producen dos clases de efectos en los cromosomas, en un caso depende del período en el cual el ciclo celular es afectado, siendo aberraciones subcromatídicas las inducidas en células expuestas durante la profase, las cromatídicas en G_2 ó S y las cromosómicas en G_1 y aparecen en la primera mitosis después del tratamiento, en el otro caso sólo son producidas aberraciones cromatídicas independientemente del período en que se encuentre la célula. En el primer caso no se requiere de la duplicación del ADN para que la aberración sea expresada, a estos agentes se les considera como S-independientes (Kihlman *et al.* 1978), las radiaciones ionizantes, antibióticos como la bleomicina, pleomicina, estreptonigrina y algunas oxipurinas metiladas, pertenecen a este grupo (Kihlman 1977). En el segundo caso para que la aberración sea expresada, se requiere de la síntesis de ADN y éstos son considerados como S-dependientes, los agentes alquilantes (Kihlman *et al.* 1978) y la luz ultravioleta (Bender *et al.* 1973), son algunos ejemplos.

También se ha establecido que los agentes químicos y físicos producen lesiones en el ADN y las aberraciones ocasionadas en los cromosomas son resultado de errores en la reparación ("miss repair") o en la duplicación ("miss replication") del ADN dañado (Evans 1977, Khilman 1977, Khilman *et al.* 1978, Natarajan y Obe 1980).

Tanto en *Vicia faba* como en *Allium cepa*, el análisis de las aberraciones cromosómicas se puede realizar en metafase y/o anafase. En anafase son rápidamente analizadas, proporcionando además información del daño al centrómero y alteraciones del huso mitótico (Nicoloff y Gecheff 1976). El estudio de metafases aporta datos más precisos acerca del tipo de aberración que produce el agente químico (Khilman 1966, Khilman y Andersson 1984).

Asimismo, la prueba de micronúcleos en células en interfase, es un método rápido para la detección de daño cromosómico (Gómez-Arroyo *et al.* 1986).

Se ha descrito que las alteraciones cromosómicas, pueden ser causa de muerte celular (Schwartz 1989), por lo que el índice mitótico es un buen indicador de tal efecto.

Por otro lado se ha estudiado la posibilidad de usar el lapso entre el inicio del tratamiento y la aparición de las aberraciones como indicador de la sensibilidad de las etapas de la interfase, ya que el retardo probablemente se debe a un alargamiento en la duración del ciclo celular producido por los agentes químicos (Evans y Scott 1964, Gómez-Arroyo *et al.* 1985).

Los agentes químicos que afectan el centrómero al que aparentemente inactivan

dan lugar a cromosomas con el centrómero inactivado (Gómez-Arroyo *et al.* 1985) o provocan la ruptura transversal del mismo produciendo isocromosomas (Ramanna y Natarajan 1966, Nicoloff y Gecheff 1976); en cualquiera de los dos casos estos cromosomas quedan fuera de la cinética normal de anafase y en la interfase forman micronúcleos (Gómez-Arroyo *et al.* 1985).

Objetivos

Evaluar los efectos genotóxicos y citotóxicos de los insecticidas Carbofurán, Metomilo y Propoxur en los sistemas radiculares de *Vicia faba* y *Allium cepa*.

Objetivos particulares

1. Determinar la genotoxicidad de los insecticidas (Carbofurán, Metomilo y Propoxur) mediante el análisis de aberraciones cromosómicas en células en anafase y metafase y de micronúcleos en células en interfase.
2. Comprobar el efecto citotóxico mediante el cálculo del índice mitótico (IM).
3. En vista de que los vegetales poseen diversos procesos metabólicos para transformar los compuestos a través de su metabolismo y dado que no todas las plantas modifican al mismo promutágeno, ya que varía la presencia de paquetes enzimáticos en los tejidos de las diferentes especies, en este trabajo se intenta comparar la sensibilidad de *Vicia faba* con la de *Allium cepa*.

Materiales y métodos

Propiedades físico-químicas de los insecticidas

El ingrediente activo (IA) del Carbofurán (Agrofuran, Carbofuradán, Furadán, Convoy, Curater, Interfuran, Velfuran) tiene un peso molecular de 221.26, el material puro es de color blanco, sin olor, sólido cristalino con un punto de fusión de 153 a 154 °C. El material técnico (la máxima concentración de IA, obtenida como resultado final de su fabricación y de la cual se parte para preparar los formulados) es también sólido con un punto de fusión de 150 a 152 °C. Es soluble en agua en 0.07% y en disolventes orgánicos (benceno, dimetil sulfóxido y acetona). Con una presión de vapor de 2.7 mPa a 33 °C es inestable en medios alcalinos y se degrada a los 150 °C (Worthing y Hance 1991).

El Metomilo (Metomil, Lannate, Methomex, Metox, Nasamil, Nudrin), tiene un peso molecular de 162.2, es soluble en agua en 5.8% y en disolventes orgánicos. Con una presión de vapor de 6.65 mPa a 25 °C. Es un insecticida de contacto.

El Propoxur es el ingrediente activo de diferentes insecticidas (Unden, Baygon, Blattanex, Cazador, Johnson Raid, Proxurvel, Sendran, Suncide, Tendex, Silomat), tiene un peso molecular de 209.27, es soluble en agua en 0.2% y en disolventes orgánicos. Tiene una presión de vapor de 1.3 mPa a 120 °C. Es insecticida de contacto y de ingestión.

Preparación de soluciones de los insecticidas

Carbofurán: se utilizó la presentación líquida de nombre Furadán 350L, marca FMC, que tiene 33.21% de ingrediente activo (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil N-metil carbamato).

Metomilo: se empleó la presentación líquida de nombre Lannate LV, marca Du Pont, con 29 % de ingrediente activo (S-metil-N-(metilcarbamoil)oxi-tioacetimidato).

Propoxur: se usó la presentación en polvo de nombre Unden 50, marca Bayer, con 50% del ingrediente activo (N-metil carbamato de 2-isopropoxifenilo).

Se prepararon soluciones en agua desionizada de cada uno de los tres insecticidas, en concentraciones de 50, 100, 300, 500 y 700 mg/l.

Obtención de meristemas

Las semillas de *Vicia faba* de la variedad minor, se lavaron en frascos de vidrio durante 2 horas al chorro de agua. Después se colocaron en un cristizador, poniéndose a remojar por 24 horas en agua destilada (a partir de este paso todo el experimento se realizó en la obscuridad, para evitar la influencia del ritmo circadiano en la división celular). Posteriormente se pusieron a germinar las semillas entre dos capas de algodón humedecido con agua destilada a temperatura del laboratorio (21 +/- 1°C). Se dejaron crecer hasta que la raíz primaria alcanzó una longitud de 4 cm.

Los bulbos de *Allium cepa* de tamaño uniforme (20 a 30 g), a los que se les quitó la capa exterior de la epidermis, fueron colocados en un recipiente con agua destilada (con un filtro de acuario, para aireación) y al igual que en *Vicia faba*, todo el experimento se realizó en la obscuridad y a temperatura del laboratorio. Se dejaron crecer las raíces, hasta una longitud de 4 a 5 cm.

Tratamiento

Para *Vicia*, se hicieron lotes de cinco semillas para cada tratamiento, poniendo en contacto los meristemos apicales de las raíces por 4 horas con las soluciones recién preparadas de Carbofurán (Furadan 350L), Metomilo (Lannate LV) y Propoxur (Unden 50). A continuación fueron transferidos a un baño de recuperación por 18 y 44 horas, el cual tuvo agua corriente y aireación constante.

En los experimentos preliminares para los tres insecticidas y para cada una de las concentraciones se hicieron tratamientos de 4 h sin recuperación, pero debido a que no se observaron aberraciones, lo cual sugirió que posiblemente se provocó efecto retardado, se eliminó este tiempo.

Para *Allium* fueron utilizados dos bulbos por tratamiento (8 a 12 meristemos por cebolla), con los mismos insecticidas y en igualdad de condiciones que para *Vicia*. En la cebolla no se hicieron los tratamientos sin recuperación, por la razón antes mencionada.

Para el análisis de células en metafase, los meristemos se colocaron en una solución de colchicina al 0.05%, durante 3 horas.

Los grupos testigos estuvieron bajo las mismas condiciones experimentales pero se sumergieron en agua destilada durante los mismos tiempos que duró la exposición al plaguicida.

Fijación y tinción

Después del tratamiento y de la recuperación los meristemos se fijaron en solución Farmer (Alcohol y ácido acético glacial en proporción de 1:3) por 24 horas, para luego hidrolizar el tejido en 1 ó 2 ml de ácido clorhídrico (HCl) 1 N de 8 a 10 minutos y a 32 °C en baño María.

Los meristemos que fueron tratados con colchicina, pasadas las tres horas, son fijados en solución Farmer e hidrolizados de la misma forma que los meristemos antes mencionados.

Se quitó el exceso de HCl a los meristemos y se tiñeron con colorante Feulgen durante 12 horas a temperatura ambiente y en la obscuridad. Después se transfirieron los cortes de raíz a un portaobjetos limpio agregando una gota de ácido acético al 45 % y haciendo un aplastamiento para obtener una monocapa de células.

Las preparaciones se mantuvieron a temperatura de 4 °C por espacio de 2 días, para posteriormente hacerlas permanentes.

Preparación permanentes y análisis microscópico

Las laminillas se colocaron en un congelador, el cual utiliza nitrógeno líquido (Meneses *et al.*, 1991), removiendo con un bisturí el cubreobjetos al estar congelada la preparación e introduciendo inmediatamente el portaobjetos en butanol. Una vez deshidratado el tejido se le agregó una gota de bálsamo de Canadá y se colocó el cubreobjetos definitivo. Con el fin de evitar prejuicios en la observación, se retiqueta con una clave para su lectura al microscopio.

Se examinaron al microscopio las preparaciones permanentes del material tratado y del testigo correspondiente. La identificación de aberraciones cromosómicas se hizo en células en anafase (puentes y fragmentos), alteraciones en el centrómero (cromosomas con centrómero inactivado e isocromosomas) y daño al huso mitótico (anafases multipolares). En metafase se registraron aberraciones isocromatídicas, cromatídicas y cromosómicas.

Índice mitótico

Se analizaron 1000 células al azar, observando 200 por cada preparación, el índice mitótico (IM), se calculó con la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{\text{cantidad de células en mitosis}}{\text{cantidad total de células}} \times 100$$

Micronúcleos

Se observaron 2000 células en interfase, 400 por cada preparación. Los criterios citológicos que se siguieron para los micronúcleos fueron: textura y tinción igual a la del núcleo. El porcentaje de micronúcleos se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de micronúcleos} = \frac{\text{cantidad de micronúcleos observados}}{\text{Total de células observadas (2000)}} \times 100$$

Análisis estadístico

Una vez establecido el índice mitótico de cada concentración se contrastó con su testigo correspondiente, empleando para ello la prueba de ji cuadrada (X^2).

El porcentaje de micronúcleos de cada concentración fue comparado con su testigo correspondiente empleando para ello la prueba de X^2 .

Todos los experimentos se hicieron por duplicado y cuando se analizaron las alteraciones en las células en metafase y en anafase se les restaron las frecuencias del testigo, ya que sus valores fueron muy bajos y de esta manera se pudo establecer la producción real de aberraciones causadas por estos insecticidas.

Con la finalidad de comparar el comportamiento de las aberraciones totales observadas en metafase con las alteraciones totales analizadas en anafase, se calcularon las rectas de regresión.

Resultados

Aberraciones cromosómicas

En todas las concentraciones (50, 100, 300, 500 y 700 mg/l) los insecticidas Carbofurán (Furadán 350L), Propoxur (Unden 50) y Metomilo (Lannate LV), aplicados en solución acuosa a las células de las puntas de las raíces de *Vicia faba* y *Allium cepa*, originaron aberraciones cromatídicas, alteraciones centroméricas y del huso mitótico, asimismo tuvieron influencia en el índice mitótico.

Los resultados obtenidos con Carbofurán en *Vicia faba* en células en metafase se presentan en la tabla 9A, en donde se nota que en 18 como en 44 h de recuperación hubo un incremento de aberraciones totales al aumentar la concentración.

Las células de los meristemos con 18 h de recuperación mostraron que la mayor frecuencia de aberraciones son los rompimientos cromatídicos presentes en todas las concentraciones sin incremento con ésta. La frecuencia de anillos aumentó con la concentración, aunque no aparecieron en 50 mg/l, los intercambios cromatídicos solo aparecieron en 500 mg/l. Los meristemos tratados con de 700 mg/l de Carbofurán, presentaron múltiples rompimientos cromosómicos y escasas mitosis, dificultando el registro de aberraciones.

En los meristemos de 44 h de recuperación tratados con Carbofurán las aberraciones totales mostraron mayor incremento, que en los de 18 h y los rompimientos cromatídicos fueron la aberración mas frecuente dependientes de la concentración. Los intercambios cromatídicos solo se presentaron en las concentraciones de 500 y 700 mg/l, los anillos fueron la aberración menos frecuente y solo se registraron en 100 y 300 mg/l. En las observaciones en anafase de 18 h (Tabla 9B) la cantidad de células se mantuvo constante disminuyendo en la concentración de 700 mg/l. Las alteraciones totales aumentaron con la concentración, a partir de 300 mg/l sus frecuencias fueron muy parecidas.

Los puentes sencillos fueron la alteración más frecuente apareciendo en todas las concentraciones, se incrementaron con la concentración y a partir de 300 mg/l sus valores son muy parecidos. Los fragmentos también se registraron en todas las concentraciones y se observó que aumentan en la concentración de 500 y 700 mg/l.

Los cromosomas con el centrómero inactivado que produce el Carbofurán aparecieron en todas las concentraciones con baja frecuencia, sin relación con la concentración, los isocromosomas fueron poco frecuentes y se registran a partir de la concentración de 300 mg/l.

El número de células en anafase fue mayor en 44 h de recuperación, las alteraciones totales fueron menos que en los meristemos de 18 h, con un comportamiento parecidos a éstos.

Las alteraciones más frecuentes fueron los puentes sencillos y su frecuencia y presencia en todas las concentraciones tuvieron un comportamiento parecido al los meristemos de 18 h, los fragmentos se registraron en todas las concentraciones y al igual que en 18 h, aumentaron a partir de 500 mg/l, pero su frecuencia fue más baja.

Las alteraciones en el centrómero tanto su inactivación, como en su rompimiento transversal presentaron una frecuencia muy parecida que en los meristemas de 18 h de recuperación.

Las aberraciones totales que produjo el Carbofurán en *Allium* (Tabla 10A), no se incrementaron de manera significativa con la concentración en los dos tiempos de recuperación como ocurrió en *Vicia* con el mismo insecticida (Tabla 9A).

En los meristemas de 18 h los rompimientos cromatídicos fueron la aberración más frecuente, aparecieron en todas las concentraciones pero sus frecuencias no tuvieron relación directa con la dosis, incluso disminuyeron ligeramente en 700 mg/l.

Los intercambios cromatídicos se registraron en todas las concentraciones con excepción de 50 mg/l, con comportamiento parecido al de los rompimientos cromatídicos, los anillos aparecieron solo en 500 y 700 mg/l.

En las células de meristemas del mismo tiempo de recuperación (18 h), pero en anafase (Tabla 10B) las alteraciones totales aumentaron con la concentración, los puentes sencillos fueron la alteración más frecuente presente en todas las concentraciones con relación concentración-efecto.

Los fragmentos aparecieron en todas las concentraciones pero sin relación directa con ésta, igual como ocurrió con los isocromosomas y cromosomas con el centrómero inactivado.

En los meristemas con 44 h de recuperación las aberraciones totales no mostraron una relación concentración-frecuencia, esto mismo se observó con los rompimientos cromatídicos (Tabla 10A). Los intercambios cromatídicos lo mismo que los anillos aparecieron a partir de 300 mg/l.

El Metomilo en las células en metafase de *Vicia faba* (Tabla 11A) de 18 h de recuperación produjo aberraciones totales con un comportamiento concentración-efecto, siendo los rompimientos cromatídicos la aberración más frecuente, sus frecuencias estuvieron en relación con la concentración del insecticida, en tanto que los intercambios cromatídicos y los anillos, no guardaron ninguna relación con ella.

En las observaciones en anafase (Tabla 11B) la cantidad de células se mantuvo constante, con una ligera disminución en 700 mg/l; al igual que en metafase la concentración tuvo relación con el incremento de las alteraciones.

Los puentes sencillos y fragmentos aparecieron en todas las concentraciones y mostraron poca relación con la concentración, el insecticida produjo cromosomas con centrómero inactivado en todas las concentraciones, en relación con ésta, disminuyendo ligeramente en 700 mg/l. Los isocromosomas aparecieron a partir de 300 mg/l sin relación con la concentración del insecticida.

El Metomilo en los meristemas de 44 h, produjo alteraciones totales con relación a la concentración y sus frecuencias fueron menores que en los meristemas de 18 h. Los puentes sencillos aumentaron con la concentración, al igual que los fragmentos presentes en todas las concentraciones.

Los cromosomas con centrómero inactivado se produjeron en todas las concentraciones y aumentaron con ésta, los isocromosomas aparecieron a partir de 300 mg/l, fueron menos frecuentes que en los meristemas de 18 h de recuperación.

El Metomilo en *Allium cepa* tuvo un efecto parecido al que causó en *Vicia*, las

aberraciones totales en metafase aumentaron con la concentración pero con una desviación estándar menor (Tabla 12A), los rompimientos cromatídicos estuvieron en todas las concentraciones y aumentaron sin relación con ésta.

La frecuencia y aparición de los intercambios cromatídicos fue muy parecida a la que se registró en *Vicia*, con el mismo insecticida, los anillos solo aparecieron con la concentración de 300 mg/l.

En anafase (Tabla 12B), las alteraciones totales aumentaron con la concentración en los meristemos de 18 h de recuperación, sin embargo las concentraciones de 500 y 700 mg/l mostraron frecuencias muy parecidas. Los puentes sencillos presentes en todas las concentraciones mostraron relación con la concentración.

Los fragmentos tuvieron frecuencias parecidas en las concentraciones de 50, 100 y 300 mg/l, aumentaron en 500 mg/l y disminuyeron ligeramente en 700 mg/l. Los cromosomas con el centrómetro inactivado y los isocromosomas aparecieron también en todas las concentraciones, su incremento tiene poca relación con ésta.

En los meristemos de 44 h, las alteraciones totales tuvieron relación con la concentración, pero la frecuencia fue ligeramente menor que en 18 h de recuperación. Las frecuencias de los puentes sencillos, de los fragmentos y de los cromosomas con centrómetro inactivado mostraron un comportamiento parecido que en 18 h de recuperación tanto en *Allium* como en *Vicia*. Los isocromosomas no se registraron en las concentraciones de 50 y 500 mg/l.

Las aberraciones totales que produjo el Propoxur (Unden) en células en metafase de *Vicia faba* (Tabla 13A), guardaron también una relación de concentración-efecto, pero menos acentuada que los dos insecticidas antes descritos, hubo una disminución en la concentración de 700 mg/l.

Los rompimientos cromatídicos fueron las aberraciones mas frecuentes, aparecieron en todas las concentraciones pero sin relación con ésta, los intercambios cromatídicos aparecieron a partir de 300 mg/l, en tanto que los anillos solo se observaron en 100 y 500 mg/l.

En los meristemos de 44 h de recuperación las aberraciones totales mostraron relación con la concentración hasta la de 300 mg/l, disminuyendo ligeramente en 500 mg/l, para nuevamente aumentar en la concentración de 700 mg/l.

Los rompimientos cromatídicos fue la aberración más frecuente pero no guardó relación con la concentración, los intercambios cromatídicos aparecieron a partir de la concentración de 100 mg/litro, los anillos solo se registraron en 300 y 500 mg/l.

En los registros en anafase (Tabla 13B), la cantidad de células se mantuvo constante, notándose una ligera disminución en 700 mg/l, tanto en 18 como en 44 h de recuperación, el total de alteraciones tuvo un claro incremento con la concentración, siendo más acentuado en 18 h de recuperación, las mayores frecuencias de aberraciones en ambos tiempos fueron los puentes sencillos con tendencia de concentración-efecto.

Los fragmentos en 18 y 44 h de recuperación aparecieron en todas las concentraciones, pero sin relación directa con la concentración, las frecuencias en 500 y 700 mg/l fueron iguales en ambos tiempos de recuperación. En los meristemos de 18 h de recuperación los cromosomas con centrómetro inactivado y los isocromosomas mostraron un comportamiento parecido, no aparecieron en las concentraciones de 50 y 100 mg/l, y las

de 300, 500 y 700 mg/l su frecuencia fue muy parecida.

En los meristemos de 44 h de recuperación los cromosomas con centrómero inactivado al igual que los isocromosomas, solo se observaron en la concentración de 500 y 700 mg/l.

Las aberraciones totales que el insecticida Propoxur produjo en las células de *Allium cepa* en metafase en los meristemos de 18 h (Tabla 14A), fueron más irregulares, aumentó ligeramente la frecuencia en 100 y disminuyó en 300 mg/l; se volvió a incrementar en 500, para disminuir ligeramente en 700 mg/l.

Los rompimientos cromatídicos disminuyeron en la concentración de 300 mg/l a valores más bajos que los que se registraron en 50 mg/l, aumentaron en 500 mg/l y disminuyeron ligeramente en 700 mg/l, en tanto que los anillos y los intercambios cromatídicos sólo se presentaron en las concentraciones de 500 y 700 mg/l con una frecuencia baja, algo parecido ocurrió con 44 h de recuperación, pero aquí los intercambios cromatídicos aparecieron a partir de 300 mg/l, en tanto que los anillos solo se observaron con 300 y 500 mg/l.

La cantidad de células en anafase se mantuvo más o menos constante, observándose una ligera disminución en 100 y 700 mg/l en 18 h, las alteraciones totales tuvieron un claro comportamiento de concentración-efecto.

Aquí también siguieron siendo los puentes sencillos las aberraciones más frecuentes, seguidas de los fragmentos y los cromosomas con el centrómero inactivado, en tanto que los isocromosomas se presentaron a partir de 300 mg/l (Tabla 14B).

Las alteraciones totales en los meristemos con 44 h de recuperación tuvieron un comportamiento muy parecido a las que se observó en los meristemos de 18 h, las células en anafase disminuyeron en 100 y 700 mg/l, los cromosomas con el centrómero inactivado y los isocromosomas fueron ligeramente más frecuentes (Tabla 14B).

En general se puede considerar que las alteraciones inducidas en metafase por los tres insecticidas fueron: rompimientos cromatídicos, anillos cromatídicos, intercambios cromatídicos y las alteraciones en anafase: puentes sencillos y fragmentos, con un comportamiento de concentración-efecto tanto en *Vicia faba* como en *Allium cepa*.

El cálculo de las rectas de regresión permite establecer las potencias citotóxicas, notándose que el más genotóxico es el Carbofurán, seguido por el Metomilo y el Propoxur (Tabla 15), (Figs.14, 15,16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25).

Los tres insecticidas presentaron efecto en los componentes químicos del huso mitótico o en sus centros de organización, tanto en las células del haba como en las de la cebolla, originando anafases multipolares, principalmente tripolares (Fig. 26).

Otra de las anomalías que originaron los insecticidas y que se observaron en anafase fueron los rompimientos transversales del centrómero originando los isocromosomas y los cromosomas con el centrómero inactivado (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1983).

Con el Carbofurán y el Propoxur a partir de la concentración de 300 mg/l en la cebolla se registraron células binucleadas, en el haba sólo se evidenciaron en dos de las concentraciones mayores y en ninguno de los sistemas de prueba se observaron bimitosis.

Sólo con el insecticida Propoxur se indujeron C-mitosis en *Allium* en las concentraciones de 500 y 700 mg/l después de 44 h de recuperación.

Micronúcleos

El insecticida Carbofurán en *Vicia* también produjo micronúcleos en cantidades estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en todas las concentraciones, con excepción de 700 mg/l en los meristemos con 18 h de recuperación y en los de 44 h las frecuencias de micronúcleos fueron muy irregulares, siendo solo estadísticamente significativas en las concentraciones de 50 y de 500 mg/l.

En las células de *Allium* la aparición de los micronúcleos fue significativa, a partir de la concentración 100 mg/l en 18 h y en los meristemos con 44 h de recuperación lo fueron en todas las concentraciones pero sin relación directa con la concentración, ya que por ejemplo la frecuencia de micronúcleos fue mas alta en la concentración de 50 que en la de 700 mg/l, como se muestra en las tablas 16 y 17 (Figs. 27 y 28).

La frecuencia de micronúcleos que el Metomilo produjo fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$) a partir de 100 mg/l, con un ligero incremento con la concentración en los meristemos de *Vicia*, de 18 h de recuperación y en los de 44 h, las frecuencias fueron significativas en todas las concentraciones pero sin una relación directa con ella.

En *Allium* la frecuencia de micronúcleos tuvo aumento significativo con la concentración a partir de la concentración de 100 mg/l. En los meristemos con 44 h de recuperación las frecuencias de micronúcleos, fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en todas las concentraciones. En 500 y 700 mg/l los valores críticos fueron muy altos, como ocurrió en 700 mg/l en las células con 18 h de recuperación (Tablas 18 y 19, Figs. 29 y 30).

El Propoxur provocó tanto en la cebolla como en el haba micronúcleos y sus frecuencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en todas las concentraciones, pero sin una relación concentración-efecto, ya que los porcentajes de éstos en 50, 100 y 300 mg/l fueron muy parecidos, en las concentraciones de 500 y 700 mg/l las frecuencias de micronúcleos mostraron un patrón parecido entre sí (Tablas 20 y 21, Figs. 31 y 32).

En la figura 33a y 33b, se muestra los micronúcleos observados en las células en interfase de *Vicia faba* y de *Allium cepa*, respectivamente.

Índice mitótico

La citotoxicidad evaluada a través del índice mitótico, mostró que el insecticida Carbofurán solo disminuyó significativamente ($p < 0.05$) éste con la concentración de 500 mg/l, en las células meristemáticas de *Vicia faba*, de 18 h recuperación en tanto que a 44 h la de 700 mg/l mostró ser citotóxica (Tabla 22 y Fig. 34).

En las células de *Allium cepa*, el índice mitótico decreció significativamente ($p < 0.05$) a partir de 300 mg/l, en 18 h de recuperación con el Carbofurán, mientras que en 44 h sólo tuvieron efecto las concentraciones de 500 y 700 mg/l (Tabla 23 y Fig. 35).

Con Metomilo en *Vicia faba* se nota que tanto en 18 como en 44 horas de recuperación el índice mitótico se redujo significativamente ($p < 0.05$) a partir de la concentración de 300 mg/l (Tabla 24 y Fig. 36), en tanto que en las células de *Allium cepa* el insecticida, mostró efecto tóxico a partir de 100 mg/l en 18 h de recuperación, en tanto

que en 44 h el efecto se notó en todas las concentraciones con una clara relación concentración-efecto (Tabla 25 y Fig. 37).

Los resultados obtenidos con Propoxur en *Vicia faba* (Tabla 26 y Fig. 38) indicaron que el insecticida afectó a partir de 300 mg/l en 18 h de recuperación. En los meristemos con 44 h de recuperación el insecticida solo fue citotóxico en la concentración de 700 mg/l; el mismo insecticida fue mas citotóxico en los meristemos con 18 h de recuperación de *Allium cepa* en donde alteró la proliferación celular en todas las concentraciones, pero con poca relación con ésta, ya que el índice mitótico de 500 mg/l fue ligeramente menor que el de 300 mg/l.

En los meristemos de 44 h de recuperación el insecticida únicamente fue citotóxico en la concentración de 700 mg/l, de manera parecida a lo que ocurrió en el mismo tiempo de recuperación en *Vicia* (Tabla 27 y Fig. 39).

Discusión

En las sociedades contemporáneas existen problemas importantes de salud pública, en especial los asociados a la exposición de agentes ambientales de naturaleza química y física nocivos a la salud. Los agentes químicos son en su mayor parte producto del desarrollo industrial y tecnológico y cada día se incrementan en los países en desarrollo (Corey y Henao 1991).

En los países de América gran parte de su actividad socioeconómica se relaciona con los plaguicidas, tanto en su uso agrícola como sanitario (OPS-OMS 1993).

América Latina posee una superficie potencialmente cultivable de 74 millones de hectáreas y se calcula que para el año 2000 el 55%, estará siendo cultivada (FAO 1981). El uso de plaguicidas se ha generalizado a tal punto que su empleo en el mundo se incrementó de 1.5 millones de toneladas en 1970 a 3 millones, en 1985 y se calcula en la década de los años 90 el gasto se duplicará.

Considerando el gasto en plaguicidas de los países de la región, vemos como éste se ha incrementado, México casi lo triplicó pasando de 199 a 565 millones de dólares durante el período de 1980 a 1990 (OPS 1993), esto nos permite prever que si la política agrícola del País continúa, los plaguicidas aumentarán en el ambiente.

Aunado a lo antes mencionado, América Latina no ha resuelto los problemas de salud pública de enfermedades transmitidas por vectores y huéspedes intermediarios, como el paludismo, Chagas, oncocercosis, dengüe, filariasis, tripanosomiasis, etc., y la estrategia para combatirlos ha sido a través de programas sanitarios utilizando plaguicidas. Se estima que tan solo del Propoxur se utilizaron 86 913 kg. en los programas de Malaria en Centro América, Costa Rica además empleo mezcla de Propoxur al 95% con malatión al 55% (2000 litros de cada uno) (OPS 1993).

La mayoría de los plaguicidas son de origen químico sintético y para su venta comercial, combinan un ingrediente activo, que está elaborado para combatir determinados tipos de plagas, con uno o varios ingredientes, que diluyen el producto tóxico o constituyen su excipiente. La Agencia de Protección Ambiental en los Estados Unidos (EPA), tiene un registro de 1500 ingredientes activos de plaguicidas la mayoría de los cuales son compuestos orgánicos, los formuladores mezclan los ingredientes activos con uno o varios de los aproximadamente 900 excipientes para elaborar los 50000 plaguicidas comerciales registrados para su empleo en los Estados Unidos (OPS 1993).

México cuenta con 104 plantas formuladoras con una capacidad total de producción de 220 000 toneladas de plaguicidas al año y se hace también la síntesis de medio centenar de ingredientes activos (Restrepo 1988, OPS 1993), además se ha verificado a través de varios estudios en países como Costa Rica, Brasil y México, que la concentración del ingrediente activo indicado en la etiqueta del producto formulado no corresponde a la realidad en un porcentaje relativamente alto de los casos, presentándose situaciones en que hay tanto exceso como defecto (OPS 1993). La tendencia general hacia la disminución del uso de plaguicidas muy persistentes como los organoclorado y a la utilización de otros menos persistentes, sitúan a los carbamatos como muy importantes. Los insecticidas carbámicos se utilizan de manera considerable en América Latina y el

Caribe, más de 35 000 toneladas por año son empleadas tanto en la agricultura como en el control de vectores.

México es el país en la región de América Latina que más los utiliza (IPCS/ WHO 1986), de aquí el interés particular por conocer su posible riesgo como agentes tóxicos ambientales o su influencia como carcinógenos y/o teratógenos.

En este trabajo se presentan los datos de las actividades citotóxica y genotóxica de tres insecticidas carbámicos utilizados en México: el Carbofurán (Furadan 350L) y el Metomilo (Lannate LV) empleados como plaguicidas agrícolas y el Propoxur con uso en el hogar, en la jardinería, urbano y en la industria. Los tres insecticidas se ensayaron tanto en *Vicia faba* como en *Allium cepa*, sistemas que se han incluido en el Programa de Genotoxicidad de Estados Unidos de América (Ma 1982, Grant 1982), para la evaluación de mutágenos ambientales.

El análisis citogenético de los tres insecticidas carbámicos mostró en ambos sistemas de prueba solo aberraciones de tipo cromatídico, que aparecieron entre las 18 y las 44 horas de recuperación, lo cual significa que de acuerdo con el criterio de Kihlman *et al.*(1978) los tres insecticidas tienen efecto retardado en cuanto a su aparición.

Por el hecho de que las aberraciones fueron de tipo cromatídico, no importa la etapa del ciclo en que fue alterado el ADN, estas tuvieron un comportamiento S-dependiente. Lo que sugiere que el Carbofurán, Metomilo y Propoxur actuaron a nivel de hebra sencilla del ADN y para que la aberración se expresara fue necesario que se llevara a cabo la síntesis del mismo, así las aberraciones que se observaron a las 18 horas de recuperación fueron inducidas en G₁ y al pasar por síntesis se hicieron evidentes en la primera mitosis después del tratamiento, mientras que las que se apreciaron en 44 horas de recuperación el daño al ADN se provocó en G₂ y la aberración se mostró en la segunda mitosis después del tratamiento, una vez que hubo pasado por síntesis.

En experimentos *in vivo* con el insecticida Metomilo (IA) y su formulado comercial Lannate 25, la formación de aductos de guanina (OH⁸ d guanina) sólo fueron formados con el Lannate (Bolognesi *et al.* 1994), los mismos autores encontraron que los dos compuestos producen aberraciones cromosómicas y micronúcleos, con una mayor actividad clastogénica del Lannate 25.

En ensayos *in vitro* (Bonatti *et al.* 1994) con los mismos compuestos, tanto el Metomilo como el Lannate 25 indujeron aberraciones cromosómicas y micronúcleos dependientes de dosis, sólo el Lannate 25 indujo daño oxidativo al ADN. Los intercambios de cromátidas hermanas no fueron positivos con ninguno de los dos compuestos. Se ha sugerido que el daño oxidante al DNA puede ser la causa probable que origina los rompimientos de una hebra en la molécula y un factor importante en la potenciación de los daños genotóxicos y carcinógenos (Fraga *et al.* 1990).

Por lo mencionado antes, así como por los resultados encontrados en este trabajo fue posible inferir que probablemente también los formulados del Carbofurán, Metomilo y Propoxur fueron los que actuaron indirectamente a través de la formación de radicales hidroxilo (Fraga *et al.* 1990, Bonatti *et al.* 1994) y que posiblemente estos fueron responsables de la actividad genotóxica de los tres insecticidas, pero también de su efecto en otras moléculas especialmente enzimas como dismutasa superoxidasa, catalasa y glutatión transferasa (Rannug y Rannug 1984), a las que inhibieron o potenciaron a través

de procesos oxidantes, explicando así las actividades citotóxica y fisiológica que tuvieron los tres insecticidas en las células de las raíces de *Vicia faba* Y *Allium cepa*.

Los resultados obtenidos con Metomilo en su formulación Lannate LV en este trabajo coincidieron con los encontrados previamente por Valencia-Quintana *et al.* (1993), con Lannate 90 en *Vicia faba* donde se observó también un efecto S-dependiente.

En el presente estudio se notó que el Metomilo indujo las mayores frecuencias de aberraciones, sin embargo el Propoxur causó daño mas elevado a niveles del centrómero y del huso mitótico. Venkat *et al.* (1995) al evaluar la genotoxicidad de diversos insecticidas (entre los que se incluyeron los tres de este trabajo) con el cromosoma a través de la actividad de la β -galactosidasa en *Escherichia coli* encontró que es el Metomilo el que provocó mayor actividad genotóxica de los tres, solubilizados en dimetil-sulfóxido (DMSO), pero tuvo la más baja cuando se utilizó al taurocolato como disolvente. Por lo anterior a los tres insecticidas se les considera como mutágenos débiles, comparados con la elevada actividad que causaron otros insecticidas como el Aldicarb sulfona (4 135 unidades/ mol-actividad de la enzima, disuelto en DMSO) y el Malatión (3 765 unidades de actividad disuelto en taurocolato).

El Carbofurán indujo efecto mutagénico directo en la prueba de Ames (Moriya *et al.* 1983) pero sólo en las líneas bacterianas que detectan corrimiento de bases (frameshift) y su actividad no aumentó con la adición de la fracción microsómica S9. En este mismo sistema tanto el Propoxur como el Metomilo no fueron mutagénicos.

Por otro lado, el efecto genotóxico del Carbofurán grado técnico y comercial resultó negativo en *Salmonella typhimurium* y en *Saccharomyces cerevisiae* sin y con activación metabólica de enzimas microsómicas de hígado de rata y la fracción IS de *Zea mays* (Gentile *et al.*, 1982), lo cual difiere de los resultados positivos encontrados por Moriya *et al.* (1983) y Venkat *et al.* (1995). Este mismo insecticida ha sido también positivo en cebada en la inducción de aberraciones cromosómicas (Posztai, 1983) y en este trabajo tanto en *Vicia* como en *Allium*, en donde produjo aberraciones cromatídicas en todas las concentraciones ensayadas y micronúcleos.

En el análisis de las aberraciones cromatídicas inducidas por el Carbofurán en *Hordeum vulgare* (Posztai 1983), no se señala la presencia de isocromosomas ni de cromosomas con centrómero inactivado que se han observado en la presente investigación (Tablas 9 y 10).

Para el caso del Propoxur se ha descrito que no es mutagénico en *Escherichia coli* y en *Bacillus subtilis* con activación metabólica de hígado de mamífero (Shirasu *et al.* 1976, Brusick *et al.* 1980) y en *Salmonella typhimurium* con y sin la fracción S9 de mamíferos (Blevins *et al.* 1977a,b, De Lorenzo *et al.* 1978, Shirasu *et al.* 1982), ni en el ensayo de conversión mitótica en *Saccharomyces cerevisiae* (Siebert y Eisenbrand 1974).

El Propoxur tampoco indujo micronúcleos ni mutaciones letales dominantes en ratones (Seiler 1977, Tyrkiel 1977), no provocó intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en cultivo de linfocitos (González-Quirasco 1991, Calderón-Segura 1993, Gómez-Arroyo *et al.* 1995), pero en este mismo sistema González-Cid *et al.* (1990) obtuvieron resultados positivos en la inducción de cromátidas hermanas.

De acuerdo con VenKat *et al.* (1995) y los resultados obtenidos en este estudio (Tablas 13 y 14), es posible considerar que el Propoxur no tiene efecto mutagénico directo

y que son los metabolitos formados por las plantas los que provocan tanto aberraciones cromosómicas como ICH (Salomón 1987, Calderón-Segura 1993, Gómez-Arroyo *et al.* 1995).

Para el caso del Metomilo posiblemente también son sus metabolitos los que tienen acción genotóxica, esto se apoya en los datos de Valencia-Quintana *et al.* (1993) y coinciden con los encontrados en el presente estudio con *Vicia faba* y *Allium cepa* (Tablas 6, 11 y 12). Los resultados de Bonatti *et al.* (1994) que obtienen con Metomilo en su formulación Lannate 25 en cultivo de linfocitos de 48 h y en donde a través de un testigo con estireno son comprobados existencia del metabolismo en el sistema. Las aberraciones observadas fueron de tipo cromatídico y se incrementaron cuando aumentó la concentración, que coincide con los datos obtenidos en el presente trabajo (Tablas 6, 11 y 12). Sin embargo, las aberraciones de tipo cromosómico que Bonatti *et al.* (1994) describe con el Lannate 25, no fueron observadas en haba ni en cebolla, con el Lannate LV de este estudio.

Como se evidencia en la tabla 6 de otras investigaciones con Metomilo en su forma pura o su presentación comercial de Lannate mostraron resultados positivos en los sistemas que metabolizan el insecticida.

En vista de que tanto las alteraciones totales observadas en anafase como en metafase se presentó una relación de concentración-efecto para ambos sistemas con los tres plaguicidas, se calcularon las rectas de regresión con la finalidad de obtener las potencias genotóxicas, indicando al Carbofurán como más genotóxico (Tabla 15), (Figs. 14 a 17), seguido por el Metomilo (Figs. 18 a 21) y el Propoxur (Figs. 22 a 25) en metafase.

El Propoxur presentó los valores mas altos en anafase (Tabla 15) sin embargo debido a que las pendientes de las rectas fueron muy ligeras, encontrándose en el orden de decimales por mg/l, fue posible considerar débil la potencia genotóxica, de estos insecticidas tanto en *Vicia* como en *Allium* (Figs. 18-21), lo que confirmó la conclusión de Venkat *et al.* (1995).

Por otra parte, se ha descrito que varios plaguicidas carbámicos actúan como veneno para los microtúbulos de manera reversible provocando aneuploidías y/o disturbios de la mitosis (Coss *et al.* 1975, Oliver *et al.* 1978, Roth *et al.* 1982, Wiedenmann *et al.* 1990, De la Torre 1994). Es sabido que el Carbofurán inhibe la polimerización *in vitro* de la tubulina para la formación de los microtúbulos (Stehrer-Schmid y Wolf 1995), en el mismo trabajo se describió que concentraciones menores del insecticida originaron los mismos efectos con el transcurso del tiempo, en comparación con los observados de inmediato en las concentraciones mayores (500 y 5000 $\mu\text{mol/l}$).

Los efectos de C-mitosis referidos para algunos carbamatos (Kappas *et al.* 1974, Banduhn y Obe 1985, Rao *et al.* 1988) y para Metomilo (Bonatti *et al.* 1994), sólo fueron registrados con Propoxur en las células de *Allium cepa*.

La prueba de micronúcleos tanto *in vivo* como *in vitro* es una forma indirecta pero rápida de medir la actividad genotóxica de agentes químicos y otros factores ambientales que inducen aberraciones cromosómicas tanto estructurales como numéricas, se realizó la tinción de bandas C, para identificar la heterocromatina del centrómero. Banduhn y Obe (1985) al utilizar esta tinción encontraron que los micronúcleos provocados por el carbamato Benomil dio positivos en 50% para la tinción.

Otros carbamatos han sido también inductores de pérdida de cromosomas en diferentes organismos (Quinlan *et al.* 1980, Wood 1982). Los micronúcleos que el Metomilo y su presentación comercial Lannate 25 indujeron en linfocitos (Bonatti 1994), fueron CREST-positivos y CREST-negativos (Tinción fluorescente con anticuerpos anticinetocoro), sin embargo el Lannate produjo mayor cantidad de micronúcleos CREST-negativos, indicando que tiene una mayor actividad clastogénica que el Metomilo y éste tiene una mayor actividad sobre el centrómero (Cinetocoro).

Podemos decir que tanto el insecticida Metomilo y su presentación comercial de Lannate 25, indujeron micronúcleos, por su actividad clastogénica y por su acción sobre el centrómero, siendo más clastogénico el Lannate 25.

De lo antes mencionado y de la observación de micronúcleos de tamaños muy diferentes, que se observaron en las células en interfase del haba y de la cebolla (Fig. 26), es posible que éstos proceda de eventos diferentes: de la actividad clastogénica y de la acción que tuvieron sobre el centrómero los tres insecticidas.

Aunque en el presente trabajo no fue el objeto de realizar una evaluación del origen de los micronúcleos por su tamaño, algunos autores han establecido, que cuando el micronúcleo es pequeño, éste es resultado de la actividad clastogénica del agente químico y cuando éste actúa en el centrómero o las proteínas del cinetocoro, se afecta la interacción con las fibras del huso, y entonces el micronúcleo es más grande (Heddle y Carrano 1977, Yamamoto y Yasumoto 1980).

Con base en lo anterior, es probable que los micronúcleos grandes que originan los insecticidas usados en este trabajo fueran cromosomas con el centrómero inactivado y los pequeños estuvieran formados por fragmentos acéntricos, lo cual explicaría la falta de correlación concentración-efecto que se observó en el presente trabajo.

Otros insecticidas carbámicos como el Benfuracarb, Carbosulfan y Furatiocarb han dado resultados positivos en la prueba de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de ratón, sin correlación de dosis-efecto (Stehrer-Schmid y Wolf 1995). Estos tres insecticidas y el Carbofurán también inhibieron la formación de microtúbulos *in vitro* en la tubulina de cerebro porcino, afectando tanto el grado de polimerización como su velocidad (Stehrer - Schmid y Wolf 1995).

El Carbofurán y el Propoxur originaron células binucleadas tanto en haba como en cebolla, lo que indicó que estos insecticidas provocaron efecto sobre los componentes de la placa celular, esta acción ha sido previamente descrita para varios carbamatos (Banduhn y Obe 1985, Rao *et al.* 1988, Hummelen *et al.* 1995).

Los meristemos de la raíz de *Vicia faba* y de *Allium cepa* mostraron una dinámica de proliferación constante en su duración cuando las condiciones ambientales permanecieron constantes (Giménez-Martín *et al.* 1977, Sans *et al.* 1980, Gómez-Arroyo *et al.* 1995), de tal manera que los cambios en la relación de células en interfase y las que estaban en mitosis, permitieron inferir si hubo efectos de las sustancias probadas en el presente estudio.

El Metomilo y el Propoxur causaron disminución de los índices mitóticos del haba y de la cebolla (Tablas 24, 25, 26 y 27), siendo en ésta última la más afectada.

En tanto que el Carbofurán (Tabla 22) sólo tuvo efecto en las concentraciones de 500 y 700 mg/l (18 y 44 h respectivamente) en las células de *Vicia*, *Allium* también resultó

ser más sensible, registrándose efectos en la proliferación a partir de 300 mg/l (Tabla 23).

Los carbamatos han sido descritos como inhibidores de diferentes enzimas y supresores de la síntesis de ADN (Clemons y Sisler 1971, Davidse 1973, Hammerschlang y Sisler 1973, Kappas *et al.* 1974, Rannug y Rannug 1984, Pandita 1988). Con el Carbofurán se ha demostrado en estudios con proteínas humanas *in vitro* que se enlazó en 1.4 % a lipoproteínas de baja densidad y en 1.8 % a las de alta densidad, el resto del insecticida se unió a la albúmina (Baron 1991).

Por todo lo referido hasta aquí se puede considerar que los tres insecticidas Carbofurán, Metomilo y Propoxur constituyen un riesgo genotóxico para la salud, por su amplio uso y por la gran diversidad de las formulaciones que existen de cada uno de ellos, especialmente del Propoxur y del Carbofurán.

La aplicación de los insecticidas para cualquiera de sus usos es el formulado, que es la mezcla del plaguicida grado técnico (Máxima concentración del ingrediente activo obtenida como resultado final de su fabricación) con uno o más sustancias, como son las arcillas minerales, agentes de superficie, tintes, etc. para hacer útil y eficaz el ingrediente activo. De los trabajos de Bolognesi *et al.* (1994), se desprende que el insecticida Metomilo (IA) no causa los aductos al DNA, pero si el Lannate 25, y son probablemente los ingredientes del plaguicida formulado los que potencian la actividad genotóxica y daño directo al ADN.

Bolognesi *et al.* (1994) y Bonatti *et al.* (1994) encontraron que tanto el Metomilo como el Lannate fueron positivos en el rompimiento de hebra al ADN y en la inducción de aberraciones cromosómicas y micronúcleos, el Carbofurán como ingrediente activo, inhibió la polimerización de la tubulina (Stehrer-Schmid y Wolf 1995), por lo que no se pudo descartar que también los ingredientes activos fueran responsables de la actividad genotóxica y que en algunos insecticidas, los ingredientes de los formulados potenciaran esta actividad.

No se puede ignorar que los insecticidas son en su mayor parte utilizados como formulados y los efectos adversos a la salud pueden deberse también a impurezas, como ocurre con las dioxinas en ciertos herbicidas de tipo clorofenoxi, la etilentiourea en los fungicidas a base de bisditiocarbamatos (OPS 1993).

Es importante resaltar que el Propoxur constituye un mayor riesgo genotóxico para la salud, ya que es considerado el menos tóxico de los tres y por lo mismo se le utiliza ampliamente en el hogar, en lugares públicos, etc.

El Propoxur forma de los insecticidas utilizados en los Programas de Malaria en Centro América (OPS 1993). En estudios de exposición doméstica a plaguicidas en Estados Unidos de América, el Propoxur se incluyó entre los siete insecticidas más utilizados, indicando que este se encuentra en el aire, contribuyendo de manera significativa a la exposición por inhalación e ingestión, en especial en el caso de niños pequeños (Baker 1990, citado en OPS 1993).

Tanto *Vicia faba* como *Allium cepa* resultaron ser excelentes sistemas para la detección de aberraciones en los cromosomas y de alteraciones fisiológicas que produjeron los insecticidas estudiados, sin embargo es posible considerar que las observaciones en metafase, fueron mejores en *Vicia*, ya que hay adecuada separación de los cromosomas que facilitó su registro, con la cebolla los cromosomas en metafase estuvieron menos dispersos,

a pesar que el meristemo es mas blando y se siguió la misma técnica para hacer las preparaciones que con el haba. Las diferencias de tamaño de los micronúcleos fueron también mejor observado en el haba.

El protocolo de *Vicia faba* recién ha sido evaluado dentro del Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS), los seis laboratorios que participaron en la evaluación de aberraciones cromosómicas de cuatro sustancias químicas, ensayadas en las puntas de la raíz del haba dieron resultados iguales para las cuatro sustancias (Sandhu *et al.* 1994).

La cebolla resultó ser más sensible para la evaluación de citotoxicidad a través del índice mitótico, así como de la manifestación de alteraciones en anafase. También se observó más homogeneidad de los datos de un meristemo a otro, con un mismo bulbo de cebolla. Sin embargo los tiempos fueron más largos para la obtención de meristemas que con el haba y con muchos bulbos éstos no se obtuvieron.

Conclusiones

Con los resultados obtenidos en la investigación se puede concluir lo siguiente:

1. Los insecticidas Carbofurán (Furadan 350L), Metomilo (Lannate LV) y Propoxur (Unden 50) tienen actividad genotóxica y producen aberraciones cromatídicas estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en las células meristemáticas de la raíz de *Allium cepa* y de *Vicia faba*.
2. Los tres insecticidas además de ser clastogénicos, poseen actividad sobre el cinetocoro o sus proteínas, ya que se observaron cromosomas con centrómero inactivado.
3. Evidencian actividad en los centros organizadores de los microtúbulos y probablemente interaccionan con la tubulina.
4. Los tres insecticidas son S-dependientes en cuanto a la inducción de aberraciones y pueden ser considerados como promutágenos activados por el metabolismo vegetal.
5. El más genotóxico de los tres es el Carbofurán
6. El más citotóxico mostró ser el Propoxur, a pesar de ser considerado el menos tóxico de los tres.
7. *Vicia faba* durante este estudio se presentó como un mejor sistema para observación de aberraciones en los cromosomas metafásicos que *Allium cepa*.
8. *Allium cepa* resultó ser más sensible que *Vicia*, para evaluar la citotoxicidad.
9. Los meristemas de las raíces de *Allium* y de *Vicia* mostraron capacidad enzimática para metabolizar los insecticidas.
10. Tanto *Vicia* como *Allium* fueron eficientes para evaluar los efectos genotóxicos de los tres insecticidas.

Bibliografía

- Abdel A. y Ragab R. 1989. Somatic chromosomal aberrations induced by benzoylphenylurea in *Vicia faba* L. and *Hordeum vulgare* L. *Cytologia* 54, 627-634.
- Abraham S. y Nair B. 1989. Production of mitotic abnormalities by magnesium sulphate in *Vicia faba* L. *Cytologia* 54, 559-563.
- Adam Z.M., Ebad F. A., Abo-El-Kheir Z.A. y El-Sheiki I.A. 1990. Alterations in nucleic acids, protein content and mitotic division of *Vicia faba* root tip cells as affected by malathion and tamaron insecticides. *Cytologia* 55, 349-355.
- Ahdaya S.M., Monroe R.J. y Guthrie F.E. 1981. Absorption and distribution of intubated insecticides in fasted mice. *Pestic. Biochem. Physiol.* 16, 38-46.
- Albert L. 1990. Los plaguicidas el ambiente y la salud. Centro de Ecodesarrollo, México, 55-63.
- Aldridge W.N. y Reiner E. 1972. Enzyme inhibitors as sustrates. Interaction of esterases with esters of organophosphorus and carbamic acids. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 328 p.
- Aldridge W.N. y Magos L. 1978. Carbamates thiocarbamates, and ditiocarbamates. Comission of the European Communities, Luxembourg, 454 p.
- Ames B.N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* 204, 587-593.
- Ames B.N. 1990. Dietary pesticides (99.99% all natural). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 7777-7781.
- Anderson K., Leighty E. y Takabasi M. 1972. Evaluation of herbicides for possible mutagenic, properties. *J. Agric. Food Chem.* 20, 649-656.
- Amer S. M. y Farah O. D. 1974. Cytological effects of pesticides. VI. Effect of the insecticide "Rogor" on the mitosis in *Vicia faba* and *Gossypium barbadense*. *Cytologia* 39, 507-514.
- Auerbach C. 1976. Mutation Research: Problems, results and perspectives. Chapman y Hall. Londres, 540 p.
- Baldwin B.C. 1977. Xenobiotic metabolism in plants. En: Parke D.V. y Smith R. L. (Eds). *Drug Metabolism: From microbe to man*. Taylor y Francis Londre, pp. 191-217.
- Banerjee A. 1992. A time course study of the relative cytotoxic effects of extracts of different types of tobacco on *Allium cepa* mitosis. *Cytologia* 57, 315-320.
- Banduhn N. y Obe G. 1985. Mutagenicity of methyl 2-benzimidazolecarbamate, diethylstilbestrol and estradiol: structural chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, C-mitosis, polyploidies and micronuclei. *Mutat. Res.* 156, 199-218.
- Baron R. 1991. Carbamate insecticides. En: Hayes W J. Jr. y Laws E. Jr. (Eds.). *Handbook of pesticides toxicology*. Vol. 3. Nueva York, Academic Press, pp. 1125-1156.
- Bender M., Griggs H. y Bedford J. 1974. Recombinational DNA repair and sister-chromatid exchanges. *Mutat. Res.* 24, 117-123.

- Blevins R., Lee M. y Regan J.D. 1977a. Mutagenicity screening of five methylcarbamate insecticides and their nitroso derivates using mutants of *Salmonella typhimurium* LT2, Mutat. Res. 56, 1-6.
- Blevins R., Lijinsky W. y Regan J.D. 1977b. Nitrosated methylcarbamate insecticides: effect on the DNA of human cells. Mutat. Res. 44, 1-7.
- Bolognesi C., Peluso M., Degan P., Rabboni R., Munnia A. y Abbondandolo P. 1994. Genotoxic effects of the carbamate insecticide, methomyl. II. *In vivo* studies with pure compound and the technical formulation, "Lannate 25". Environ. Mol. Mutagen. 24, 235-242.
- Bonatti S., Bolognesi C., Degan P. y Abbondandolo A. 1994. Genotoxic effects of the carbamate insecticide methomyl.. *In vitro* studies with pure compound and the technical formulation "Lannate 25". Environ. Mol. Mutagen. 23, 306-311.
- Brusick D., Simmon V., Rosenkranz H., Ray V. y Stafford R. 1980. An evaluation of the *Echerichia coli* WP2' and WP2 urv A reverse mutation assay. Mutat. Res. 76, 169-190.
- Calderón-Segura M. E. 1993. Intercambio de cromátidas hermanas inducido por Propoxur en cultivo de linfocitos humanos previa activación metabólica por *Vicia faba*. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias-UNAM, México.
- Carpenter C.P., Weil C.S., Palm P.E., Woodside M.W., Nair J.H. y Smyth H.F. 1961. Mammalian toxicity of 1-naphthyl N-methylcarbamate. J. Agric. Food Chem. 9, 30-39.
- Chauhan L.k. y Sundararaman V. 1990. Effect of substituted ureas on plant cells. I. Cytological effects of isoproturon on the root meristem cells of *Allium cepa*. Cytologia 55, 91-98.
- CICOPLAFES (Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas) 1992. Catalogo oficial de plaguicidas. México D.F
- Clemons G.P. y Sisler H.D. 1971. Localization of the site of action of fungitoxic benomyl derivative. Pestic. Biochem. Physiol. 1, 32-43.
- Corey O.G. y Henao S. 1991. Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Metepec Edo. de México. p. 169.
- Coss R.A., Bloodgood R.A., Brower D.L., Pickett-Heaps J.D. y McIntosh J.R. 1975. Studies on the mechanism of action of isopropyl-phenylcarbamate. Exp. Cell Res. 92, 994-398.
- Costa L.G., Hand H. y Murphy S.D. 1981. Tolerance to the carbamate insecticide Propoxur. Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 40, 630-632.
- Crosby D.G. 1973. The fate of pesticides in the environment. Annu. Rev. Plant Physiol. 2, 467.
- Davidse L.C. 1973. Antimitotic activity of mehtyl benzimidazole-2-yl-carbamate (MBC) in *Aspergillus nidulans*. Pestic. Biochem. Physiol. 3, 317-325.
- Dawson J.A., Heath D.F., Rose J.A., Thain E. M. y Ward J.B. 1964. The excretion by humans of the phenol derived *in vivo* from 2-isopropoxyphenyl-N-methylcarbamate. Bull. World. Health Org. 30, 127-134.
- Debuyst B. y Van Larebeke N. 1983. Induction of sister-chromatid-exchanges in human lymphocytes by aldicarb, thiofanox and methomyl. Mutat. Res. 113, 242-243.

- De Kergommeaux D.J., Grant W.F. y S.S. Sandhu. 1983. Clastogenic and physiological response of chromosomes to nine pesticides in the *Vicia faba in vivo* root tip assay system. *Mutat. Res.* 124, 69-84.
- De Lorenzo F., Staiano N., Silengo L. y Cortese R. 1978. Mutagenicity of diallate, sulfallate and triallate and relationship between structure and effects of carbamate used widely in agriculture. *Cancer Res.* 38, 13-15.
- De la Torre R.A. 1994. Genotoxic activity of mebendazole in *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res.* 305, 139-144.
- Deutsch-Wenzel R.P., Brune H., Grimmer G. y Misfeld J. 1985. Local application to mouse skin as a carcinogen-specific test system for non-volatile nitroso compounds. *Cancer Lett.* 29, 85-92.
- Dorough H.W. y Casida J.E. 1964. Nature of certain carbamate metabolites of the insecticide sevin. *J. Agric. Food Chem.* 12, 294-304.
- Dulout F.N., Olivero O.A. y Pastori M.C. 1982. The mutagenic effect of thiram analyzed by the micronucleus test and anaphase-telophase test. *Mutat. Res.* 105, 409-412.
- Du Pont. 1986. Methomyl toxicology monograph. E.I. du Pont de Nemours and Company, Inc. Wilmington, Delaware (unpublished): citado en Baron L.R. 1991. *Handbook of Pesticide Toxicology* (3). Academic Press. Inc.
- Eisenbrand G. y Siebert D. 1974. Induction of mitotic gene conversion in *Sacharomyces cerevisiae* by N-nitrosated pesticides. *Mutat. Res.* 22, 121-126.
- Eisenbrand G., Ungerer O. y Preussmann R. 1975. The reaction of nitrite with pesticides. II. Formation, chemical, properties, and carcinogenic activity of N-methyl-1-naphthylcarbamate (carbaryl). *Food Cosmet. Toxicol.* 13, 365-365.
- Eisenbrand G., Schmall D. y Preussmann R. 1976. Carcinogenicity in rats of high oral doses of N-nitrosocarbaryl, a nitrosated pesticide. *Cancer Lett.* 1, 281-285.
- Elespuru R.K., Lijinsky W. 1973. The formation of carcinogenic nitroso compounds from nitrite and some types of agricultural chemicals. *Food Cosmet. Toxicol.* 11, 807-817.
- El-Khodary S., Habib A. y Haliem A. 1989. Cytological effect of the herbicide garlon-4 on root mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia* 54, 465-472.
- El-Khodary S., Habib A. y Haliem A. 1990. Effects of the herbicide tribunil on root mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia* 55, 209-215.
- El-Sewedy S.M., Zahran M.A., Zeidan M.A., Mostafa M.H. y El-Bassiouni E.A. 1982. Effect and mechanism of action of methomyl and cypermethrin insecticide on kynurenine metabolizing enzymes of mouse liver. *J. Environ. Sci. Health, Part B* B17, 527-539.
- Evans H. J. y Bigger T.R. L. 1961. Chromatidic aberrations induced by gamma irradiation. II. Nonrandomness in the distribution of chromatid aberrations in relation to chromosome length in *Vicia faba* root-tip cells. *Genetics* 46, 277-289.
- Evans H.J. 1962. Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. *Int. Rev. Cytol.* 13, 221-231.
- Evans H.J. y Scott D. 1964. Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics* 49, 17-38.

- Evans H.J. 1977. Molecular mechanisms in the induction of chromosomal aberrations. En: Scott D., Bridges B.A. y Sobels F.H. (Eds). *Progress in Genetic Toxicology*. Elsevier/North Holland, Amsterdam, p. 57.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). 1977. 1976 Evaluation of some pesticide residues in food, Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (AGP 1977/M/14).
- FAO/WHO. 1981. 1980 Evaluation of some pesticide residues in food, Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and Protection paper 29 suppl.)
- FAO/WHO 1989. Pesticide residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Ferguson P.W., Jewell S.A., Krieger R.I. y Raabe O.G. 1982. Carbofuran disposition in the rat after aerosol inhalation. *Environ. Toxicol. Chem.* 1, 245-258.
- Ferguson P.W., Dey M.S., Jewell S.A. y Krieger R.I. 1984. Carbofuran metabolism and toxicity in the rat. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4, 14-21.
- FMC . 1986. "Carbofuran". FMC Corporation, Princeton, Nueva Jersey (sin publicar). En: Baron 1991. Carbamate insecticides. Hayes Wj Jr. Laws E. Jr. (Eds): *Handbook of Pesticide Toxicology*. Vol. 3. Nueva York, Academic Press, pp. 1125-1156.
- Fraga C.G., Shigenaga M.K., Park J-K, Degan P. y Ames B.N. 1990. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hidroxy-2-deoxyguanosine in rat organ DNA urine. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 87, 4533-4537.
- Frear D.S. 1976. Pesticide conjugates-glycosides. En: Bound and conjugated Pesticide residues Symposium Serie 29, American Chemical Society, Washington, D.C. pp. 35-54.
- Fukuto T.R. 1972. Metabolism of carbamate insecticides. *Drug. Metab. Rev.* 1, 117-150.
- Fukuto T.R. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ. Health Perspect.* 87, 245-254.
- Gentile J.M., Gentile G.J., Bultman J., Sechriest R., Wagner E.D. y Plewa M.J. 1982. An evaluation of the genotoxic properties of insecticides following plant and animal activation. *Mutat. Res.* 101, 19-29.
- Gichner T., Badaev S.A., Pospíšil F. y Velemínský J. 1990. Effects of humic acids, paramobenzoic acid and ascorbic acid and on the mutagenicity of nitrosoPropoxur. *Mutat. Res.* 154, 53-58.
- Giménez-Abian I., De la Torre C., Cánovas J.L. y Giménez-Martín G. 1988. Modulation of S and G₂ by the amount of cytoplasm surrounding each nucleus in onion multinucleate cells. *Eur. J. Cell Biol.* 47, 404-407.
- Giménez-Martín G., De la Torre C. y López-Saéz J.F. 1977. Cell division in higher plants. En: Thomas I.R., Giffort E.M. y Dowden H. (Eds.) *Mechanisms and control of cell division*. Pennsylvania, Hutchinson y Ross Inc. Stroudsburg pp. 261-307.
- Gómez-Arroyo S., Baíza A.M., López G. y Villalobos-Pietrini R. 1985. A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion and methyl parathion in *Vicia faba*. *Contam. Ambient.* 1, 7-16.

- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz P. y Villalobos-Pietrini R. 1986. Chromosomal alterations induced in *Vicia faba* by different industrial solvents: thinner, toluene, benzene, n-hexane, n-heptane and ethyl acetate. *Cytologia* 51, 133-142.
- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz P., Cortés-Eslava J. y Villalobos-Pietrini R. 1988. *Vicia faba*-Sister chromatid exchanges of the organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, oxydemeton methyl, azinphos methyl and phoxim. *Cytologia* 53, 627-634.
- Gómez-Arroyo S., Calderón-Segura M.E. y Villalobos-Pietrini R. 1995. Sister chromatid exchange in human lymphocytes induced by Propoxur following plant activation by *Vicia faba*. *Environ. Mol. Mutagen.* 26, 324-330.
- Gómez-Arroyo S. y Villalobos-Pietrini R. 1995. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in *Vicia faba* as genetic monitors of environmental pollutants. En: Butterworth F.M., Corkum L.D. y Guzmán-Rincón J. (Eds.) *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*. Nueva York, Plenum Press, pp. 95-113.
- González-Cid M., Loria D. y Matos E. 1990. Genotoxicity of the pesticide Propoxur and its nitroso derivative. NO-Propoxur, on human lymphocytes *in vitro*. *Mutat. Res.* 232,45-48.
- González-Quirasco I. 1991. Efecto citogenético del insecticida baygón (Propoxur) sobre cultivo de linfocitos humanos. Tesis Profesional, Facultad de Biología-Xalapa, Universidad Veracruzana.
- Grant W.F. 1978. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environ. Health Perspect.* 27, 37-43.
- Grant W.F., Zinov'eva-Stahevitch A.E. y Zura K.D. 1981. Plant genetic test systems for the detection of chemical mutagens. En: Stich H.H. y San R.H.C. (Eds.) *Short Term Test for the Detection of Chemical Mutagens*. Nueva York, Springer, pp. 200-216.
- Grant W.F. 1982. Chromosome aberrations assay in *Allium cepa*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99, 273-291.
- Grant W.F., Lee H.G., Logan D.M. y Salomone M.F. 1992. The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the *in situ* detection of mutagens in an aquatic environment. *Mutat. Res.* 270, 53-64.
- Grover I.S. y Malhi P.K. 1988. Genotoxic effects of some organophosphorus pesticides. III. *In vivo* chromosomal aberration bioassay in root meristems of *Allium* and *Hordeum*. *Cytologia* 53, 181-191.
- Guerzoni ME., Ponti I. y Del Cupolo L. 1976. Mutagenic activity of pesticides. *Riv. Sci. Tecn. Alim. Nutr. Um Anno.* VI, 161-165.
- Hahnemann S. y Rühl-Fehlert C. 1988. BOQ 5812315 (common name: Propoxur). Chronic feeding test on female Wistar rats over 2 years (dose-effect-time relationship). Unpublished Report No. 16980 dated august 2, 1988 from Bayer AG Toxicology Division, Wuppertal (study no. T 6018430). Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany: en FAO/WHO 1989.
- Hammerschlan R.S. y Sisler H.D. 1973. Benomyl and methyl-2-benzimidazole carbamate (MBC): biochemical, cytological and chemical aspects of toxicity to *Ustilago maydis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 3, 42-54.

- Harvey J. Jr., Jelinek A.G. y Sherman H. 1973. Metabolism of methomyl in the rat. J. Agric. Food Chem. 21, 769-775.
- Harvey J. Jr. y Reiser R. W. 1973. Metabolism of methomyl in tobacco, corn and cabbage. J. Agric. Food Chem. 21, 775-783.
- Heddle J.A. y Carrano A.V. 1977. The DNA contents of micronuclei induced in mouse bone marrow by gama-irradiation: evidence that micronuclei arise from acentric chromosomal fragments. Mutat. Res. 44, 63-69.
- Heimann K.G. 1982. Carbamate UN, technical (common name Propoxur, Unden active ingredient; Baygon active ingredient) Subacute study on rats compared with carbamate UN, recrystallised, Unpublished Report No. 11621. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. En: FAO/WHO. 1989. Pesticide residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and Protection paper 100/2).
- Henao S. y Corey G. 1991. Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. OPS/OMS. México.
- Hemavathy K.C. y Krishnamurthy N.B. 1987. Mutagenicity studies in *Drosophila melanogaster* with Lannate 20. Mutat. Res. 191, 41-43.
- Herbold B. 1980a. BOE 5812315, dominant lethal study on male mouse to test for mutagenic effects. Unpublished Report No. 8808. Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1980b. BOE 5812315, micronucleus test on mouse to evaluate BOE 5812315 for mutagenic potencial. Unpublished Report no. 9274 from Bayer AG, Instituted of Toxicology, Wuppertal-Elberfel. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1985a. Propoxur (BOQ 5812315), sister chromatid exchange in the bone marrow of the Chinese Hamster *in vivo* to evaluated for harmful effect on DNA. Unpublished Report no. 13501 from Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1985b. BOQ 5812315, sister chromatic exchange in human lymphocyte cultures *in vitro* to test for DNA-modifying effects. Unpublished Report no. 13871 from Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1985c. BOQ 5812315, test on *S. cerevisiae* D7 to evaluate for point mutagenic effect. Unpublished report no. 13966. Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-

- Elberfeld. Data submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1986. BOQ 5812315 (Propoxur), cytogenetic study of chromosome damage using spermatogonia of Chinese Hamsters *in vivo*. Unpublished report no. 14984 from Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Herbold B. 1988. BOQ 5812315 (Propoxur), cytogenetic study on bone marrow of Chinese Hamster *in vivo* to detect chromosomal damage. Unpublished Report no. 17111 from Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elbert. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic Germany. Citado FAO/WHO. 1989. Pesticides residues in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO Plant Production and protection paper 100/2).
- Hoda Q. y Afzal M. 1992. Impact of vitamin B₁₂ against pesticide induced mitoinhibition and clastogeny. *Cytologia* 57, 353-358.
- Hoda Q. y Sinha S.P. 1992. Vitamin B-complex mediated minimisation of malathion and rogor induced mitoinhibition and clastogeny. *Cytologia* 57, 477-483.
- Hoque M.Z. 1972. Carbaryl, a new chemical mutagen. *Curr. Sci.* 41, 855-856.
- Hummelen P.V., Elhajouji A. y Kirsch-Volders M. 1995. Clastogenic and aneugenic effects of three benzimidazole derivatives in the *in vitro* micronucleus test using human lymphocytes. *Mutagenesis* 10, 23-29.
- IARC 1976. Some carbamates, thiocarbamates, and carbazides. Lyons. International Agency for Research on Cancer- (IARC Monographs on the Evaluations of Carcinogenic Risk of Chemical to Man), Vol. 12.
- IARC 1983. Miscellaneous pesticides, Lyons. International Agency for Research on Cancer.(IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Man), Vol 3, appendix 359-406.
- IPCS/WHO. 1985. Environmental Health Criteria 51. Guide to Short-term Test for Detecting Mutagenic and Carcinogenic Chemical. 79-89.
- Ivanova-Chemishanska L. y Antov G. 1976. Changes in the activity of some enzymes under the action of benomyl. Citado en WHO/1986-Carbamate pesticides: a general introduction (Environmental Health Criteria 64).
- Ivanova-Chemishanska L. y Antov G. 1980. Changes in gonads, reproduction, and generations of white rats under the effect of some pesticides. *Arch. Toxicol.* 4(suppl.), 459-462.
- Ivie G.W. y Dorough H.W. 1968. Furadan-¹⁴C metabolism in lactating cow. *J. Agric. Food Chem.* 16, 849-855.
- Izmirova N., Milcheva V., Monov A. y Kaloyanova F. 1981. Acute carbofuran intoxication. *Khig. Zdraveopaz.* 25, 445-448. En: Baron R. L. 1991. Carbamate insecticides. En: Hayes Wj Jr. Laws E. Jr. (Eds): *Handbook of Pesticides to Toxicology*. Vol. 3. Nueva York, Academic Press, pp 1125-1156.

- Jaszczuk E., Syrowatka T. y Cybulski J. 1979. Mutagenic activity of Propoxur, carbaryl and their nitroso derivatives: induction of reversion in *Salmonella typhimurium*. Roczn. Panstw. Zakl. Hig. 30, 81-88.
- Jaszczuk E. y Syrowatka T. 1980. Mutagenic action of certain pesticides on *Salmonella typhimurium*. Roczn. Panstw. Zakl. Hig. 31, 305-311.
- Kaplan A.M. y Sherman H. 1977. Toxicity studies with methyl-N-methylamino-carbonyloxyethanimidothioate. Toxicol. Appl. Pharmacol. 40, 1-17.
- Kappas A., Georgopoulos S.G. y Hastie A.C. 1974. On the genetic activity of benzimidazole and thiophanate fungicides on diploid *Aspergillus nidulans*. Mutat. Res. 26, 17-25.
- Karl W. 1986. Biotransformation of Propoxur: quantitative determination of the metabolic pattern in rats given a single dose of ¹⁴C-Propoxur after a subchronic prefeeding period in two diet groups and three dose groups. Unpublished Report No. KWN 42 dated october 15, 1986. from Bayer AG Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer Leverkusen, Federal Republic of Germany.
- Karl W. y Schneider J. 1987. Isolation and spectroscopic structure elucidation of the renal metabolite conjugates of Propoxur. Unpublished Report No. KWN 44 dated August 26, 1987 from Bayer AG Institute of Toxicology, Wuppertal-Elberfeld. Submitted to WHO by Bayer AG, Federal Republic of Germany.
- Kennedy G.L., Ferenz R.L. y Burgess B.A. 1986. Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD₅₀. J. Appl. Toxicol. 6, 145-148.
- Kihlman B.A. 1966. Action of chemicals on dividing cells. Prentice Hall. Nueva Jersey, pp. 117-138.
- Kihlman B.A. 1975. Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations. Mutat Res. 31, 401-413.
- Kihlman B.A. 1977. Caffeine and chromosomes. Elsevier, Amsterdam, pp. 504.
- Kihlman B.A., Natarajan A.T. y Andersson H.C. 1978. Use of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. I. G₂. Experiments with root-tips of *Vicia faba*. Mutat. Res. 52, 181-198.
- Kihlman B.A. y Andersson H.C. 1984. Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*. 2a.ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 531-554.
- Kihlman B.A. y Andersson H.C. 1992. Enhancement and reduction by methylated oxypurines of the frequencies of chromatid aberrations induced by camptothecin in root-tip cells of *Vicia faba*. Mutat. Res. 269, 259-267.
- Kimmerle G. e Iyatomi A. 1976. Toxicity of Propoxur to rats by subacute inhalation. Jpn. J. Ind. Health 18, 375-382.
- Krechniak J. y Foss W. 1982. Cholinesterase activity in rats treated with Propoxur. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 29, 599-604.
- Krechniak J. y Foss W. 1983. Behaviour of Propoxur after repeated administration. Citado en FAO/WHO 1989.
- Krieger R.I., Ferguson P.W., Dey M.S. y Jewell S.A. 1984. Carbofuran metabolism and

- toxicity in the rat. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4, 14-21.
- Kuhr R.J. y Casida J.E. 1967. Persistent glycosides of metabolites of methylcarbamate insecticide chemical formed by hydroxylation in bean plants. *J. Agric. Food Chem.* 15, 81-83.
- Kuhr R.J. 1968. Metabolism of methylcarbamate insecticide chemicals in plants. *J. Sci. Food Agric.* 44 (Suppl.1, 43-49).
- Kumar D. y Sinha S.P. 1989. Threshold dose of cytogenetic toxicity of lindane, malathion and metacid in *Allium cepa* root-tip cells. *Cytologia* 54, 547-552.
- Lehn H. 1988. BOQ 5812315 (Propoxur), mutagenicity study for the detection of induced forward mutations in the CHO-HGPRT assay *in vitro*. Unpublished Report no. 17090 from Bayer AG, Fachbereich Toxikologie, Wuppertal. Data submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic Germany. Citado FAO/WHO 1989. Pesticide residues in food. Food Agriculture Organization United Nations (Plant Production Protection paper 100/2).
- Levan A. 1938. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas* 24, 471-486.
- Levan A. 1949. The influence on chromosomes and mitosis of chemicals, as studied by the *Allium* test. *Proc. Int. Congr. Genet.* 8th. 1948, pp. 325-337.
- López-Sáez J.F., Giménez-Martín G., y González-Fernández A. 1966. Duration of the cell division cycle and its dependence on temperature. *Zellforsch* 75, 591-600.
- López-Sáez J.F., González-Fernández A., De la Torre C., Díez J.L., Fernández-Gómez M.E., Navarrete M.H., García-Herdugo G. y Gimenez-Martín G. 1975. A model for cell cycle and growth kinetics in roots. *J. Theor. Biol.* 53, 463-473.
- Lijinsky W. y Elespuru R. 1976. Mutagenicity and carcinogenicity of N-nitroso derivatives of carbamate insecticides. En: Walker E.A., Bogowski P. y Gričiute L. (Eds). *Environmental N-nitroso compounds: analysis and formation*. Sci. Publ. 4 International Agency for Research on Cancer, Sci. Publ. No. 14 Lyon, pp. 425-428.
- Lijinsky W. y Taylor H.W. 1977. Carcinogenesis in *Sprague Dawley* rats of N-nitroso-N-alkylcarbamate esters. *Cancer Lett.* 1, 275-279.
- Lijinsky W. y Schmäl D. 1978. Carcinogenicity of N-nitroso derivatives of N-methylcarbamate insecticides in rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2, 413-419.
- Lijinsky W. y Winter C. 1981. Skin tumors induced by painting nitroalkyureas on mouse skin. *J. Cancer Res Clin. Oncol.* 102, 13-20
- Ma T.H. 1979. Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. A promising mutagen test system. *Mutat. Res.* 64, 307-313.
- Ma T.H. 1982. *Vicia* cytogenetic test for environmental mutagens: A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 99, 257-271.
- Ma T.H. y Harris M.M. 1985. *In situ* monitoring of environmental clastogens. En: Saxena J. (Ed.). *Hazard assessment of Chemicals: Current Developments*, vol.4, Academic Press, Nueva York, pp. 77-106.
- Maliwal B.P. y Guthrie F.E. 1981. Interaction of pesticides with human plasma lipoprotein. *Chem. Biol. Interat.* 35, 177-188.
- Marshall T.C., Dorrough H.W. y Swim H. 1976. Screening of pesticides for mutagenic potential using *Salmonella typhimurium*. *J. Agric. Food Chem.* 24, 560-563.

- Marshall T.C. y Dorrough H.W. 1977. Bioavailability in rats of bound and conjugated plant carbamate insecticide residues. *J. Agric. Food Chem.* 25, 1003-1007.
- Matsumura F. y Murti K.C. 1982. Biodegradation of pesticides. Plenum Press, Nueva York, pp. 21-66.
- McCarthy J.F., Fancher O.E., Kennedy G.L., Keplinger M.L. y Calandra J.C. 1971. Reproduction and teratology studies with the insecticide carbofuran. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 19, 370-375.
- Mensinkai S.W. 1939. The conception of the satellite and the nucleolus, and the behavior of these bodies in cell division. *Ann. Bot.* 3, 763-769.
- Meneses M.A., Heira A.J. y Rodríguez M.A. 1991. Sistema de seguridad para congelar preparaciones citológicas temporales. Memorias del III Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, Metepec, Puebla México.
- Metcalf R.L., Fukuto T.R., Collins C., Borck K., Burk J., Reynolds H.T. y Osman M.F. 1966. Metabolism in plant and insect. Metabolism of 2-methyl-2-(methylthio)-propionaldehyde O-methylcarbamoyl-oxime in plant and insect. *J. Agric. Food Chem.* 14, 579-584.
- Metcalf R.L. 1975. Organic insecticides, their chemistry and mode of the action. Intersci. Publish., Londres.
- Miller R.W. 1977. Relationship between human teratogens and carcinogens. *J. Natl. Cancer Inst.* 58, 471-474.
- Moriya M., Ohta T., Watanabe K., Miyazawa T., Katoo K. y Shirasu Y. 1983. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat. Res.* 116, 185-216.
- Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen M. y Degrave N. 1984. Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of insecticides. En: Kirsch-Volders M (Ed.). *Mutagenicity, Carcinogenicity, and Teratogenicity of Industrial Pollutants*. Plenum Press, Nueva York, pp. 127-203.
- Natarajan A.T. y Obe G. 1980. Screening of human populations for mutations induced by environmental pollutants: use of human lymphocyte systems, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 4, 468-481.
- Nicoloff H. y Gecheff K. 1976. Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* 34, 233-244.
- Nilan R.A. 1978. Potencial of plant genetic systems for monitoring and screening mutagens. *Environ. Health Perspect.* 27, 181-186.
- Njagi G.D.E. y Gopalan H.N.B. 1981. Mutagenicity testing of herbicides, fungicides and insecticides. I. Chromosome aberrations in *Vicia faba*. *Cytologia* 46, 169-172.
- Nuti Ronchi V. y Arcara P.G. 1967. Citado en, Grant W.f. 1982. Chromosome aberration assays in *Allium*. *Mutat. Res.* 99, 273-291.
- Ohta T. y Moriya M. 1983. Propoxur, microbial mutagenicity stuy. Unpublished Report No. 10976, 1982 from Bayer AG, Institute of Toxicology, Wuppertal-Elbertal. Data submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic Germany.

- Oliver J.M., Krawiec J.A. y Berlin R.D. 1978. A carbamate herbicide causes microtubule and microfilament disruption and nuclear fragmentation in fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 116, 229-237.
- Oliver J.E. 1981. Pesticide-derived nitrosoamines. En: Tannenbaum, S.T (Ed). *N-nitroso Compounds*, Washington DC. American Chemical Society (ACS Symposium Series 174).
- Oonithan R.S. y Casida J.E. 1968. Oxidation of methyl- and dimethylcarbamate insecticide chemicals by microsomal enzymes and anticholinesterase activity of metabolites. *J. Agric. Food Chem.* 16, 29-34.
- OPS/OMS (Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud). 1993. *Plaguicidas y Salud en las Américas*. Washington DC.
- Pandey R.K., Shukla R. y Datta S.K. 1994. Chromotoxic effects of one fungicide (Dithane M-45) and two insecticides (Aldrex-30 y Metacid-50). *Cytologia* 59, 419-422.
- Pandita T.K. 1988. Assessment of the mutagenic potential of a fungicide bavistin using multiple assays. *Mutat. Res.* 204, 627-643.
- Pauluhn J. y Rühl C. 1985. BOQ 5812315, study for subacute inhalation toxicity to the rat. Unpublished report No. 13297. Bayer AG, Institute of Toxicology Wuppertal-Elberfeld. Data submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. En: FAO/WHO. 1989.
- Pawar K., Katdare R. y Meena M. 1984. Toxic and teratogenic effects fenitrothion BCH and carbofuran on embryonic development of frog *Microphyla ornata*. *Toxicology* 22, 7-13.
- Putman D.L. y Morris M.J. 1988. Chromosome aberrations in Chinese Hamster ovary (CHO) cells, Baygon technical. Unpublished Report no. 1094 from Microbiological Associates Inc. Maryland, USA. Submitted to WHO by Bayer AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany. Citado FAO/WHO 1989. Pesticide residues in food. Food Agriculture Organization United Nations. (Plant production protection paper 100/2).
- Posztai T. 1983. Chromosomal aberrations and chlorophyll mutations induced by some pesticides in barley. *Acta Bot. Hung.* 29, 55-66.
- Quarles J.M. y Tennant R.W. 1975. Effects of nitroso-carbaryl on Balb/3T3 cells. *Cancer Res.* 35, 2637-2645.
- Quinlan R.A., Pogson C.I. y Gull K. 1980. Influence of the microtubule inhibitor methyl benzimidazol-2-yl carbamate (MBC) on nuclear division and the cell cycle in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.* 46, 341-352.
- Ramanna M.S. y Natarajan A.T. 1966. Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosoma* 18, 44-59.
- Rank J. y Nielsen M.H. 1994. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutat. Res.* 312, 17-24.
- Rannug A. y Rannug U. 1984. Enzyme inhibition as a possible mechanism of the mutagenicity of dithiocarbamic acid and derivatives in *Salmonella typhimurium*. *Chem. Biol. Interac.* 49, 329-340.
- Rao B.V., Rao B.G.S. y Sharma C.B. 1988. Cytological effects of herbicides and insecticides on *Allium cepa* root meristems. *Cytologia* 53, 255-261.

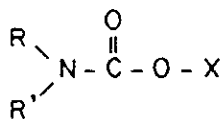
- Regan J.D., Setlow R.B., Francis A.A. y Lyjinsky W. 1976. Nitrosocarbaryl: its effect on human DNA. *Mutat. Res.* 38, 293-301.
- Reiner E. y Aldridge W.N. 1967. Effect of pH on inhibition and spontaneous reactivation of acetylcholinesterase treated with a series of phosphoric acids and of carbamic acids. *Biochem. J.* 105, 171-179.
- Reyes-Pérez H. 1994. Efecto citogenético del Carbofurán (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-7 benzofuranil-N-metil carbamato), en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Veracruzana, México.
- Roszkowski P. 1982. Effect of the preparation Propoxur on intrauterine development and on the state of bone formation in the progeny of the rat. *Ginek. Pol.* 53, 201-207.
- Roth E.J., Weber G. y Lark K.G. 1982. Use of Isopropyl-N(3-chlorophenyl) carbamate (CIPC) to produce partial haploid cells from suspension cultures of soybean (*Glycine max*). *Plant Cell Reports* 1, 205-208.
- Saggoo M.I.S. y Kumari S. 1991. Cytological effects of Indian medicinal plants. I. Mitotic effects of leaf homogenate of *Tylophora indica* L. on *Allium cepa*. *Cytologia* 56, 633-637.
- Sakai K. y Matsumura F. 1968. Esterases of mouse brain active in hydrolyzing organophosphate and carbamate insecticides. *J. Agric. Food Chem.* 16, 803-807.
- Sakai K. y Matsumura F. 1971. Degradation of certain organophosphate and carbamate insecticides by human brain esterases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 19, 660-666.
- Salomón A.M. 1987. Determinación del efecto citogenético del insecticida Propoxur (baygón) en células meristemáticas de *Vicia faba*. Tesis Profesional, Facultad de Biología-Xalapa, Universidad Veracruzana.
- Sandhu S.S., Waters M.D., Simmon V.F., Mortelmans K.E., Mitchell A.D., Jergenson T., Jones D.C., Valencia R. y Stack F. 1985. Evaluation of the genotoxic potential of certain pesticides used in Pakistan. *Basic Life Sci.* 34, 185-219.
- Sans J., Giménez-Martín G. y De la Torre C. 1980. Onset of cell proliferation in dormant roots of *Allium cepa* L. bulbs. Kinetic analysis. *Biol. Cell* 38, 95-104.
- Santhakumari G. y Stephen J. 1988. Antimitotic effects of holothurin. *Cytologia* 53, 163-168.
- Schmid W. 1975. The micronucleus test. *Mutat. Res.* 31, 9-15.
- Schmidt U. 1987. Investigations of interspecies differences in primary metabolism with liver-cell fractions from rat, mouse, hamster, monkey and man. Citado en FAO/WHO 1989.
- Schwartz J.L. 1989. Monofunctional alkylating agent-induced S-phase-dependent DNA damage. *Mutat. Res.* 216, 111-118.
- Seiler J.P. 1977. Nitrosation *in vitro* and *in vivo* by sodium nitrite, and mutagenicity of nitrogenous pesticides. *Mutat. Res.* 48, 225-236.
- Shah P.V., Monroe R.J. y Guthrie F.E. 1981. Comparative rates of dermal penetration of insecticides in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59, 414-423.
- Shelby M.D. 1980. Plants as monitors for environmental mutagens. En: Worf D.L. (Ed.). *Biological Monitoring for Environmental Effects*, Lexington Books (Heath), Lexington, Ma., pp.350-05.

- Shimabukuro R.H., Lamoureux G.L. y Stuart D. 1982. Pesticide metabolism in plants reactions and mechanisms. En: Matsumura F. y Murti K.C. 1982. Bidegradation of pesticides. Verlag Plenum Press, New York, London. pp 21-66.
- Shirasu Y., Moriya M. Kato K., Furuhashi y Kada T. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in microbial system. *Mutat. Res.* 40, 19-30.
- Shirasu Y., Moriya M., Tezuka H., Teramoto S., Ohta T. e Inoue T. 1982. Mutagenicity screening studies on pesticides. En: Sugimura T., Kondo S. y Takabe H. (Eds.). *Enviromental mutagens and carcinogens*. Alan Liss, Nueva York, pp. 331-335.
- Siebert D. y Eisenbrand G. 1974. Induction of mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae* by N-nitrosated pesticides. *Mutat. Res.* 22, 121-126.
- Simmon V.F., Poole D.C. y Newell G.W. 1976. *In vitro* mutagenic studies of twenty pesticides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 37, 109-111.
- Simmon V.F., Mitchell D. y Jergenson T.A. 1977. Evaluation of selected pesticides as chemical mutagens *in vitro* and *vivo* studies. Rep. No. EPA-600/1-77-028. U.S. EPA, Research Triangle Park Worth Carolina.
- Stehrer-Schmid P. y Wolf H-V. 1995. Effects of benzofuran and seven benzofuran derivatives including four carbamate insecticides in the *in vitro* porcine brain tubulin assembly assay and description of a new approach for the evaluation of the test data. *Mutat. Res.* 339, 61-72.
- Stehrer-Schmid P. y Wolf H-V. 1995. Genotoxic evaluation of three heterocyclic N-methylcarbamate pesticides using the mouse bone marrow micronucleus assay and the *Saccharomyces cerevisiae* strains D7 and D61.M. *Mutat. Res.* 345, 111-125.
- Still G.G., y Rusness D.G. 1977. S-cysteinyl-hidroxychlorpropam: formation of thee S-cysteinyl conjugate of isopropyl-3'-chloro-4-hidroxy-carbamilate in oat (*Avena sativa* L). *Pestic. Biochem. Physiol.* 7, 210-219.
- Takehisa S., Kanaya N. y Rieger R. 1982. Induction of SCEs in CHO cells by extracts from *Vicia faba* roots exposed to ethanol. *Mutat. Res.* 105, 169-174.
- Tannenbaum S.R., Inskey A.J., Weisman M. y Bishop W. 1974. Nitrite in human. Its possible relationship to nitrosamine formation. *J. Natl. Cancer Inst.* 53, 79-84.
- Tannock J. y Wessels C. 1981. Determination of carbofuran residues and metabolites in plant material. *Pestic. Sci.* 12, 228-234.
- Tomkins D.J. y Grant W.F. 1974. Differential response of 14 weed species to seven herbicides in two plan communities. *Can J. Bot.* 52, 525-533.
- Tsukamoto M. y Casida J.E. 1967. Albumin enhancement of oxidative metabolism of methylcarbamate insecticide chemicals by the fly microsome-NADH₂ system. *J. Econ. Entomol.* 60, 617-622.
- Tyrkiel E. 1977. Mutagenic action of isopropoxyenyl-N-methyl carbamate (Propoxur) on mouse gametes. *Roez. Pzh.* 23, 601-613.
- Uchiyama M., Takeda M., Susuki T. y Yoshikawa K. 1975. Mutagenicity of nitroso derivatives of N-methylcarbamate insecticides in microbiological method. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 14, 384-394.
- Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S. y Villalobos_Pietrini R. 1993. Cytological effects of some carbamate insecticides. I Methomyl and oxamyl in *Vicia faba*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 9, 65-69.

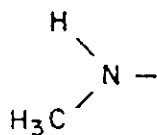
- Valencia R. 1981. Mutagenesis screening of pesticides-*Drosophila*. Rep. No. EPA-600/1-81-017. U.S. EPA, Research Triangle Park. North Carolina.
- Velemínský J. y Gichner T. 1988. Mutagenic activity of promutagens in plants: indirect evidence of their activation. *Mutat. Res.* 197, 221-242.
- Venkat J.A., Shami S., Davis K., Nayak M., Plimmer J.R., Pfeil R. y Nair P.P. 1995. Relative genotoxic activities of pesticides evaluated by a modified SOS microplate assay. *Environ. Mol. Mutagen.* 25, 67-76.
- Vogel R. y Friebe B. 1989. Effects of caffeine pre- and posttreatment on the frequencies of sister chromatid exchanges and exchange-aberrations induced by quinacrine mustard and UV-light in *Vicia faba* L. *Cytologia* 54, 359-363.
- Waters M.D., Simmon V.F., Mitchel A.D., Jorgenson T. A. y Valencia R. 1980. An overview of short term test for the mutagenic and carcinogenic potential of pesticides. *J. Environ. Sci. Health* 15, 867-906.
- Wiedenmann D., Stehrer-Schmid P. y Wolf H.U. 1990. Mutagenic effects of carbosulfan and furathiocarb in the Ames test and yeast assay, 31st Spring Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie (German Society for Pharmacology and Toxicology), Naunyn-Schmiedebeugs. *Arch. Pharmacol.* 341 (suppl) R, 29.
- WHO/FAO (World Health Organization/Food and Agriculture Organization). 1984, Data sheets on pesticides, Ginebra.
- WHO (World Health Organization). 1986. Carbamate pesticides: A general introduction. *Environ. Health Criteria.* 64, Ginebra.
- Wojciechowski J.P., Kaur P. y Sabharwal P.S. 1982. Induction of ouabain resistance in V-79 cells by four carbamate pesticides. *Environ. Res.* 29, 48-53.
- Wood J.S. 1982. Mitotic chromosome loss induced by methyl benzimidazole-2-yl-carbamate as a rapid mapping method in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell Biol.* 2, 1080-1087.
- Worthing Ch.R. y Hance R.Y. 1991. *The Pesticide Manual*. A World Compendium. 9th edition. British Crop Protection Council. Unwih Brothers Ltd. old Working, Surrey, Gran Bretaña.
- Yamamoto K.I. y Yasumoto K. 1980. A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutat. Res.* 71, 127-131.

ANEXOS

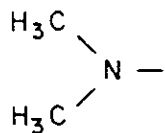
Tablas y figuras



ACIDO CARBAMICO



N - METIL

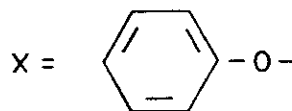


N, N - DIMETIL

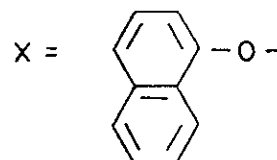
Sustituyentes

R, R' = CH₃-, CH₃CH₂-

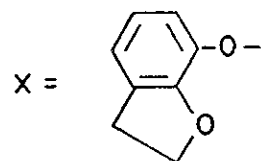
I. Alquilo.



II. Fenólicos

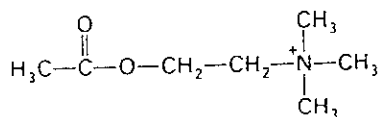


III. Naftólicos.

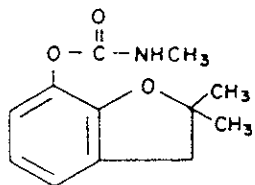


IV. Benzofuranílicos

Fig. 1 Estructura del ácido carbámico y de los principales sustituyentes en las posiciones amino y carbamoilo en los insecticidas carbámicos (Baron 1991).

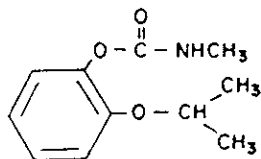


Acetilcolina



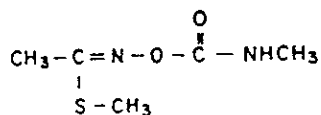
Carbofuradán
(furadán)

7-benzofuranol, 2, 3-
dihidro-2,2-dimetil-metil
carbamato



Propoxur
(unden)

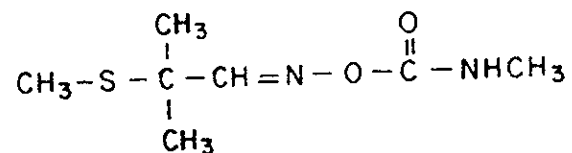
fenol, 2-(1-metil-etoxi)-
metil carbamato



Metomilo
(lannate)

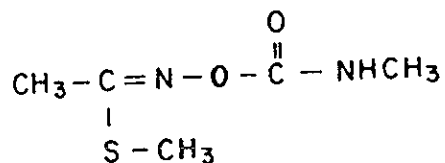
ácido etanimidotioico,
N (metil-amino)carbamoil
oxi - metil ester

Fig. 2 Estructura química de la acetilcolina y de algunos insecticidas carbámicos (Baron 1991).



Aldicarb
(Temik)

O-(N-metilcarbamoil).
oxima del 2-metil-2-
(metiltio)-propanal

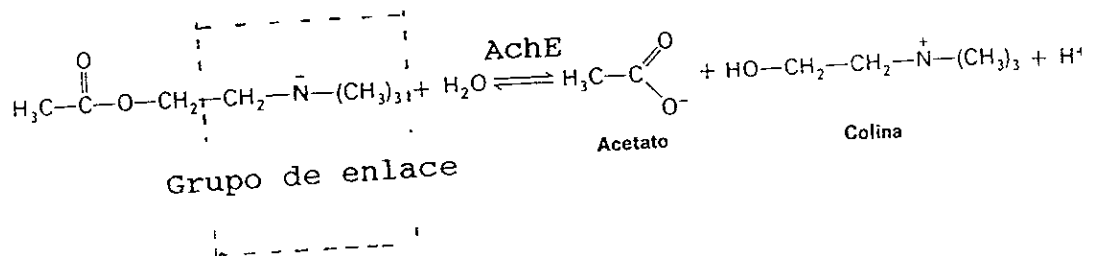


Metomilo

S-metil-N-
(metilcarbamoil)
oxi-tioacetimidato

Fig. 3 Insecticidas carbámicos derivados de las oximas alifáticas (Baron 1991).

a) Acetilcolina (Ach)



b) Acetilcolinesterasa (AChE)

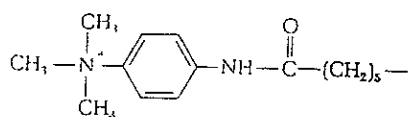
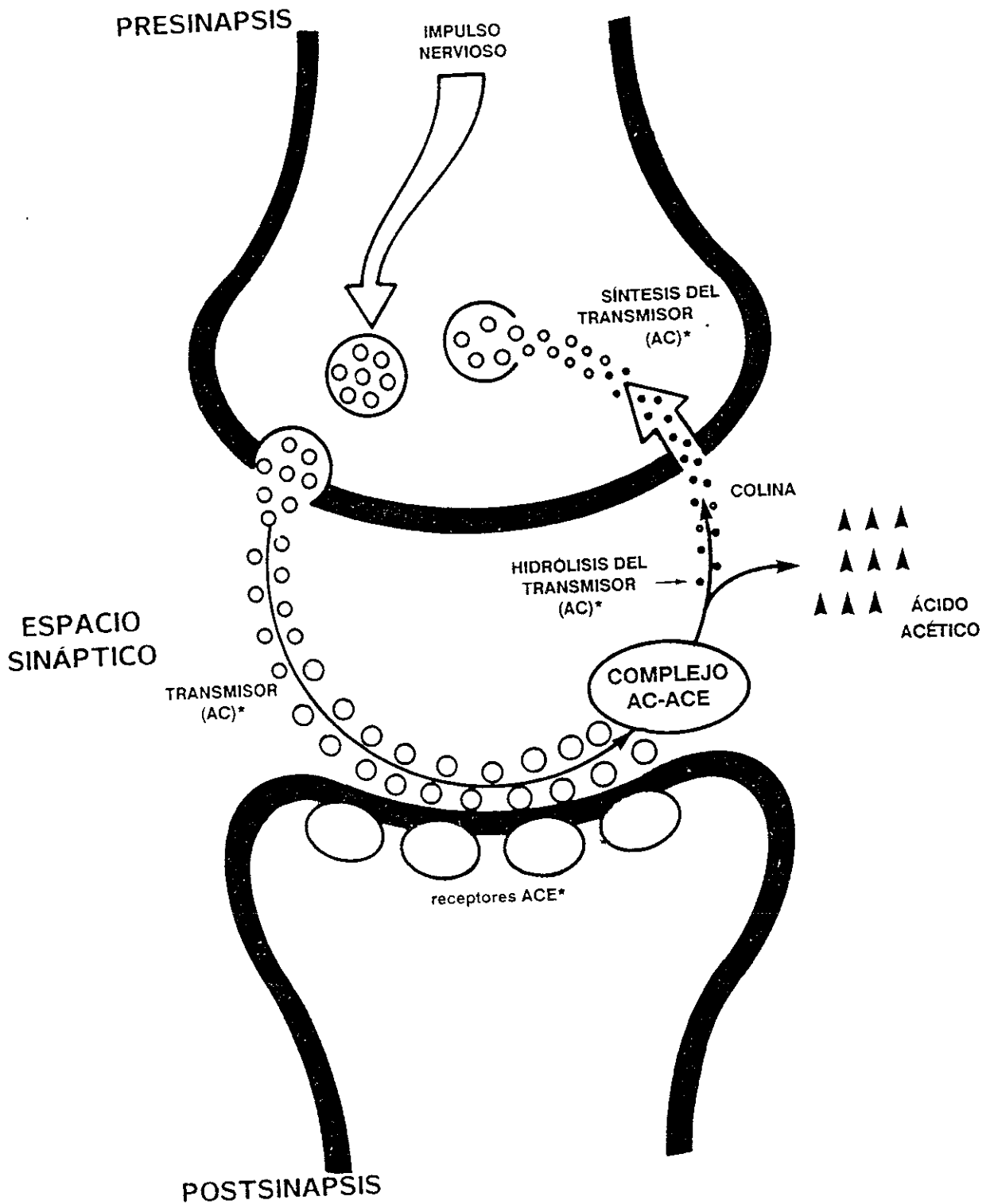


Fig. 4 a) Hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina por la enzima, b) enzima acetilcolinesterasa (AChE) (Aldridge y Reine 1972).



* AC = acetilcolina
 ** ACE = acetilcolinesterasa

Fig. 5 La acetilcolina neurotransmisor en terminales de fibras pre y post ganglionares parasimpáticas, unión con músculo esquelético y algunas sinápsis del sistema nervioso central (Corey 1991).

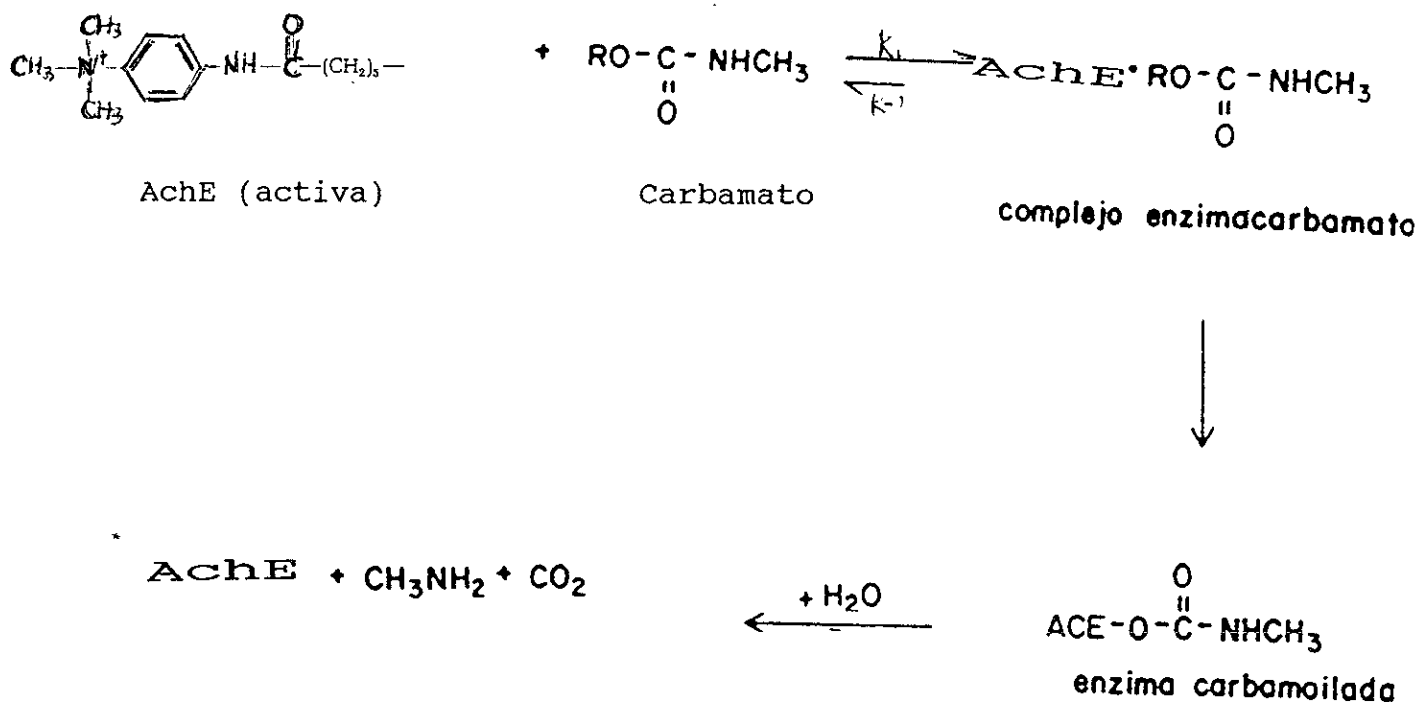


Fig. 6 Mecanismo de inhibición de AchE, por ésteres de carbamato (Reiner y Aldridge 1967, Aldridge y Reiner 1972).

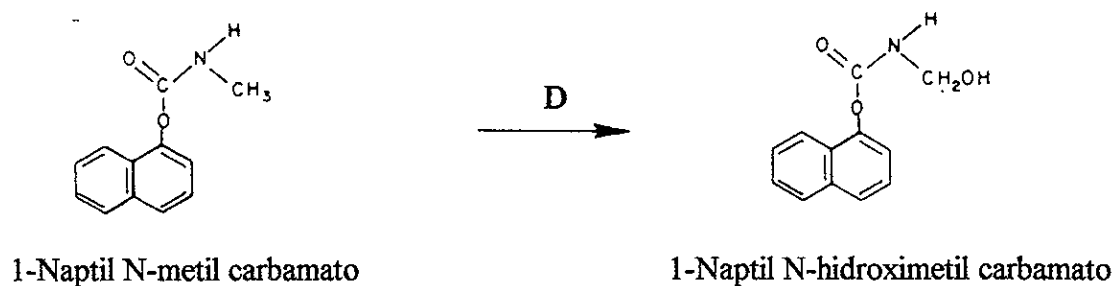
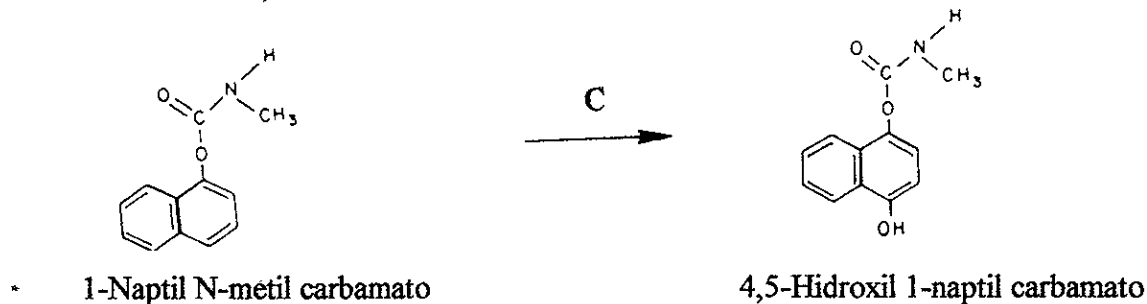
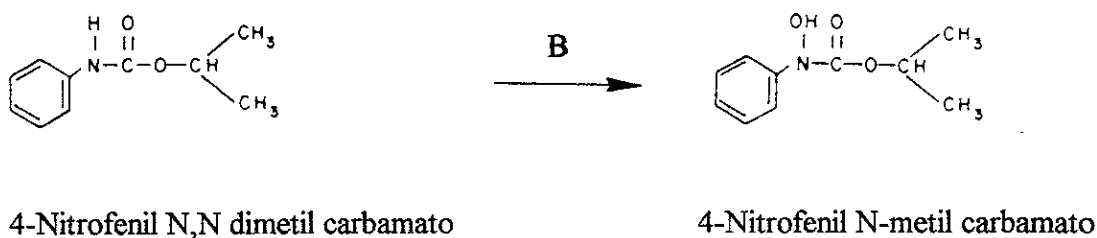
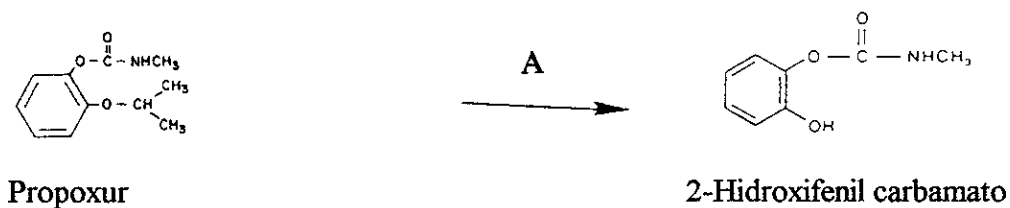


Fig. 7 Principales reacciones catalizadas por enzimas microsomales. A. O-desalquilación (1), B. Oxidación dependiente de citocromo P-450 (2), C. Hidroxilación del anillo (3) y D. Hidroxilación de la cadena (4).

- 1) Kapoor *et al.* 1970
- 2) Hodgson y Casida 1961, Strother 1972
- 3) Dorough y Casida 1964, Dorough 1970, Hutson 1981
- 4) Dorough y Casida 1964, Hutson 1981

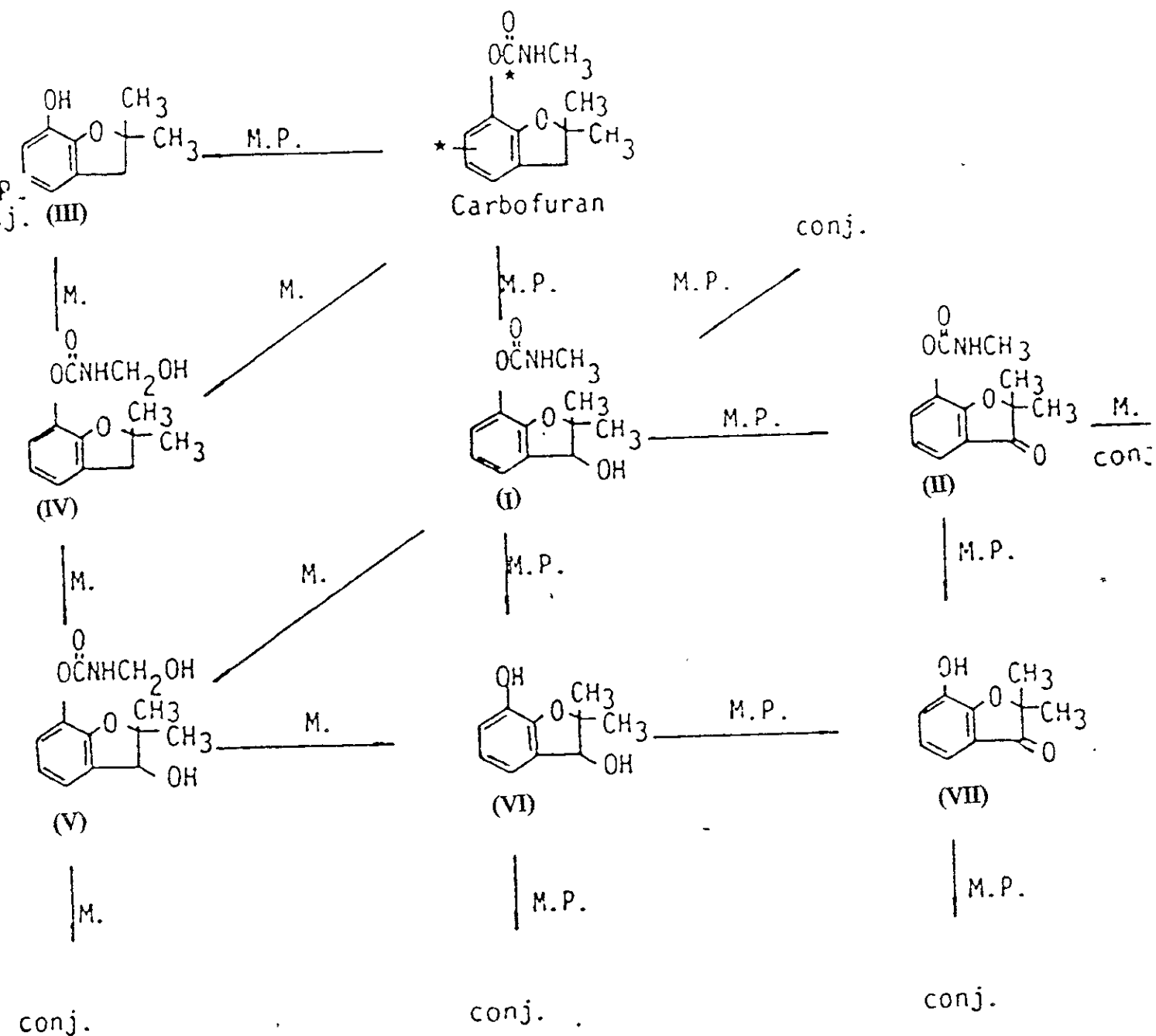


Fig. 8 Metabolismo del Carbofurán. Es muy similar en rata, ratón y vaca (M) y en vegetales como alfalfa, haba y tabaco (P). La principal reacción es una hidroxilación que ocurre en el carbono 3 de la estructura dihidrobenzofurán dando el derivado (I) 2,2 dimetil-3 hidroxi 7 benzofuranil metil carbamato, que se oxida a (II) 2 dimetil, 3 oxo, 7 benzofuranil metil carbamato. También hay hidrólisis del enlace ester a (III) 2,2 dimetil benzofurán 7 lo que por reacciones de oxidación y adición forma (IV) del metabolito 2,2 dimetil 7 benzofuranil metanol carbamato. El (V) 2,2 dimetil 3 hidro 7 benzofuranil metanol carbamato se forma por hidroxilación de (IV) e hidroxilación y desmetilación de (I). También se forman por reducción (VI) 2,2 dimetil benzofuran 3, 7 diol y (VII) 7 hidroxi-2,2 dimetil benzofurán-3. Todos los metabolitos sufren reacciones de conjugación (Metcalf *et al.* 1966).

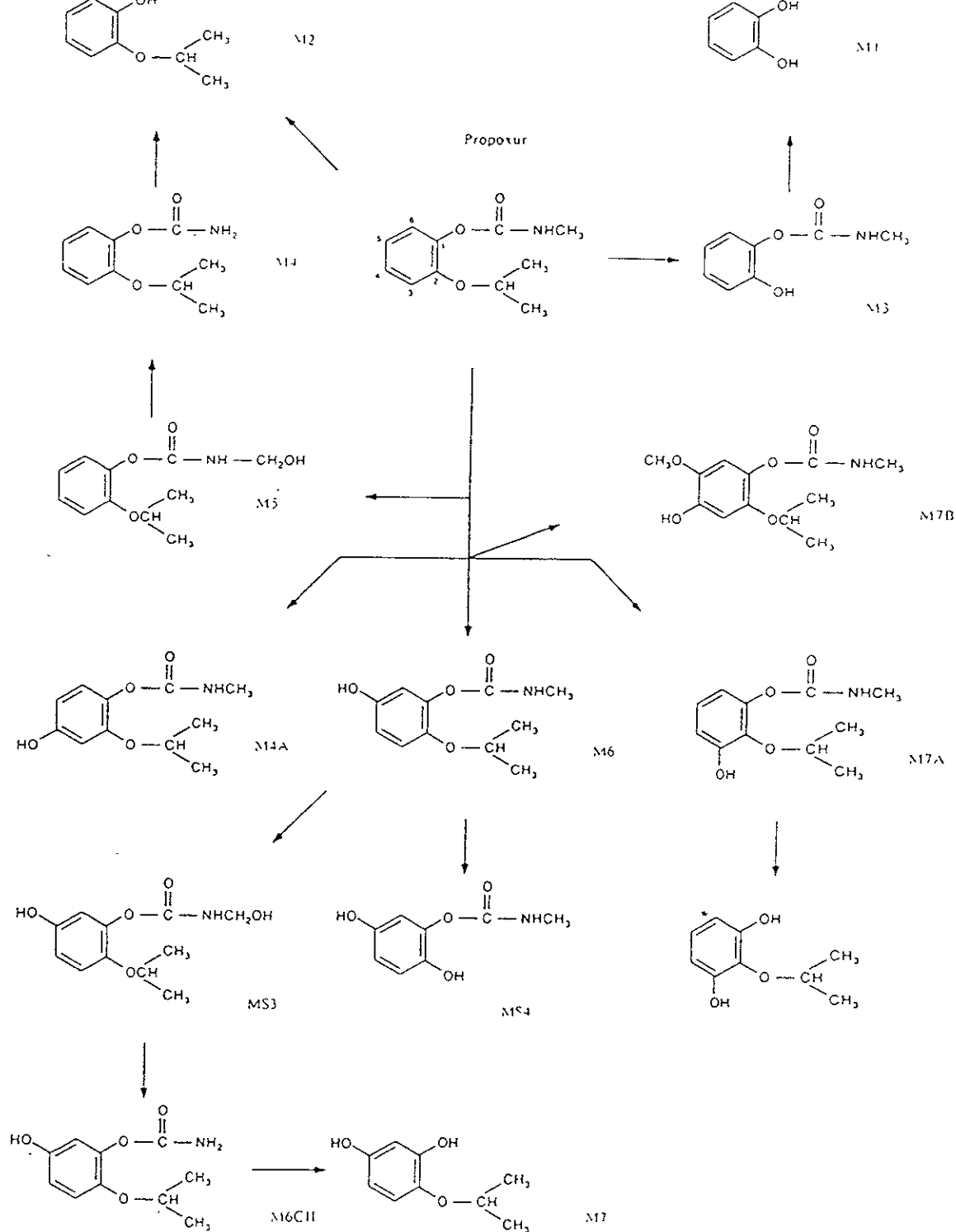


Fig. 9 Metabolismo del Propoxur en ratas, las principales reacciones de degradación son la despropilación para formar M3 (2 hidrodifenil metil carbamato), que por desmetilación e hidrólisis da M1 (O-hidroxifenol). Hidrólisis del enlace ester M2 (O-Isopropil eter fenol), hidroxilación del anillo en las posiciones 5, M6 (2 Isopropil eter-5 hidroxifenil carbamato), 4 M4A (2, Isopropil eter metoxi carbamato) y 3, M7A (2 Isopropil eter-3 hidroxifenil metil carbamato). También se forman por hidroxilación el M5 ((2 Isopropil eter fenil metoxicarbamato), MS3 (2 Isopropil eter-5 hidroxifenil metoxi carbamato), MS4 (2,5-dihidroxi fenilmetil carbamato), M6CH (2 Isopropil eter-5 hidroxifenil carbamato), M7 (2 Isopropil eter 4 hidroxi fenol) y 2 Isopropil eter 3-hidroxi fenol (Eben *et al.* 1984 citado pro FAO/WHO 1989).

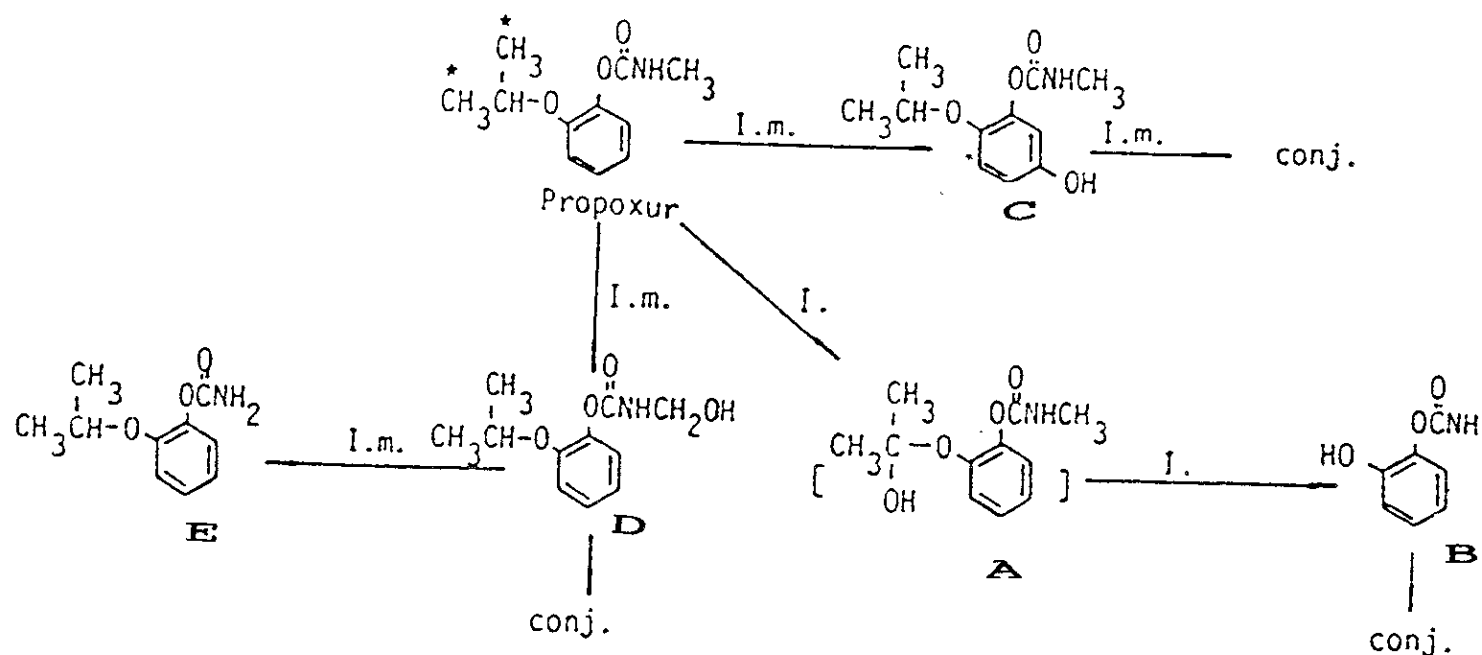


Fig. 10 Metabolismo del Propoxur (2 Isopropil eter benzofuramil metil carbamato) en insectos (I) y el sistema microsómico-NADP de *Culex pipiens fatigans* (m), es oxidado a la forma hemiacetal, A, (2 Isopropil hemiacetal benzofuramil metil carbamato), por hidrólisis del enlace éster se produce B (2-Isopropoxi fenol metil carbamato), la posición 5 del anillo es selectivamente metabolizado en insectos. Por hidroxilación se forma C (2 isopropil eter 5 hidroxi benzofuranil metil carbamato), D (2 Isopropil eter benzofuranil metanol carbamato) y por deshidroxilación E (2 Isopropil eter benzofuranil carbamato) (Baron 1991).

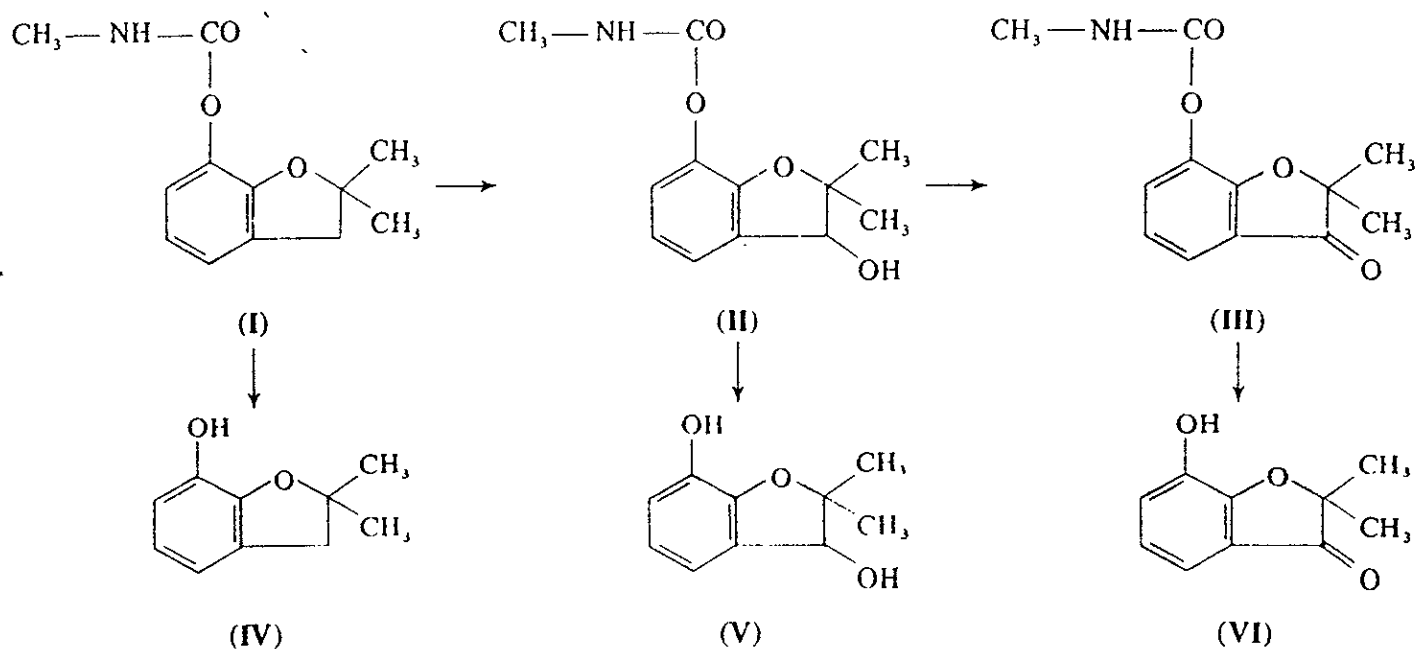
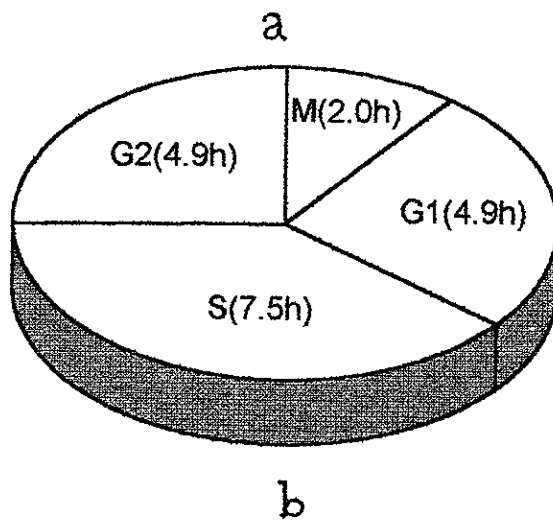
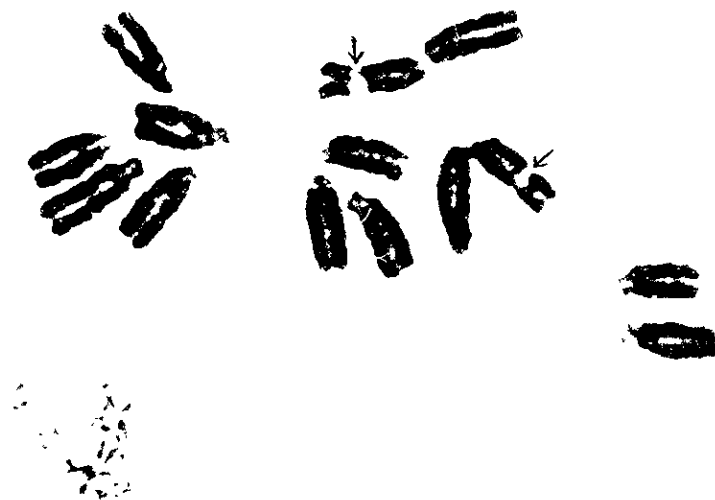
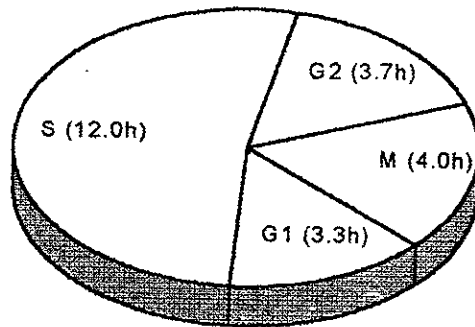


Fig. 11 Productos de oxidación hidrólisis del Carbofurán. En las reacciones de oxidación participan las enzimas oxidasas de función mixta y en las de hidroxilación las esterasas: El Carbofurán (I) es hidroxilado a 2, 3 dihidro-3-hidroxi 2, 2-dimetil-7 benzofuranil-metilcarbamato (II) que por oxidación forma 2, 3-dihidro-2, 2-dimetil-3-oxo-7 benzofuranil metilcarbamato (III). Por hidrólisis se forman el 2,2-dimetilbenzofurán 7-ol (IV), 2,2-dimetilbenzofurán-3-7-diol (V) y 7-hidroxi-2,2, dimetilbenzofurán-3 (VI) (Tannock y Wessels 1981).



M = Mitosis
 G₁ = Periodo presintético
 S = Periodo sintético
 G₂ = Periodo postsintético

Fig. 12 a) Complemento cromosómico de *Vicia faba* ($2n = 12$), conteniendo un par de cromosomas metacéntricos con una constricción primaria en la región del organizador nucleolar indicado por las flechas y cinco pares de cromosomas submetacéntricos, b) ciclo celular de *Vicia faba* a 19°C (Evans y Scott 1964).



M = Mitosis
 G₁ = Periodo presintético
 S = Periodo sintético
 G₂ = Periodo postsintético

Fig. 13 a) Complemento cromosómico de *Allium cepa* ($2n = 16$), conteniendo cinco pares de Cromosomas metacéntricos, dos pares submetacéntricos y un par acrocéntrico con Satélites situados en el extremo del brazo corto indicado por la flecha. b) ciclo Celular de *Allium cepa* a 21°C (Matagne 1968 en Khilman 1984).

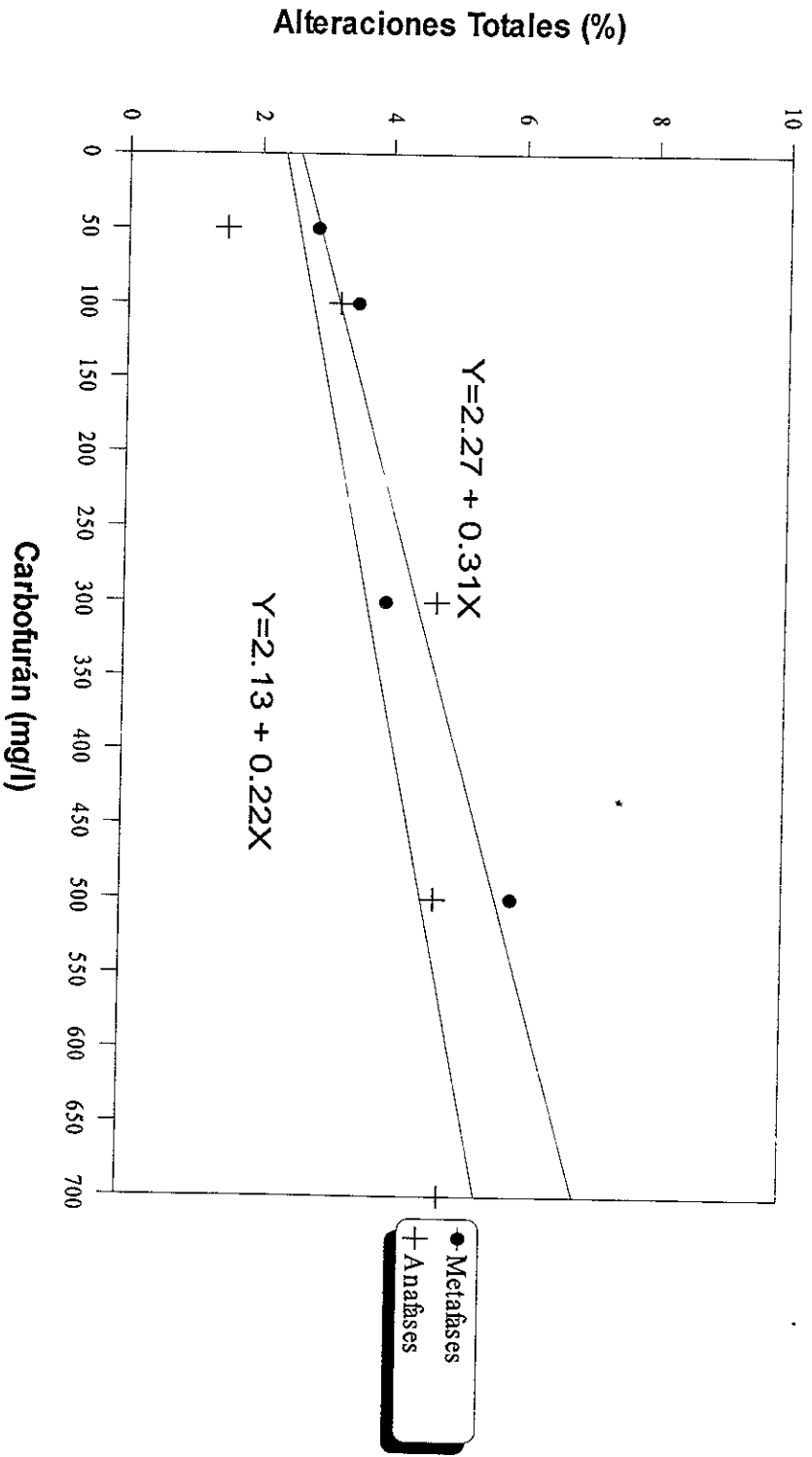


Figura 14. Alteraciones en anáfase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Carbofurán y con 18 h de recuperación.

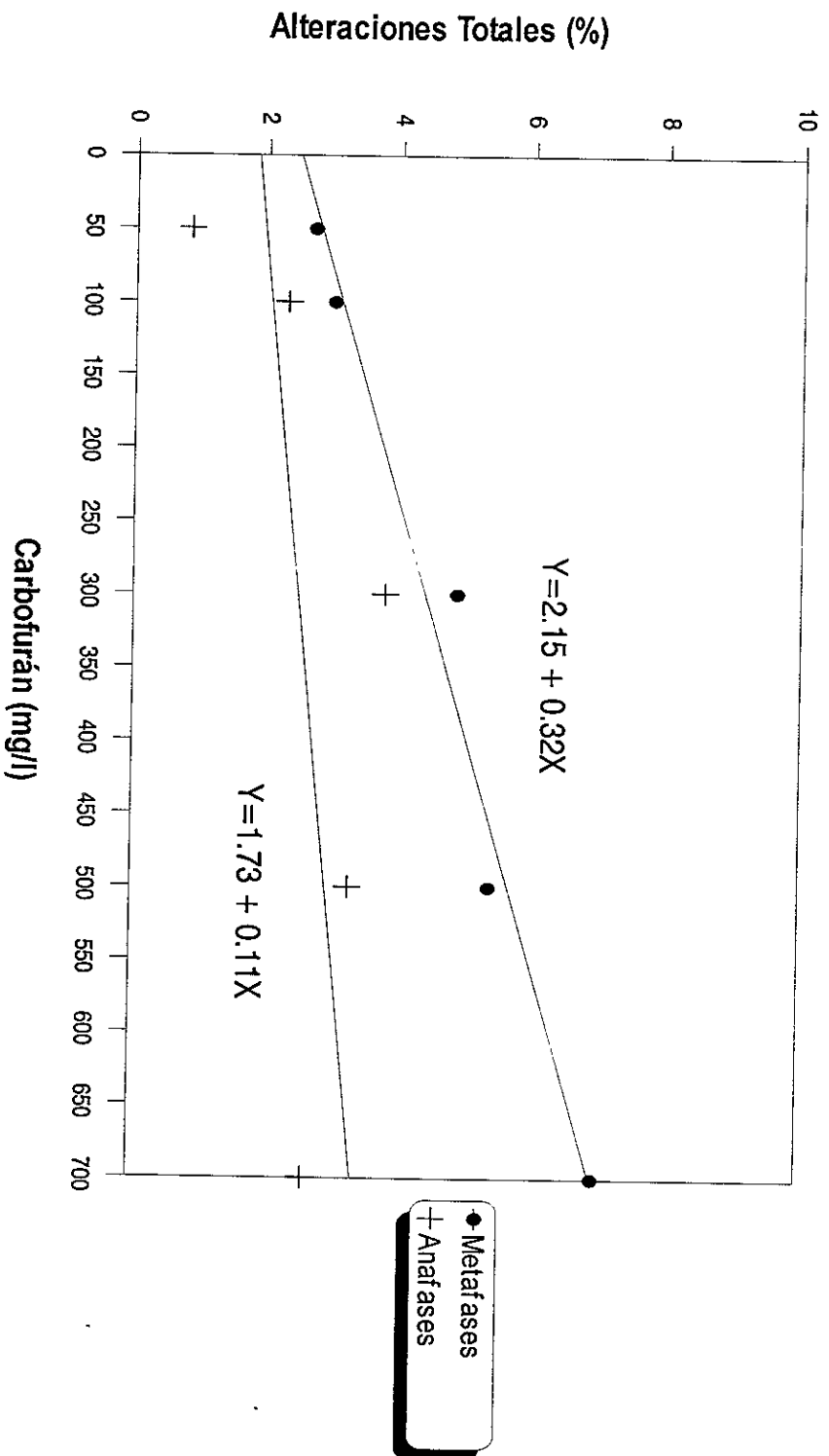


Figura 15. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Carbofuran y con 44 h de recuperación.

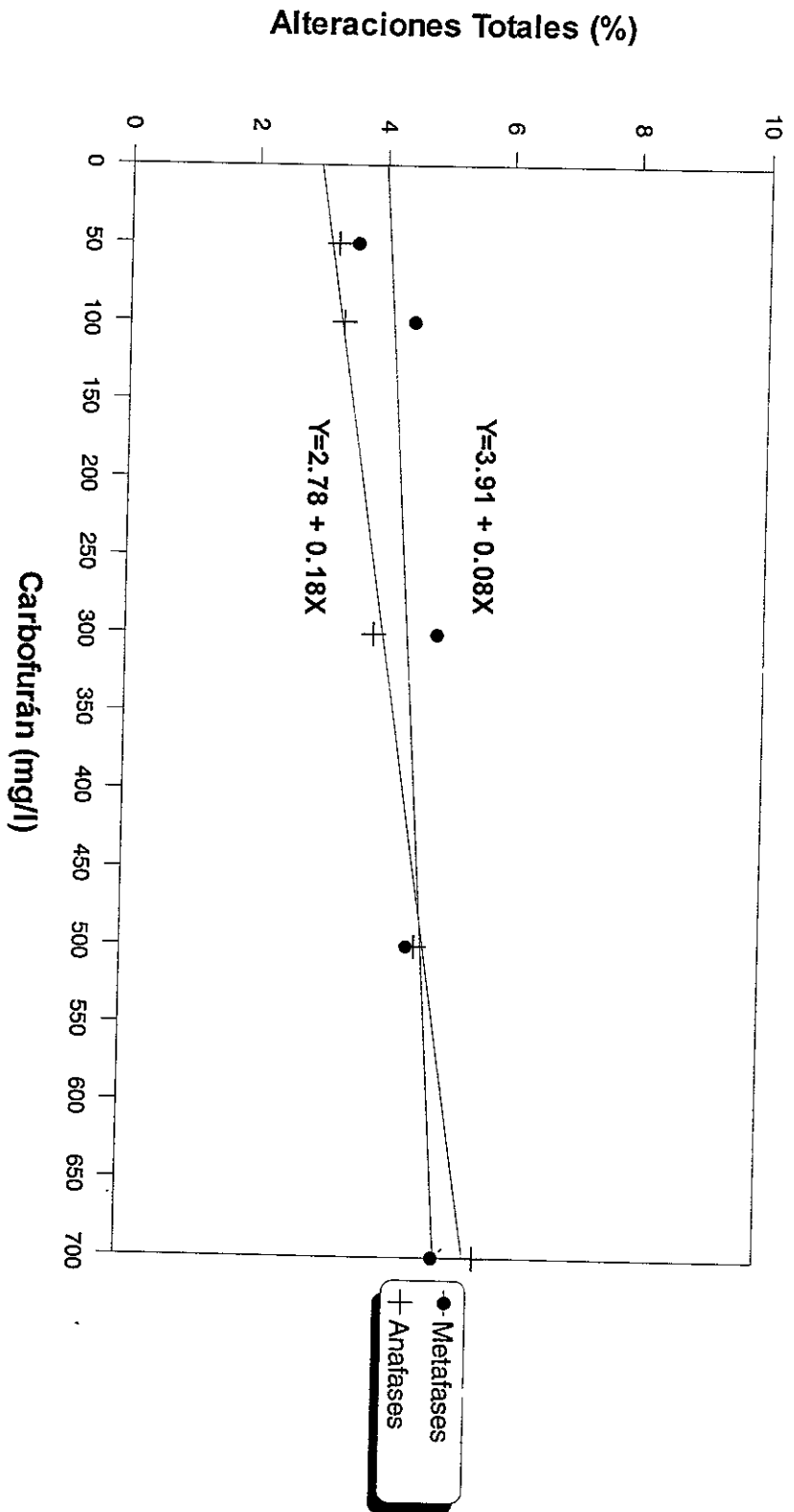


Figura 16. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Allium cepa* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Carbofurán y con 18 h de recuperación

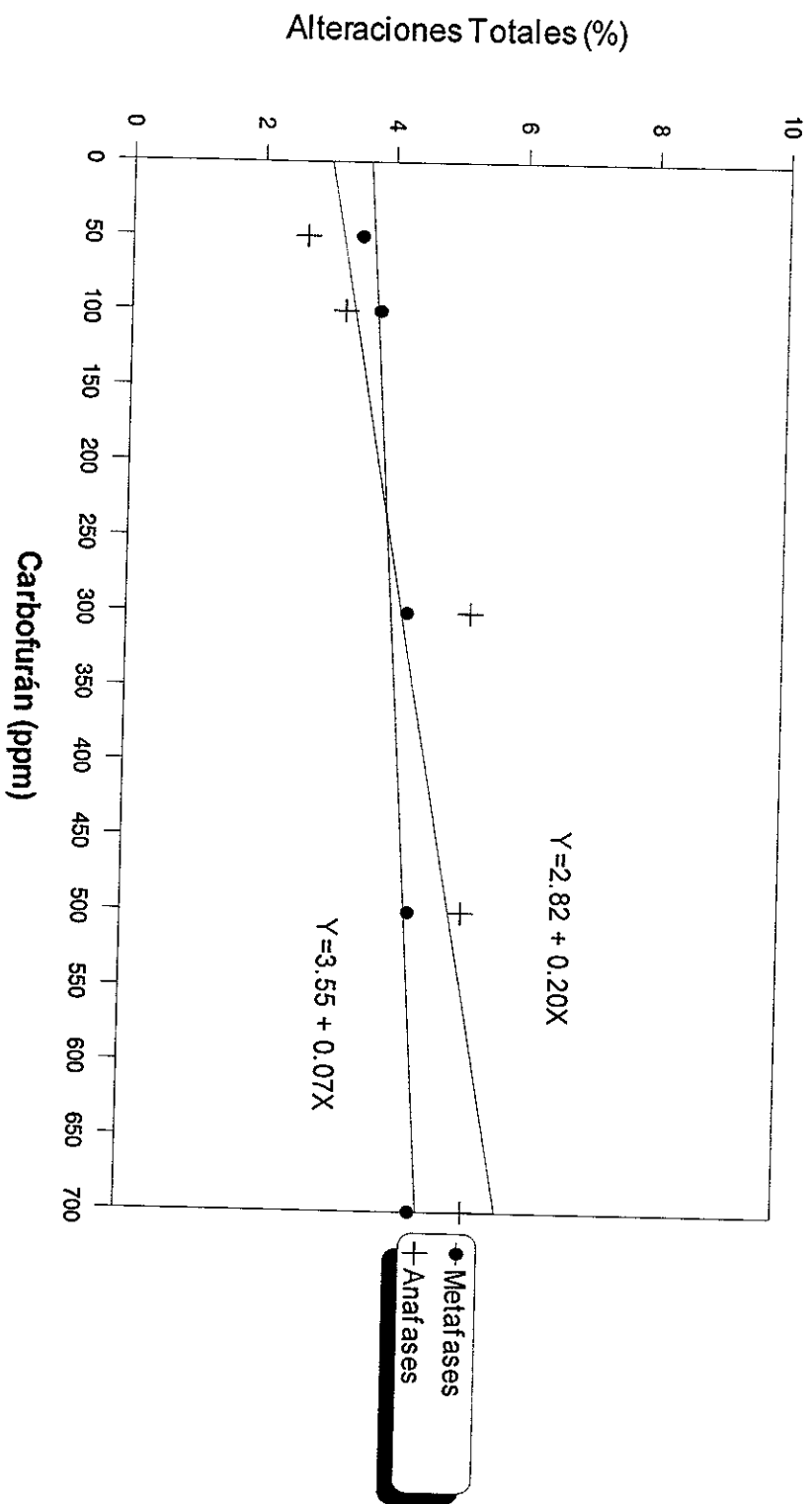


Figura 17. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Allium cepa* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Carbofurán y con 44 h de recuperación

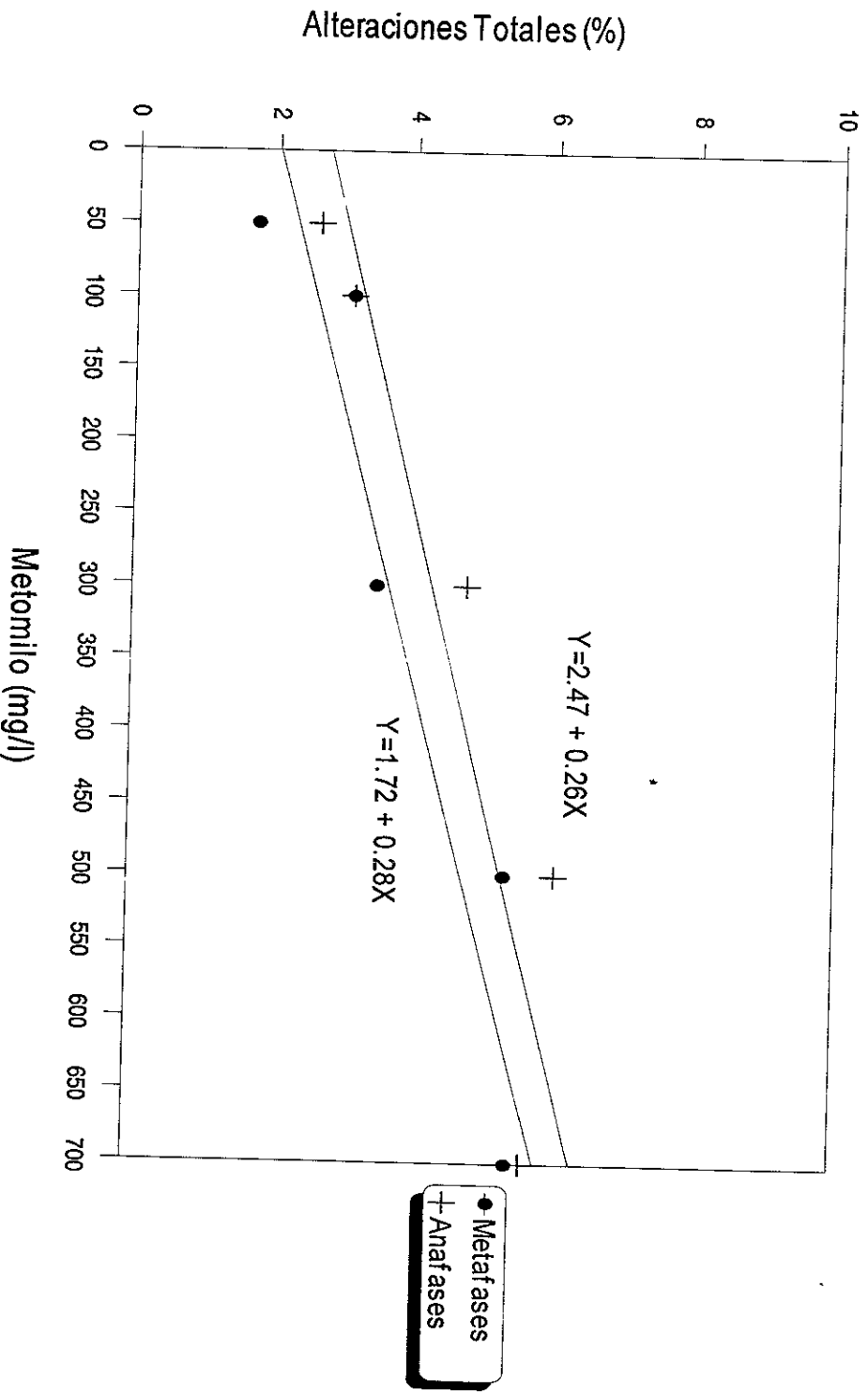


Figura 18. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Metomilo y con 18 h de recuperación

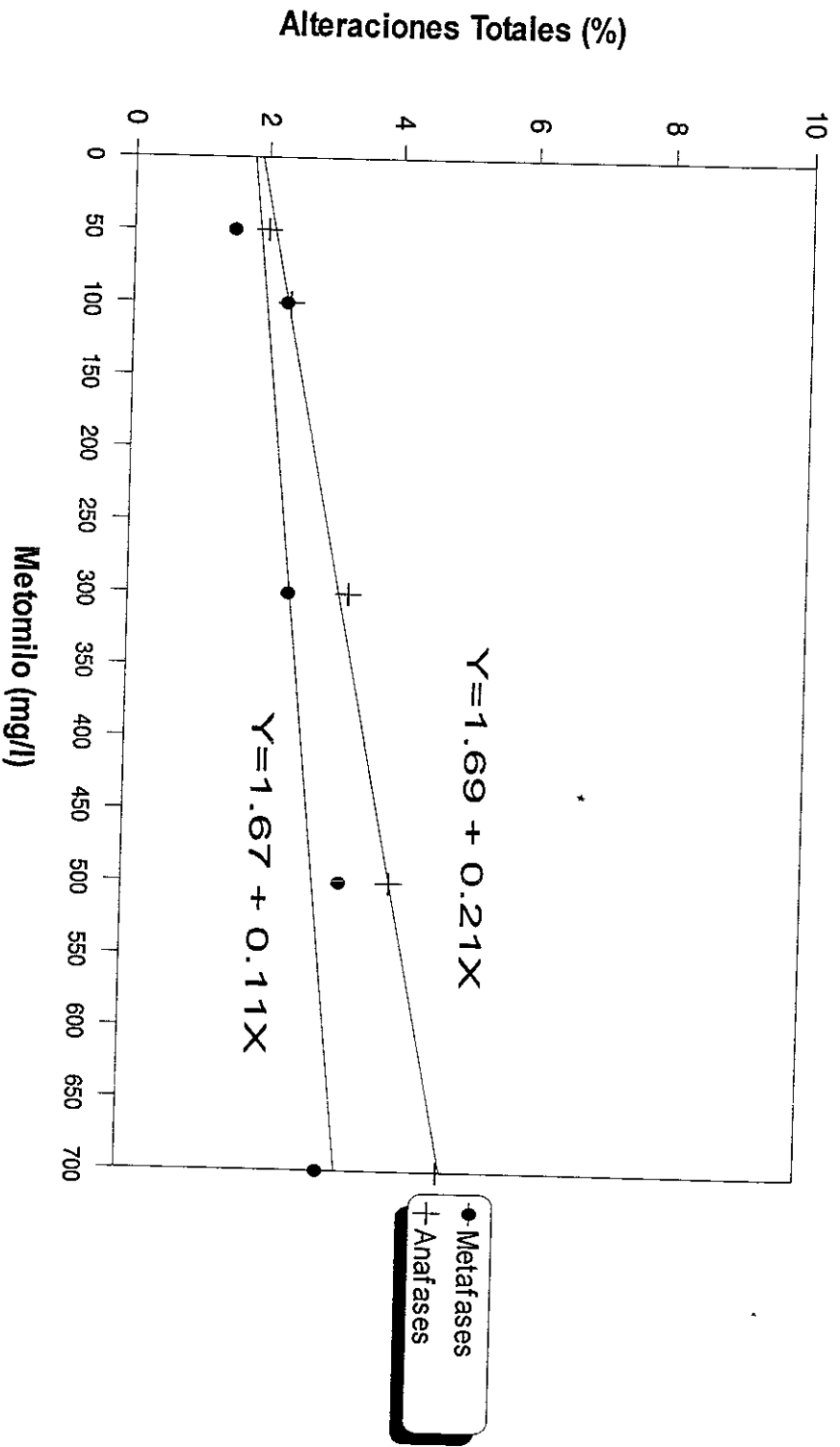


Figura 19. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Metomilo y con 44 h de recuperación

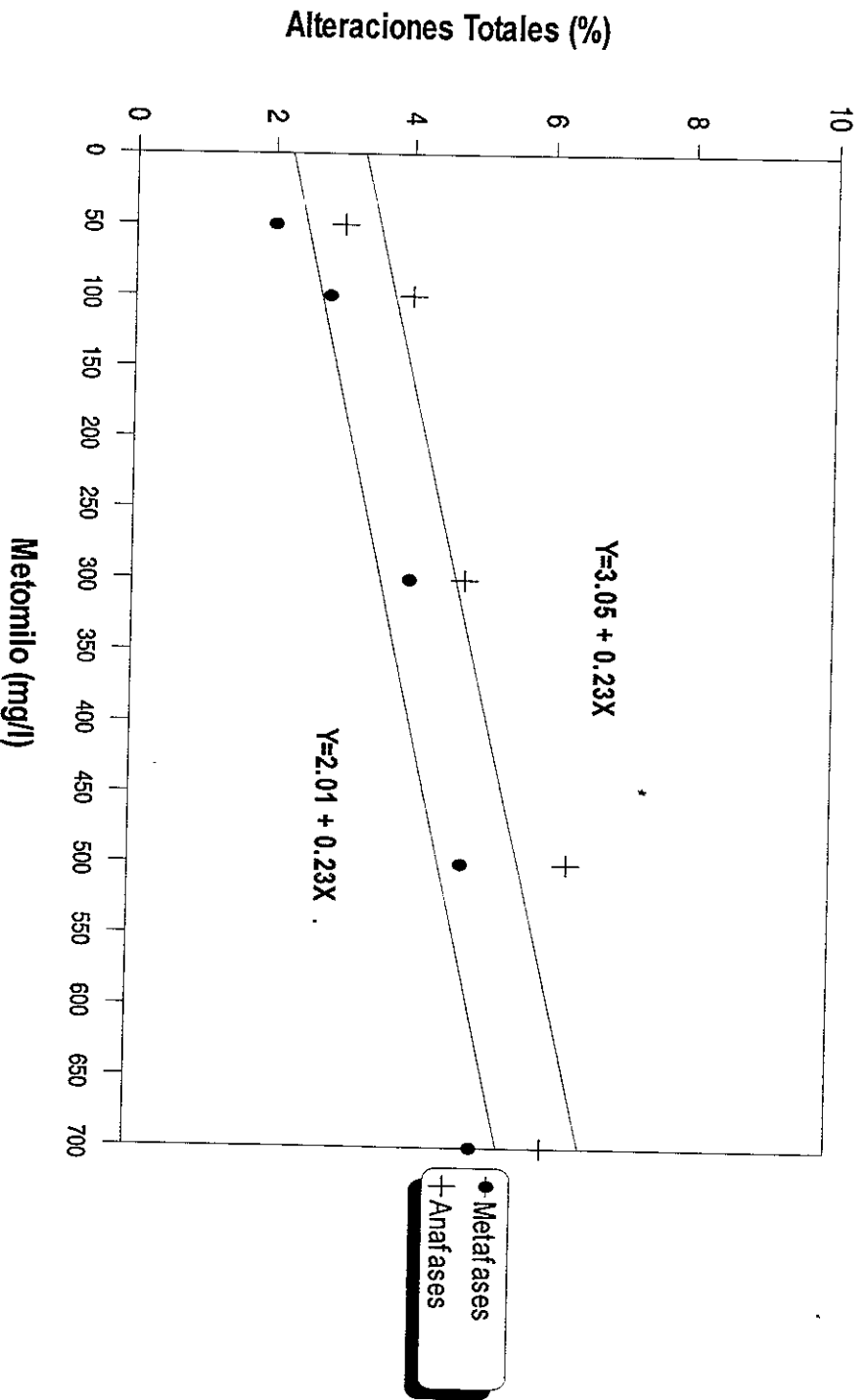


Figura 20. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Allium cepa* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Metomilo y con 18 h de recuperación

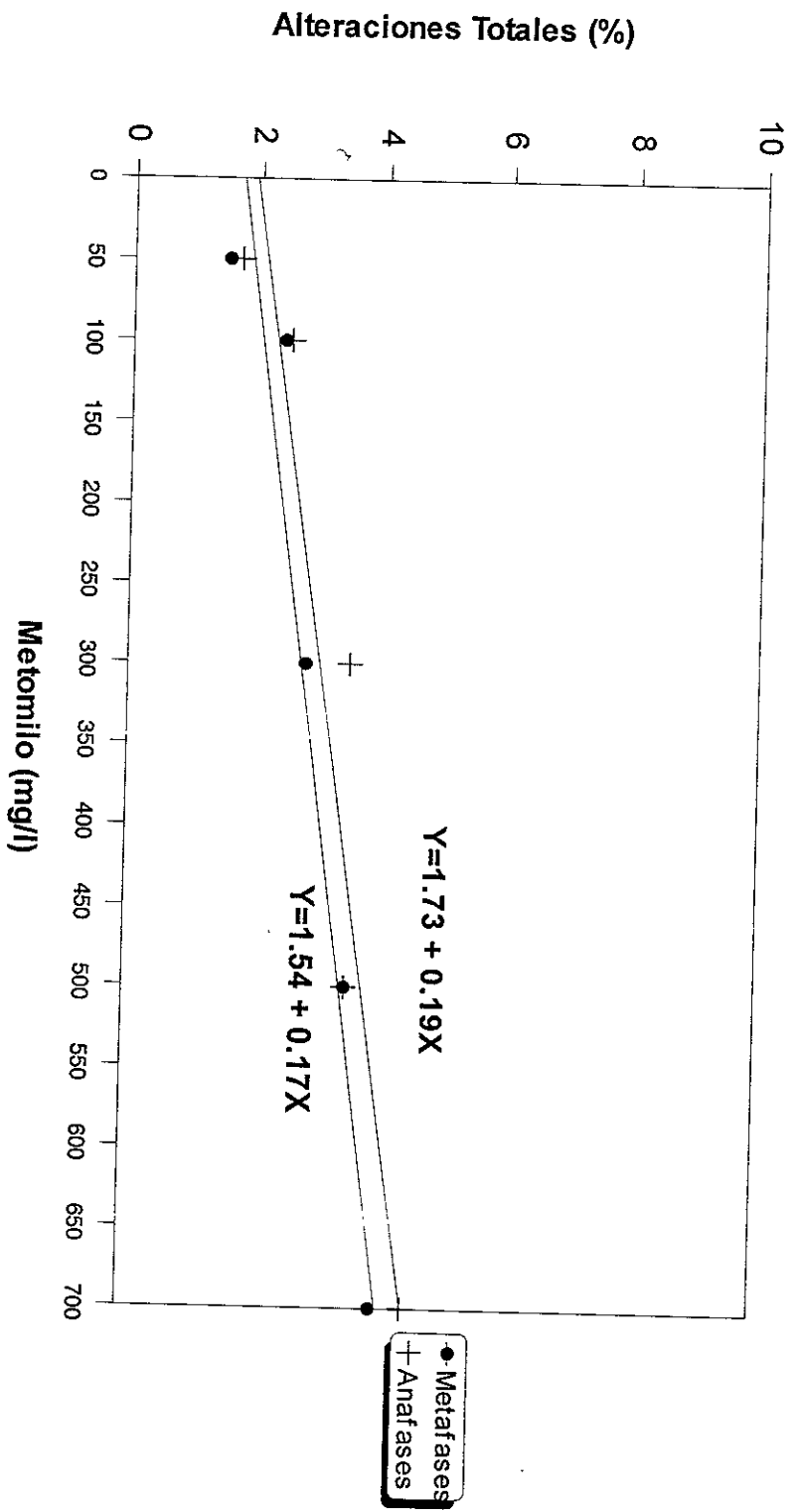


Figura 21. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Allium* cepa tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Metomilo y con 44 h de recuperación

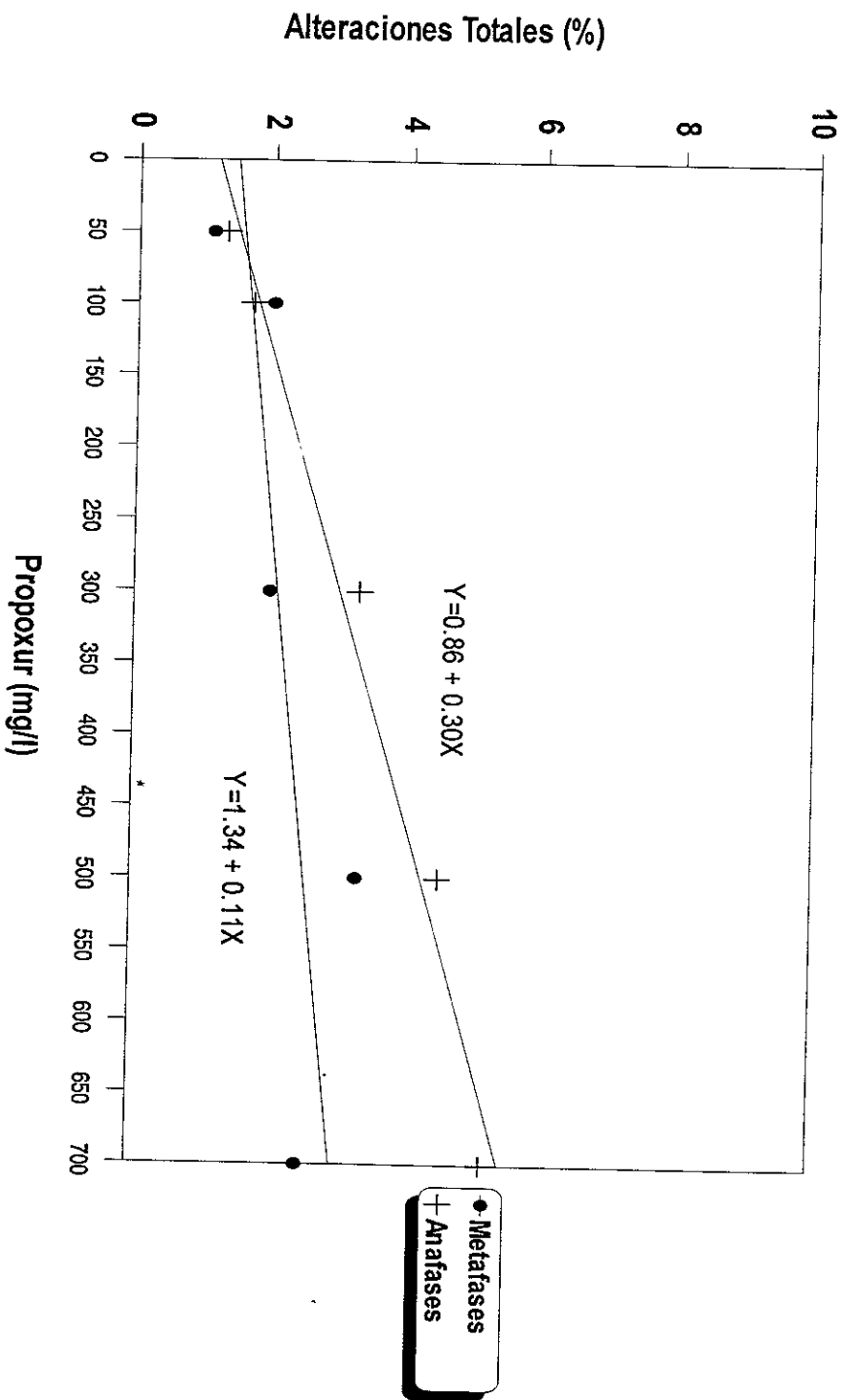


Figura 22. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Propoxur y con 18 h de recuperación

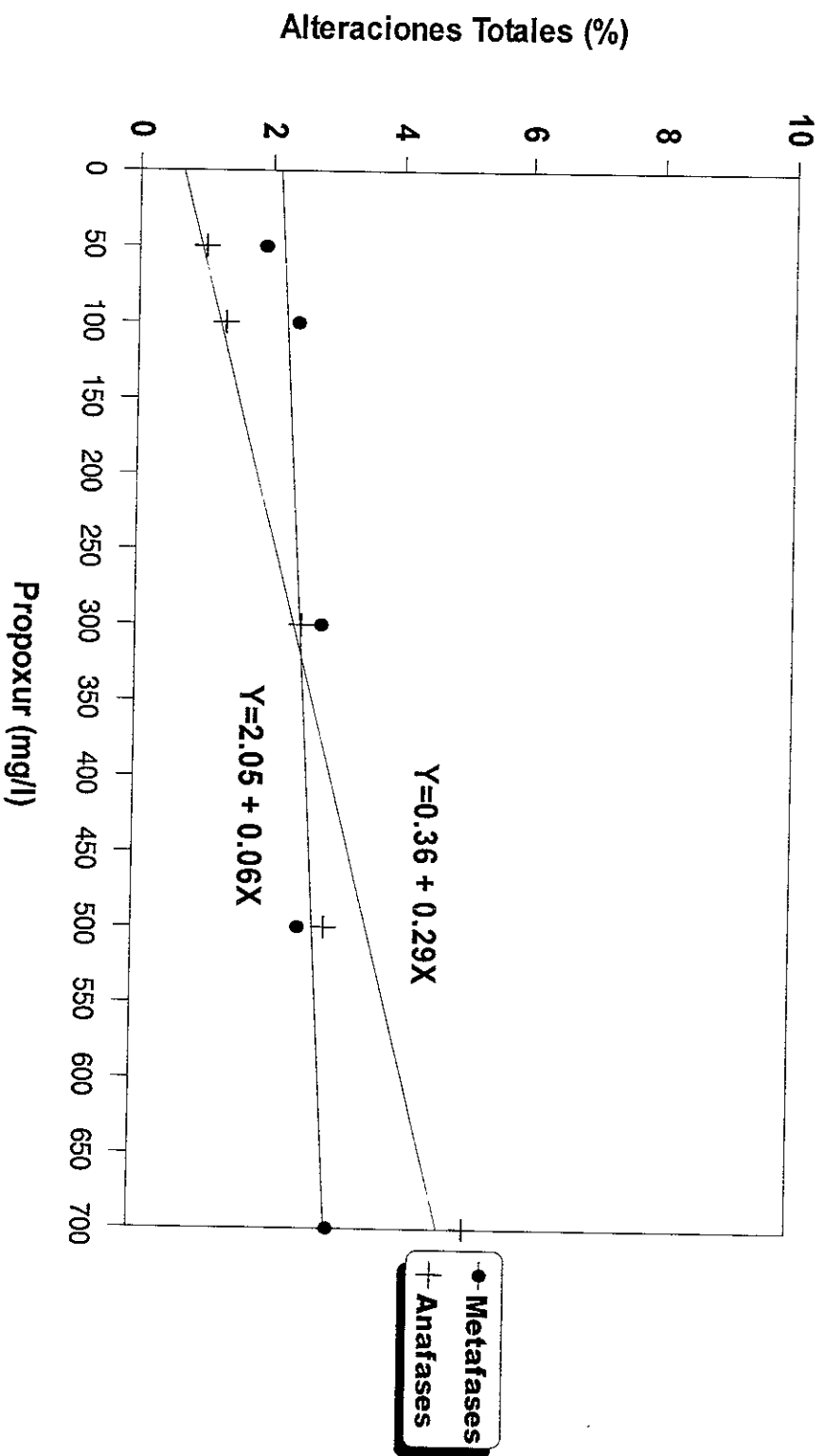


Figura 23. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Vicia faba* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Propoxur y con 44 h de recuperación

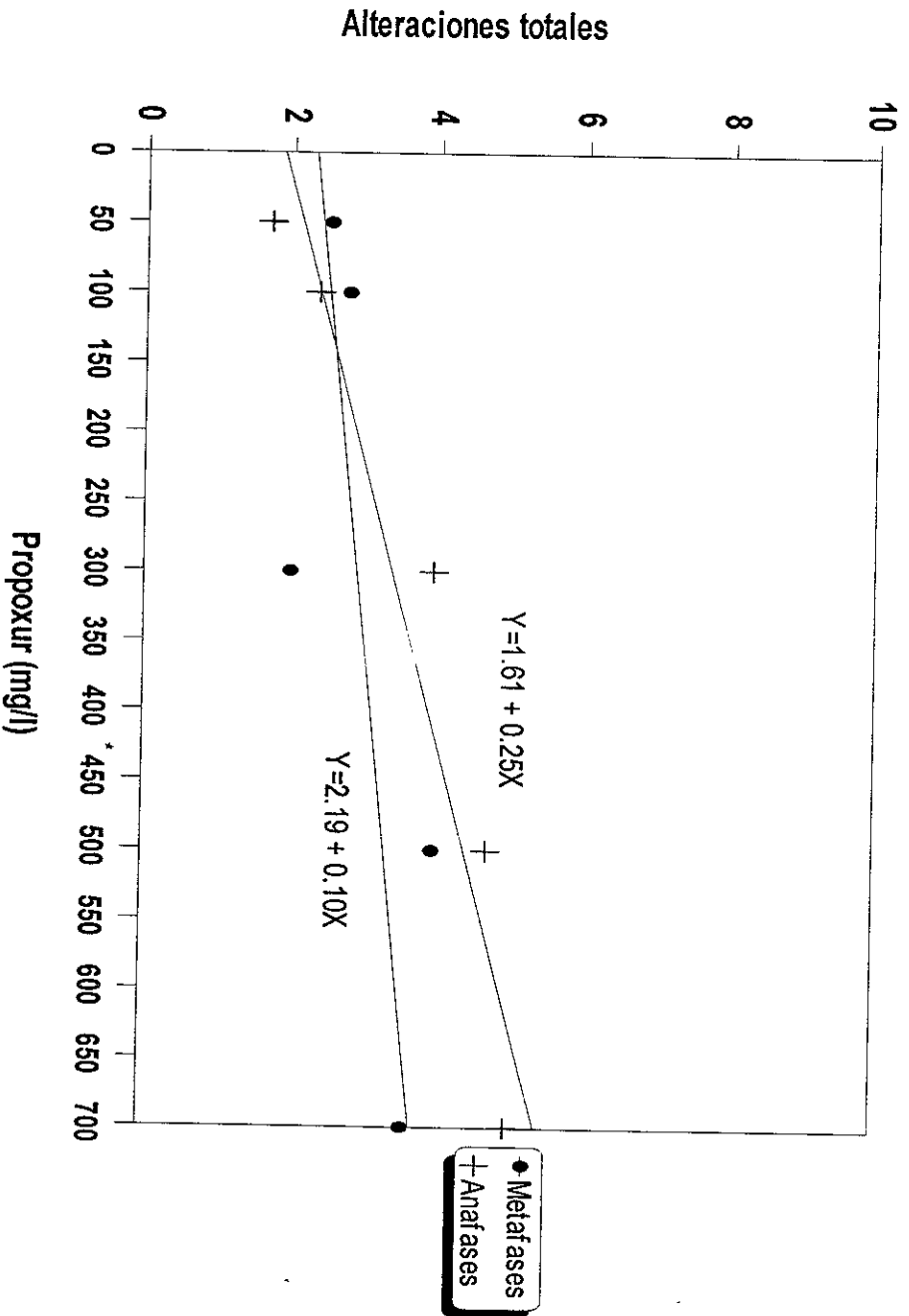


Figura 24. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase en células meristemáticas de raíces de *Allium cepa* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Propoxur y con 18 h de recuperación

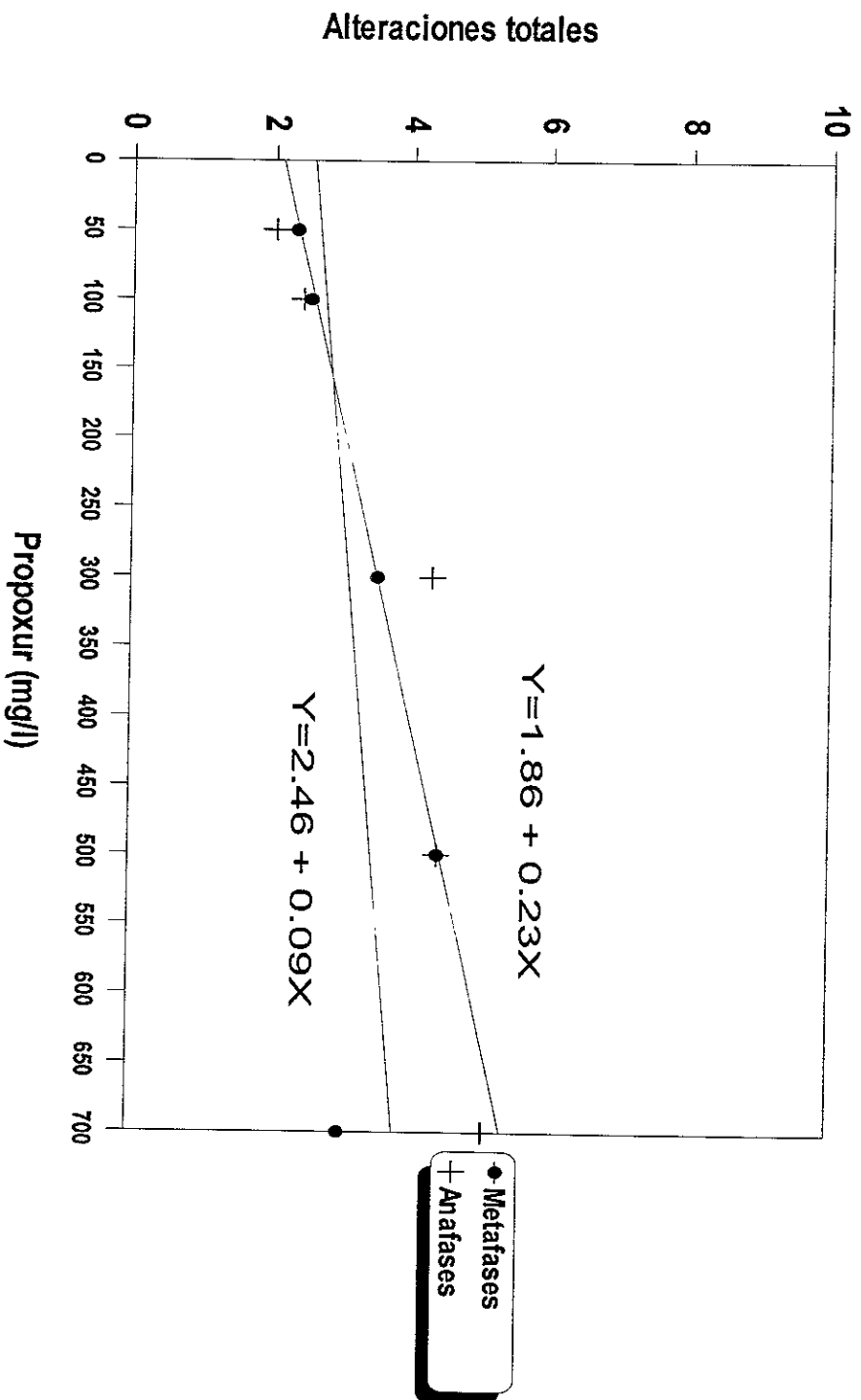
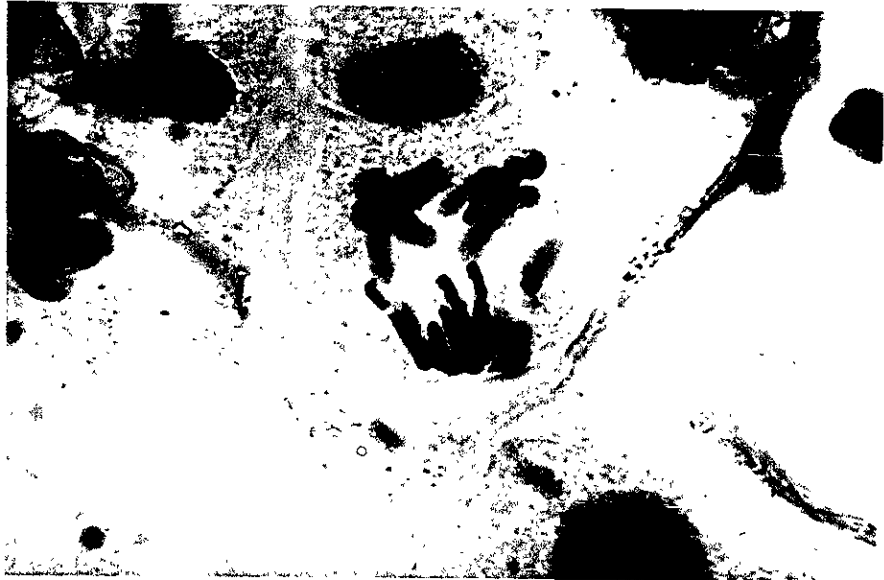
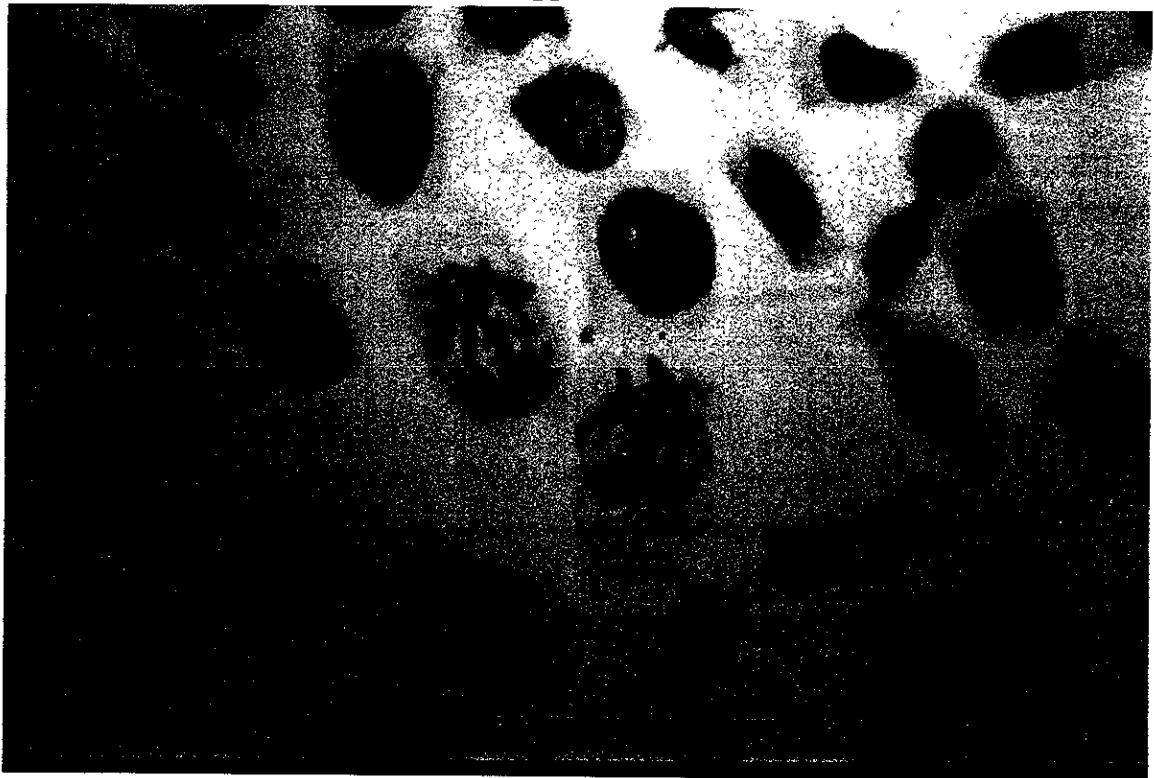


Figura 25. Alteraciones en anafase y aberraciones en metafase de células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con diferentes concentraciones de Propoxur y con 44 h de recuperación



a



b

Fig. 26 Anafase tripolar, a) células de *Vicia faba*, b) células de *Allium cepa*.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de algunos insecticidas Carbámicos. Ingredientes activos y sus nombres comerciales.

Nombre del producto ^a	Fórmula molecular	Peso molecular	Presión de vapor (25°C)	Solubilidad en agua
Carbofuradán Furadán Yaltox Curater 1563-66-2	$C_{12}H_{15}NO_3$	221.28	2.7mPa a 33°C	0.07 %
Metomilo Lannate Methomyl Metox Nasamil Nudrin Metavin 16752-77-5 ^a	$C_5H_{10}N_2O_2S$	165.2	6.65 mPa a 25°C	5.8%
Propoxur Unden Baygón Blattanex Johnson Raid Proxurvel Roach Finish Sendran Tendex Aprocarb 114-26-1 ^a	$C_{11}H_{15}NO_3$	209.27	1.3 Pa a 120°C	0.2%

^a C-A-S-No = No. de registro

Tabla 2. Metabolitos de Propoxur marcados con ^{14}C , colectados en la orina de ratas.

Metabolitos	% de ^{14}C
M1	7.0 - 15.5
M2	17.2 - 25.2
M3	22.2 - 30.2
M4	0.6 - 2.5
M5	14.0 - 16.3
M6	4.5 - 7.9
MS ₃	0.3 - 1.2
M7	14.0 - 16.3
M7A	5.9 - 8.3
M8	1.7 - 4.1

(Karl 1986, Karl y Schneider 1987)

Tabla 3. Toxicidad oral y dérmica en ratas de algunos insecticidas carbámicos.

Carbamato	LD ₅₀ (mg/kg peso)		Tipo de plag. (CICOPLAFEST)	Categ.tox/WHO
	oral	dérmica		
Carbofurán	6-14 (rata) 15-19 (perros)	3400 (conejos)	Insecticida-nematicida de contacto, ingestión y sistémico	IB (altamente tóxico)
Metomilo	17-24 (rata)	>5000 (conejos)	Insecticida de contacto Uso: Agrícola y pecuario	IB
Propoxur	80-91 (rata) 100-109 (ratón) 40 (cuyo)	1000-2400 (rata)	Insecticida de contacto e ingestión Uso: Pecuario, doméstico, urbano e industrial	II (moderadamente tóxico)

Fuente: Organización Mundial de la Salud, WHO (1986).

Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, CICOPLAFEST (1992).

Tabla 4. Uso agrícola de los plaguicidas Carbofurán y Metomilo.

Plaguicidas	Hortalizas						Básicos						Forrajes		Industriales			Frutales	
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	1	2	3	1	
Carbofurán	x	x	x				x		x	x	x		x		x	x	x		x
Metomilo	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					x

Hortalizas	Básicos	Forrajes	Industriales	Frutales
1. Calabacita	1. Arroz	1. Alfalfa	1. Caña de azúcar	1. Mango
2. Chile	2. Frijol	2. Pastos	2. Café	
3. Melón	3. Maíz		3. Cacao	
4. Papa	4. Sorgo			
5. Pepino	5. Soya			
6. Sandía	6. Trigo			

Fuente Dirección General de Sanidad Vegetal.

TABLA 5. Genotoxicidad de Metomilo (Lannate) en Procariotes

Organismo	Efecto genético	Pureza del compuesto	Activación metabólica		Ref.
			con	sin	
<i>S. typhimurium</i> TA 100,1535 1537,1538	Mutación reversa	99	-	-	1
<i>S. typhimurium</i> TA 98,100,1585 ,157,1538	Mutación reversa	95	-	-	2
<i>S. typhimurium</i> TA98,100,1535 1537, 1538	Mutación reversa	no especificado	-	-	3
<i>E. coli</i> WP2	Mutación reversa	99	-	-	1
<i>E. coli</i> WP2	Mutación reversa	no especificado	-	-	3
<i>E. coli</i> WP2	Toxicidad diferencial	99	-	-	1
<i>B. subtilis</i>	Toxicidad diferencial	99	-	-	1

1) Simmon *et al.*, 1976, 1977

2) Blevins *et al.*, 1977

3) Moriya *et al.*, 1983

- = Resultados negativos.

Tabla 6. Genotoxicidad de Metomilo en Eucariotes

Organismo	Efecto genético	Pureza del compuesto	Activación metabólica		Ref.
			Con	Sin	
<i>S. cerevisiae</i>	mutación reversa	metomilo (no especificado)	+	-	1
<i>S. cerevisiae</i>	Entrecruzamiento mitótico	metomilo 99%	-	-	2
CHO V79	Resistencia-ouabaina	metomilo (no especificado)	-	-	3
<i>D. melanogaster</i> <i>In vivo</i>	Letales recesivos Ligados al sexo	lannate 20 (metomilo)	-		4
<i>D. melanogaster</i> (larva) <i>in vivo</i>	Recesivos letales ligados al sexo	lannate 20	-		5
<i>D. melanogaster</i> <i>In vivo</i>	recesivos letales ligados al sexo	lannate 20	-		6
Linfocito humanos <i>in vitro</i>	Intercambio de cromáticas hermanas (ICH)	metomilo no especificado	+		7
Linfocitos humanos <i>in vitro</i>	ICH aberraciones cromosómicas micronúcleos	metomilo 99%	- + +		8
linfocitos humanos <i>in vitro</i>	ICH Aberraciones cromosómicas micronúcleos	lannate 25	- + +		8
células germinales de ratón <i>in vivo</i>	Aberraciones cromosómicas	lannate 20	+		5
médula osea de ratón <i>in vivo</i>	Micronúcleos	metomilo 99% lannate 20	+ +		9
<i>Vicia faba</i>	Aberraciones cromosómicas	lannate 20	+		10
<i>Vicia faba</i>	Aberraciones cromosómicas	lannate 90		+	11

- 1) Guerzoni *et al.*, 1976
 - 2) Simmon *et al.*, 1976, 1977
 - 3) Wojciechowski *et al.*, 1982
 - 4) Valencia 1981, Sandhu *et al.*, 1985
 - 5) Hemavathy y Krishamurthy 1987
 - 6) Gopalan y Njagi 1981
 - 7) Debuyst y Van Larebeke 1983
 - 8) Bonatti *et al.*, 1994
 - 9) bolognesi *et al.*, 1994
 - 10) Njagi y Gopalan 1981
 - 11) Valencia-Quintana *et al.*, 1993
- + = resultados positivos
- = resultados negativos

Tabla 7. Genotoxicidad de Propoxur (Baygón) en Procariotes.

Organismo	Efectos genéticos	Pureza del compuesto %	Activación metabólica		Ref.
			con	sin	
<i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	95	-	-	1
<i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	98	-	-	2
<i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	96	-	-	3
<i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	97	-	-	4
<i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	99	-	-	5
<i>Escherichia coli</i>	mutación reversa	no especificado	-	-	6
<i>Escherichia coli</i> <i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	98	-	-	7 7
<i>Escherichia coli</i> <i>S. typhimurium</i> *	mutación reversa	98	-	-	8 8
<i>Escherichia coli</i> *	pol - Al	98	-	-	9
<i>Bacillus subtilis</i> **	ensayo Rec + ensayo Rec -	98 98	- -	- -	10

1) Blevins *et al.*, 1977

2) Inukai e Iyatomi 1978

3) De Lorenzo *et al.*, 1978

4) Jaszezuk *et al.*, 1979

5) Herbold 1982

6) Shirasu *et al.*, 1976

7) Shirasu *et al.*, 1979

8) Ohta y Moriya 1983

9) Herbold 1983

10) Ohta y Moriya 1983

+ = resultados positivos

- = resultados negativos

* El testigo positivo dio + en el sistema

Tabla 8. Genotoxicidad de Propoxur (Baygon) en Eucariotes.

Organismo indicador	Efecto genético	Pureza %	Activación metabólica		
			con	sin	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	conversión génica	99.8		-	-
Fibroblastos humanos	rompimiento de tira simple	95		-	-
Ratones machos y hembras*	Micronúcleos	?		-	-
Ratones machos*	letales dominantes	?		+	+
Ratones machos	letales dominantes	99.2		-	-
Ratones machos* y hembras	Micronúcleos	99.2		-	-
<i>S. cerevisiae</i> *	ensayo de reversión	99.8	-	-	-
Linfocitos humanos*	ICH	99.6	-	-	-
Células CHO*	ICH	99.6	-	-	-
Espermatogonias de criceto chino	citogenético	99.6	-	-	-
Criceto chino médula osea*	citogenético	99.6	-	-	-
Hamster chino* médula osea	citogenético	99.6	-	-	-
Células CHO*	aberraciones cromosómicas	97.8	-	-	-
Células CHO*	HGPRT	99.6	-	-	-
Linfocitos humanos	ICH y micronúcleos	?		+	+
Linfocitos humanos	ICH	98		-	-
Linfocitos humanos <i>Vicia faba</i>	ICH	98	+	-	-
	ICH	98			+

CHO = Células de ovario de Criceto chino.

ICH = Intercambio de cromáticas hermanas

HGPRT = Hipoxantina fosforil transferasa

+ = resultado positivo

- = resultado negativo

* = El control positivo dio resultados + en el sistema

1) Siebert y Eiserbrand 1974

2) Blevins 1977

3) Seiler 1977

4) Tyrkiel 1977

5) Herbold 1980a

6) Herbold 1980b

7) Herbold 1985e

8) Herbold 1985d

9) Herbold 1985c

10) Herbold 1986

11) Herbold 1988

12) Putman y Morris 1988

13) Lehn 1988

14) González - Cid *et al.*, 1990

15) González - Quirasco 1991

16) Gómez - Arroyo, *et al.*, 1995

Tabla 9. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Carbofuran en su presentación comercial Furadán 350L a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b)

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l.	A					B				
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos%	Interc. Cromatid. %	Cel.Total	Alterac. Totales %	Puent. Senc.%	Fragm.%	Centr. Inact.%	Isocrom %
18 h.	50	2.85	2.85	0	0	448	1.48	0.91	0.5	0.45	0
	100	3.48	2.48	1	0	376	3.21	1.43	0.5	0.52	0
	300	3.96	2.96	1	0	367	4.73	1.96	0.7	0.65	0.62
Desv.Est.	500	5.9	2.9	2	1	376	4.74	1.98	1.5	0.95	0.75
	700	Rompimiento múltiple, pocas mitosis									
Media		4.05	2.80	1	0.25	363.4	3.81	1.64	1.42	0.69	0.43
Desv.Est.		1.316	0.216	0.816	0.500	71.322	1.468	0.464	1.442	0.215	0.397
44 h.	50	2.7	2.7	0	0	588	0.83	1.43	0.45	0.56	0
	100	3	2	1	0	780	2.31	1.55	0.47	0.5	0
	300	4	3	1	0	445	2.65	1.7	0.5	0.7	0.62
	500	5.4	3.4	0	2	321	3.8	1.48	1	1.1	0.78
Desv.Est.	700	7	5	0	2	390	3.29	1.5	1	0.93	0.5
	Media	4.42	3.22	0.4	0.8	504.8	2.58	1.53	0.68	0.76	0.38
Desv.Est.	1.787	1.119	0.548	1.095	182.479	1.133	0.103	0.289	0.253	0.361	

* En 200 metafases 20/meristemo.

En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

Tabla 10. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial Furadán 350L a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b)

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l.	A					B				
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos% Cromatid.	Interc. %	Cel. Total	Alterac. Totales%	Puent. Senc.%	Fragm. %	Centr. Inact.%	Isocrom. %
18 h.	50	3.55	3.55	0	0	650	3.25	0.7	1.55	0.5	0.5
	100	4.46	3.96	0	0.5	573	3.35	0.85	1.5	0.5	0.5
	300	4.9	3.9	0	1	609	3.9	1.3	1.7	0.9	0
	500	4.5	3.5	0.5	0.5	750	4.63	1.84	1.8	1.1	1.1
	700	5	3.00	0.5	1.5	578	5.65	1.95	1.8	0.9	1
Media		4.482	3.582	0.5	0.7	632	4.156	1.328	1.67	0.78	0.62
Desv.Est.		0.573	0.384	0.274	0.570	72.756	0.999	0.564	0.140	0.268	0.444
44 h.	50	3.5	3.5	0	0	620	2.6	0.5	1.4	0.7	0
	100	3.8	3.8	0	0	600	3.26	0.76	1.8	0.7	0
	300	4.3	3.3	0.5	0.5	578	5.26	0.96	1.5	0.8	2
	500	4.4	3.4	0	1	528	5.2	1.1	1.7	0.9	1.5
	700	4.5	3	0	1.5	506	5.3	1.3	1.5	1	1.5
Media		4.1	3.4	0.5	0.6	566.4	4.324	0.924	1.58	0.82	1
Desv.Est.		0.430	0.292	0.224	0.652	48.112	1.294	0.308	0.164	0.130	0.935

* En 200 metafases 20/meristemo.

En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

Tabla 11. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lamate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b)

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l.	A					B				
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos%	Interc. Cromatid. %	Cel. Total	Alterac. Totales%	Puent. Senc. %	Fragm. %	Centr. Inact. %	Isocrom. %
18 h.	50	1.7	1.7	0	0	750	2.6	0.9	1	0.7	0
	100	3.1	2.1	0.5	0.5	800	3.1	0.9	1.3	0.9	0
	300	3.5	2.5	0	1	706	4.8	1.3	1.7	1	0.8
	500	5.4	3.9	0.5	1	740	6.1	1.9	1.9	1.2	1.1
Media	700	5.5	4	0.5	1	680	5.7	1.9	2	1.1	0.7
Desv. Est.		3.84	2.84	0.5	0.7	735.2	4.46	1.38	1.58	0.98	0.52
44 h.	50	1.5	1.5	0	0	603	2	0.8	0.7	0.5	0
	100	2.3	1.8	0	0.5	598	2.35	0.9	0.85	0.6	0
	300	2.4	1.4	0.5	0.5	675	3.3	1.1	0.9	0.8	0.5
	500	3.25	2	0.5	0.75	607	4	1.5	1.1	0.9	0.5
	700	3	2.5	0	0.5	550	4.8	2	1.3	1	0.5
Media		2.49	1.84	0.5	0.45	606.6	3.29	1.26	0.97	0.76	0.3
Desv. Est.		0.682	0.439	0.274	0.274	44.635	1.155	0.493	0.233	0.207	0.274

* En 200 metafases 20/meristemo.
En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

Tabla 12. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b).

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l	A						B					
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos%	Interc. Cromatid. %	Cel. Total	Alterac. Totales%	Puent. Senc.%	Fragm. %	Centr. Inact.%	Isocrom. %		
18 h.	50	2	2	0	0	670	3	0.8	0.9	0.8	0.5		
	100	2.8	2.3	0	0.5	700	4	1.1	0.9	1.1	0.9		
	300	4	3	0.5	0.5	789	4.8	1.7	1.2	0.9	1		
	500	4.8	3.8	0	1	750	6.3	1.8	2	1.5	1		
	700	5	4	0	650	6	2	1.5	1.6	0.9			
Media		3.72	3.02	0.1	0.6	711.8	4.82	1.48	1.3	1.18	0.86		
Desv.Est.		1.293	0.884	0.224	0.418	57.282	1.375	0.507	0.464	0.356	0.207		
44 h.	50	1.5	1.5	0	0	700	1.7	0.7	0.5	0.5	0		
	100	2.4	1.9	0	0.5	750	2.5	0.7	0.8	0.5	0.5		
	300	2.8	2.3	0	0.5	800	3.5	1.6	0.7	0.5	0.7		
	500	3.5	3	0.5	0	740	3.5	1.5	1	1	0		
	700	4	2.5	0.5	700	4.5	2	1	1	0.5			
Media		2.84	2.24	0.2	0.4	738	3.14	1.3	0.8	0.7	0.34		
Desv.Est.		0.971	0.573	0.274	0.418	41.473	1.071	0.579	0.212	0.274	0.321		

* En 200 metafases 20/meristemo.
En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

*

Tabla 13. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Unden 50 a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b).

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l.	A					B				
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos%	Interc. Cromatid. %	Cel.Total	Alterac. Totales%	Puent. Senc. %	Fragm. %	Centr. Inact. %	Isocrom. %
18 h.	50	1.1	1.1	0	0	625	1.3	0.8	0.5	0	0
	100	2	1.5	0.5	0	600	1.7	0.9	0.8	0	0
	300	2	1.5	0	0.5	700	3.3	1.5	0.8	0.5	0.5
	500	3.3	1.8	0.5	1	625	4.5	2	1	1	0.5
	700	2.5	1.5	0	1	540	5.2	2.5	1	0.8	0.9
Media		2.18	1.48	0.2	0.5	618	3.2	1.54	0.82	0.46	0.38
Desv. Est.		0.804	0.249	0.274	0.500	57.511	1.700	0.723	0.205	0.456	0.383
44 h.	50	1.9	1.9	0	0	603	1	0.6	0.4	0	0
	100	2.4	1.4	0	1	598	1.3	0.8	0.5	0	0
	300	2.8	0.8	0.5	0.5	675	2.5	1.5	1	0	0
	500	2.5	1	0.5	1	607	2.9	2	1	0.9	0.8
	700	3	1.5	0	1.5	550	5.1	2.5	1	1	0.6
Media		2.52	1.32	0.2	0.8	606.6	2.56	1.48	0.78	0.38	0.28
Desv. Est.		0.421	0.432	0.274	0.570	44.635	1.627	0.798	0.303	0.522	0.390

* En 200 metafases 20/meristemo.

En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

Tabla 14. Alteraciones en los cromosomas de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Urden 50 a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación. Análisis en metafase (a) y en anafase (b)

Tiempo de Recup.	Conc. mg/l.	A					B				
		Aberr.* Totales%	Romp. Cromatid. %	Anillos%	Interc. Cromatid. %	Cel.Total	Alterac. Totales%	Puent. Senc. %	Fragm. %	Centr. Inact. %	Isocrom. %
18 h.	50	2.5	2.5	0	0	725	1.7	0.7	0.5	0.5	0
	100	2.76	2.76	0	0	650	2.35	1	0.85	0.5	0
	300	2	2	0	0	705	3.95	1.7	1	0.75	0.5
	500	3.96	2.76	0.5	0.7	795	4.7	2	1.5	0.7	0.5
	700	3.6	2.6	0.5	0.5	640	5	2.3	1.2	0.8	0.7
Media		2.964	2.524	0.2	0.24	703	3.54	1.54	1.01	0.65	0.34
Desv.Est.		0.804	0.313	0.274	0.336	62.710	1.453	0.673	0.375	0.141	0.321
44 h.	50	2.3	2.3	0	0	703	2	0.8	0.6	0.6	0
	100	2.5	2.5	0	0	698	2.4	0.8	0.8	0.8	0
	300	3.5	2.5	0.5	0.5	775	4.3	1.5	0.9	0.9	1
	500	4.4	2.9	0.5	1	707	5.2	1.8	1.2	1.2	1
	700	3	2.5	0	500	5.1	1.9	1.1	1.1	1	
Media		3.14	2.54	0.2	0.4	676.6	3.8	1.36	0.92	0.92	0.6
Desv.Est.		0.844	0.219	0.274	0.418	103.621	1.508	0.532	0.239	0.239	0.548

* En 200 metafases 20/meristemo.

En todos los casos fueron restadas las frecuencias de los testigos.

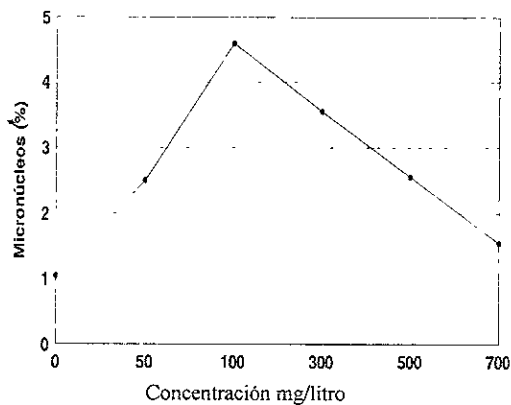
TABLA 15. POTENCIAS CITOGENÉTICAS Y GENOTÓXICAS.

SUSTANCIAS	HORAS DE RECUPERACION	MATERIAL	ALTERACIONES CROMOSÓMICAS	
			METAFASES	ANAFASES
Carbofurán	18	<i>Vicia faba</i>	0.31	0.22
	44	<i>Vicia faba</i>	0.32	0.11
	18	<i>Allium cepa</i>	0.08	0.18
	44	<i>Allium cepa</i>	0.20	0.07
Metomilo	18	<i>Vicia faba</i>	0.26	0.27
	44	<i>Vicia faba</i>	0.21	0.10
	18	<i>Allium cepa</i>	0.23	0.23
	44	<i>Allium cepa</i>	0.17	0.19
Propoxur	18	<i>Vicia faba</i>	0.11	0.30
	44	<i>Vicia faba</i>	0.06	0.29
	18	<i>Allium cepa</i>	0.10	0.25
	44	<i>Allium cepa</i>	0.23	0.08

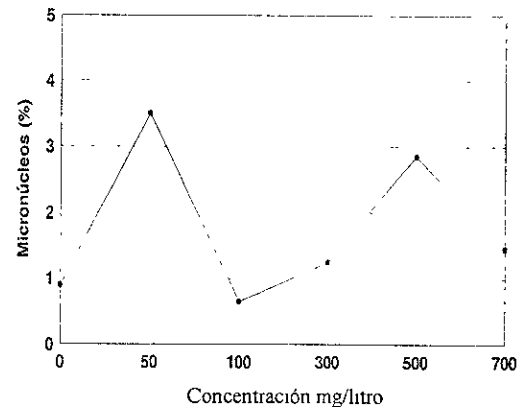
Tabla 16. Frecuencia de micronúcleos* en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial de Furadan 350L a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X ²	Micro-núcleos % 44 h	Valor X ²
0	1.05		0.90	
50	2.50	6.030**	3.50	15.703**
100	4.60	23.079**	0.65	0.406
300	3.55	13.910**	1.25	0.576
500	2.55	6.364**	2.85	10.333**
700	1.55	0.974	1.45	1.302

Figura 27. Frecuencia de micronúcleos* en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial de Furadan 350L a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación



a) 18 h de recuperación



b) 44 h de recuperación

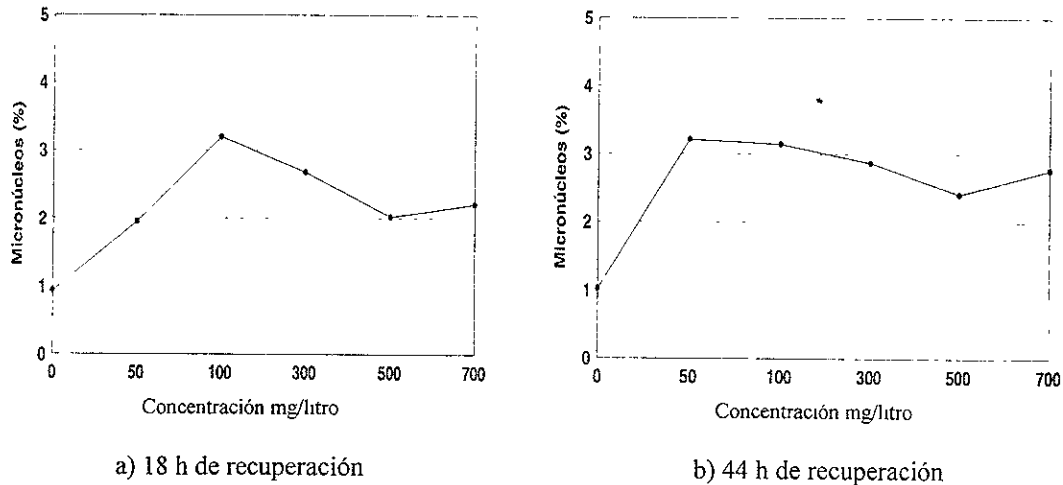
* n = 4000 células en interfase

** p < 0.05

Tabla 17. Frecuencia de micronúcleos* en las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial de Furadan 350L a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X ²	Micro-núcleos % 44 h	Valor X ²
0	0.94		1.02	
50	1.95	3.582	3.21	11.583**
100	3.20	12.598**	3.14	11.034**
300	2.68	8.518**	2.87	8.973**
500	2.02	4.000**	2.41	5.731**
700	2.21	5.202**	2.77	8.236**

Figura 28. Frecuencia de micronúcleos en las células merismáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial de Furadan 350L a diferentes concentraciones



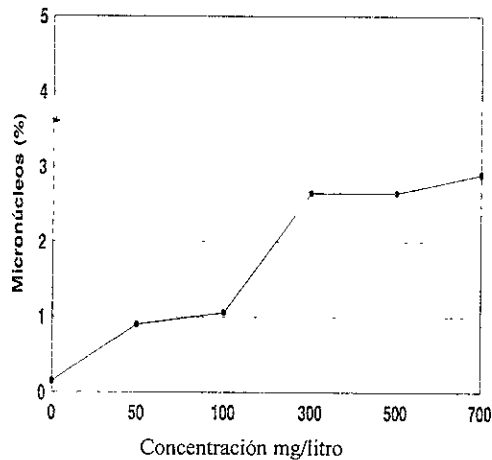
* n = 4000 células en interfase

** p < 0.05

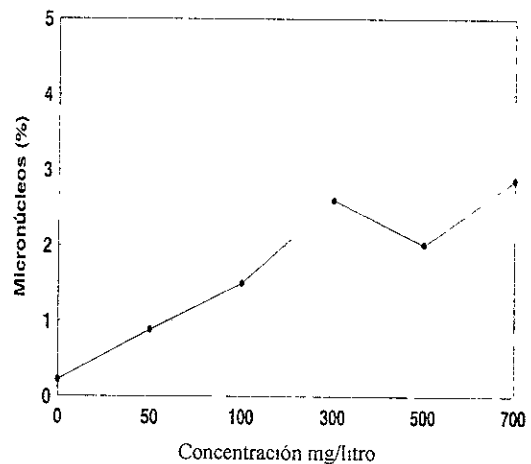
Tabla 18. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones, con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X ²	Micro-núcleos % 44 h	Valor X ²
0	0.15		0.22	
50	0.90	5.385	0.88	3.982**
100	1.06	6.886**	1.50	9.608**
300	2.65	22.536**	2.60	20.446**
500	2.65	22.536**	2.01	14.528**
700	2.90	24.366**	2.87	23.079**

Figura 29. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones, con 18 y 44 h de recuperación



a) 18 h de recuperación



b) 44 h de recuperación

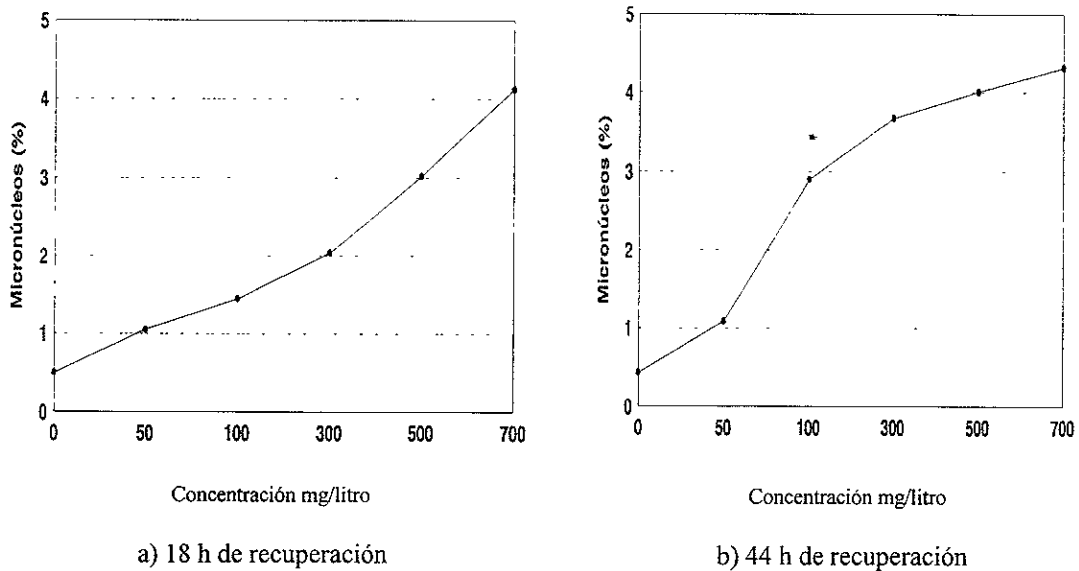
* n = 4000 células en interfase

** p < 0.05

Tabla 19. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación Lannate LV a diferentes concentraciones, con 18 y 44 de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X ²	Micro-núcleos % 44 h	Valor X ²
0	0.50		0.43	
50	1.05	1.967	1.09	2.888
100	1.45	4.674**	2.90	18.647**
300	2.04	9.457**	3.67	28.229**
500	3.02	18.337**	4.01	***
700	4.12	***	4.32	***

Figura 30. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Lannate a diferentes concentraciones, con 18 y 44 de recuperación

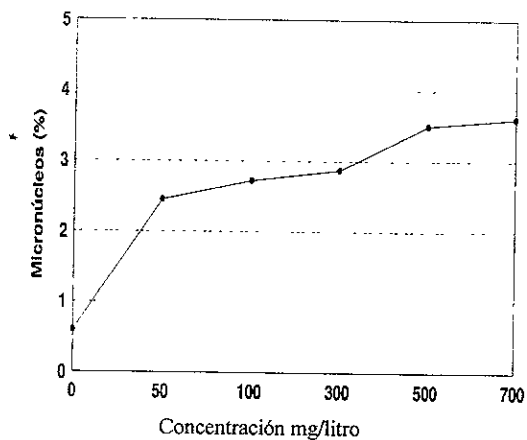


* n = 4000 células en interfase
 ** p < 0.05
 *** Valor muy significativo.

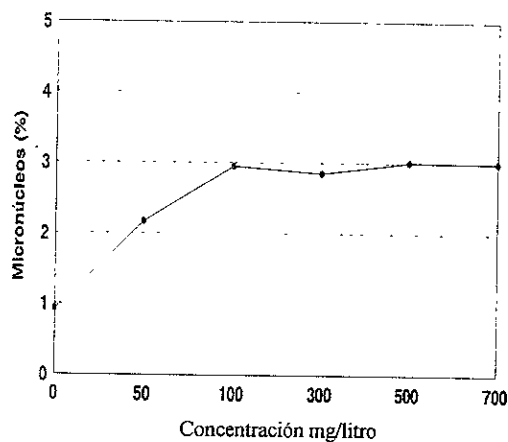
Tabla 20. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones, 18 y 44 de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X^{2**}	Micro-núcleos % 44 h	Valor X^{2**}
0	0.60		0.93	
50	2.45	11.395	2.17	5.038**
100	2.72	13.764**	2.95	10.724**
300	2.87	15.111**	2.85	9.940**
500	3.50	20.847**	3.01	11.201**
700	3.60	21.791**	3.00	11.121**

Figura 31. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones, 18 y 44 de recuperación



a) 18 h de recuperación



b) 44 h de recuperación

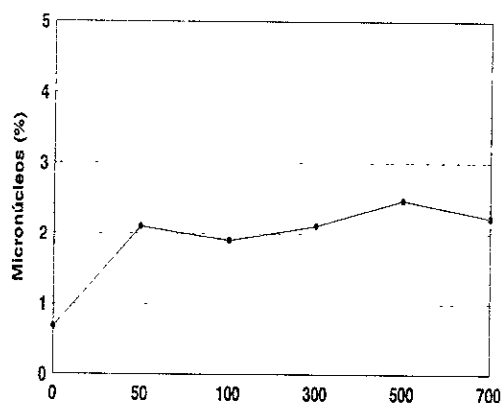
* n = 4000 células en interfase

** p < 0.05

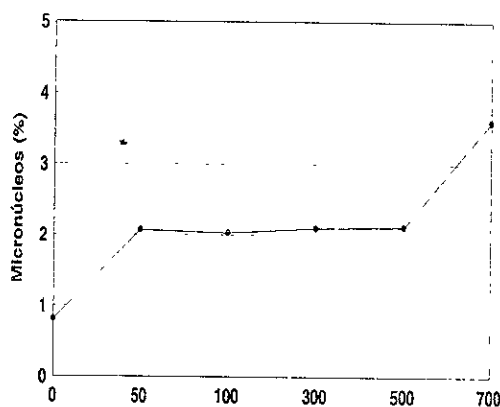
Tabla 21. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Micro-núcleos % 18 h	Valor X^{2**}	Micro-núcleos % 44 h	Valor X^{2**}
0	0.68		0.81	
50	2.10	7.356 **	2.07	5.702 **
100	1.90	5.844 **	2.03	5.423 **
300	2.11	7.433 **	2.10	5.913 **
500	2.47	10.335 **	2.12	6.056 **
700	2.22	8.298 **	3.60	18.236 **

Figura 32. Frecuencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación



a) 18 h de recuperación



b) 44 h de recuperación

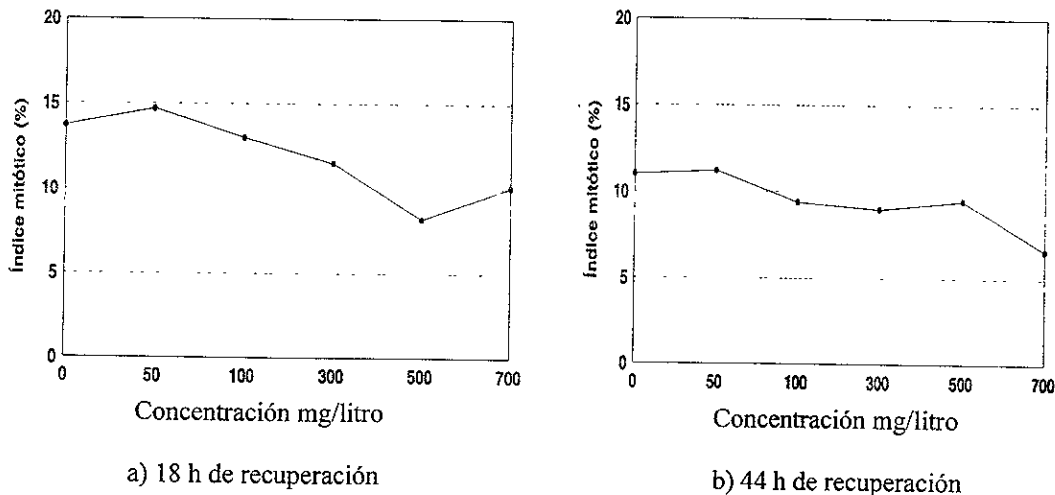
* n = 4000 células en interfase

** p < 0.05

Tabla 22. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial Furadan 350L a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice mitótico % 18 h	Valor X^{2**}	Índice mitótico % 44 h	Valor X^{2**}
0	13.70		11.00	
50	14.70	0.205	11.20	0.010
100	13.00	0.106	9.40	0.699
300	11.50	1.099	9.00	1.111
500	8.20	7.756**	9.50	0.611
700	10.10	3.090	6.60	6.031**

Figura 34. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial Furadan 350L a diferentes concentraciones, 18 y 44 h de recuperación



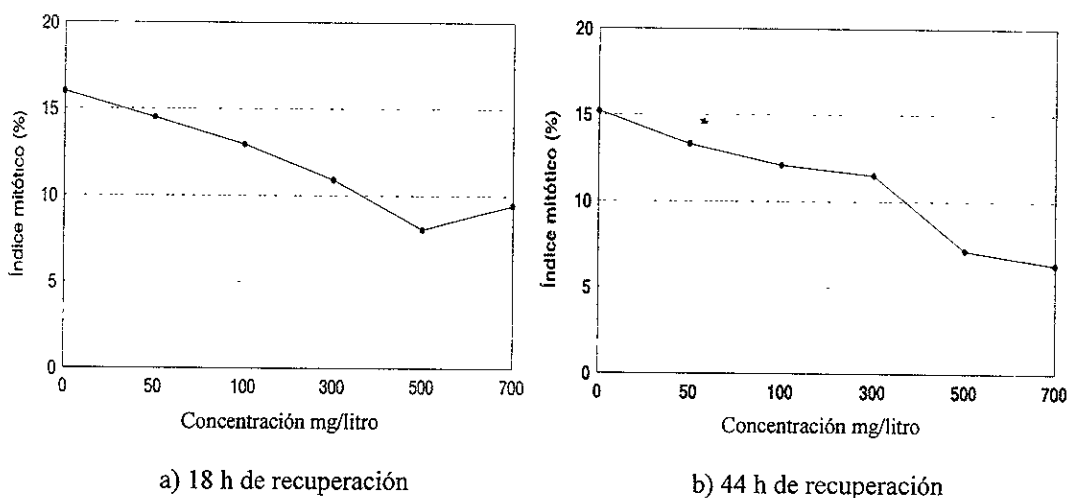
* n = 2000 células

** p < 0.05

Tabla 23. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial Furadan 350L a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice * mitótico % 18 h	Valor X ^{2**}	Índice * mitótico % 44 h	Valor X ^{2**}
0	16.00		15.20	
50	14.50	0.435	13.30	0.739
100	12.95	1.879	12.10	2.038
300	10.91	5.562 **	11.50	2.959
500	8.05	14.934 **	7.15	16.319 **
700	9.45	9.658 **	6.30	20.675 **

Figura 35. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Carbofurán en su presentación comercial Furadan 350L a diferentes concentraciones



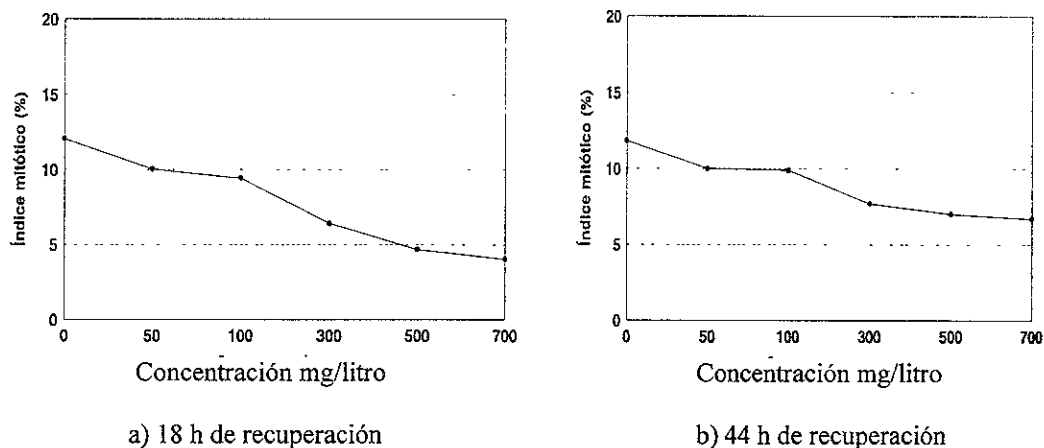
* n = 2000 células

** p < 0.05

Tabla 24. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice mitótico % 18 h	Valor X^{2**}	Índice mitótico % 44 h	Valor X^{2**}
0	12.05		11.83	
50	10.03	1.039	10.00	0.861
100	9.43	1.790	9.89	0.972
300	6.40	9.530**	7.70	4.839**
500	4.68	17.698**	7.00	6.838**
700	4.03	21.791**	6.70	7.826**

Figura 36. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación



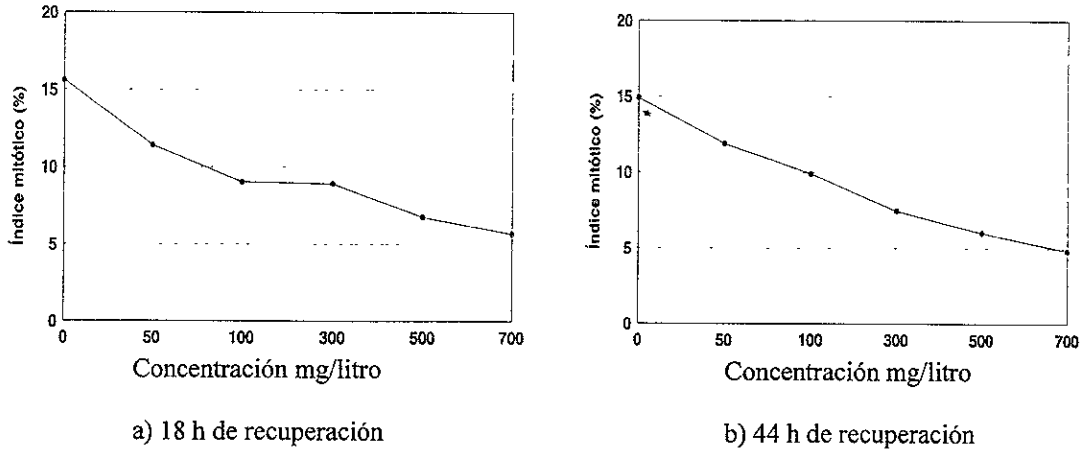
* n = 2000 células

** p < 0.05

Tabla 25. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice mitótico % 18 h	Valor X ^{2**}	Índice mitótico % 44 h	Valor X ^{2**}
0	15.60		14.89	
50	11.40	3.776	11.89	1.940 **
100	9.03	9.994**	9.89	5.758 **
300	8.91	10.406**	7.45	13.945 **
500	6.76	19.733**	6.01	20.976 **
700	5.67	28.229**	4.83	**

Figura 37. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Metomilo en su presentación comercial Lannate LV a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación



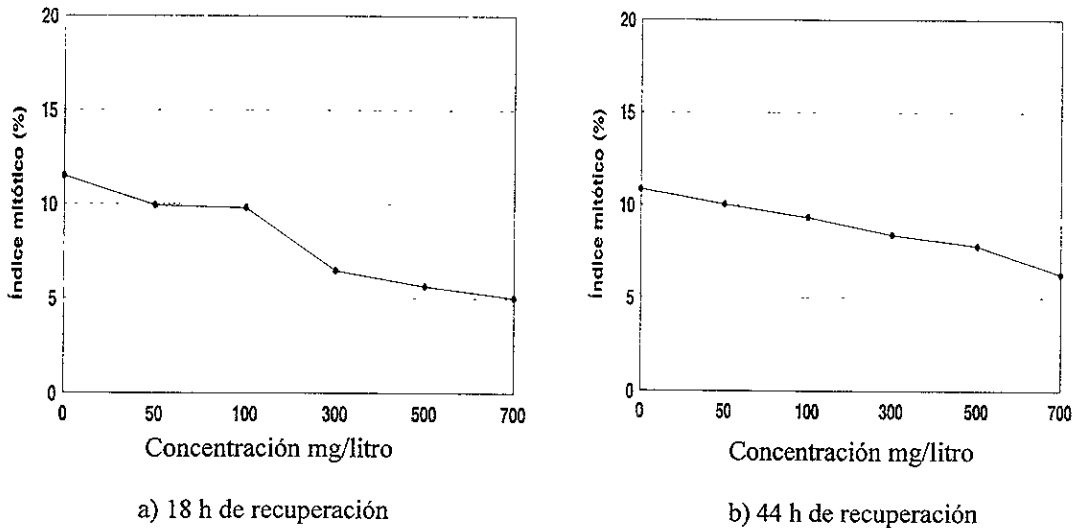
* n = 2000 células

** p < 0.05

Tabla 26. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice mitótico % 18 h	Valor X^{2**}	Índice mitótico % 44 h	Valor X^{2**}
0	11.5		10.85	
50	9.94	0.636	10.04	0.172
100	9.80	0.759	9.34	0.622
300	6.46	7.769**	8.39	1.659
500	5.63	10.99**	7.78	2.667
700	5.02	13.851**	6.25	6.802 **

Figura 38. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Uden 50 a diferentes concentraciones, con 18 y 44 h de recuperación



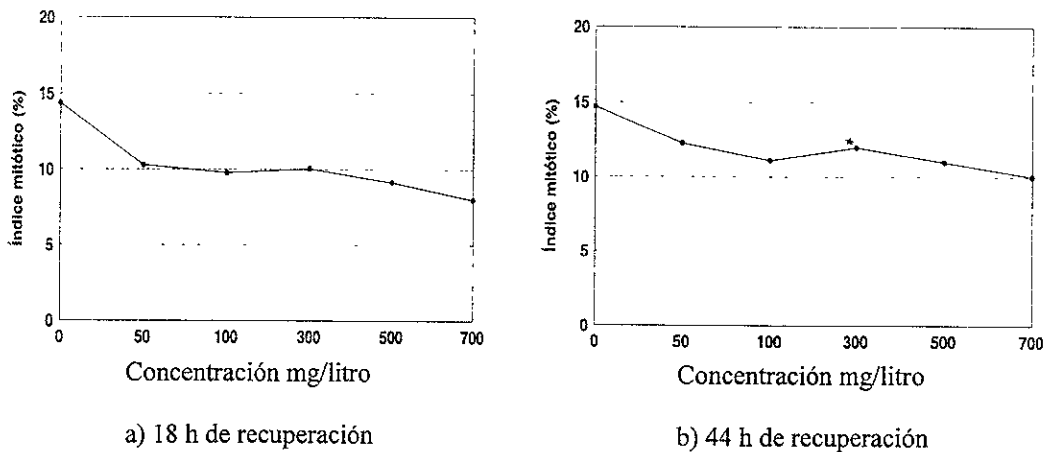
* n = 2000 células

** p < 0.05

Tabla 27. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Unden 50 a diferentes concentraciones con 18 y 44 h de recuperación.

Concentración mg/litro	Índice mitótico % 18 h	Valor X^{2**}	Índice mitótico % 44 h	Valor X^{2**}
	14.37		14.68	
50	10.27	3.890 **	12.25	1.267
100	9.78	4.961 **	11.08	2.887
300	10.05	4.352 **	11.96	1.602
500	9.15	6.564 **	10.98	3.060
700	8.00	10.211 **	10.02	5.015 **

Figura 39. Índice mitótico de las células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas 4 h con Propoxur en su presentación comercial Unden 50 a diferentes concentraciones, con 18 y 44 h de recuperación



*n = 2000 células

** p < 0.05

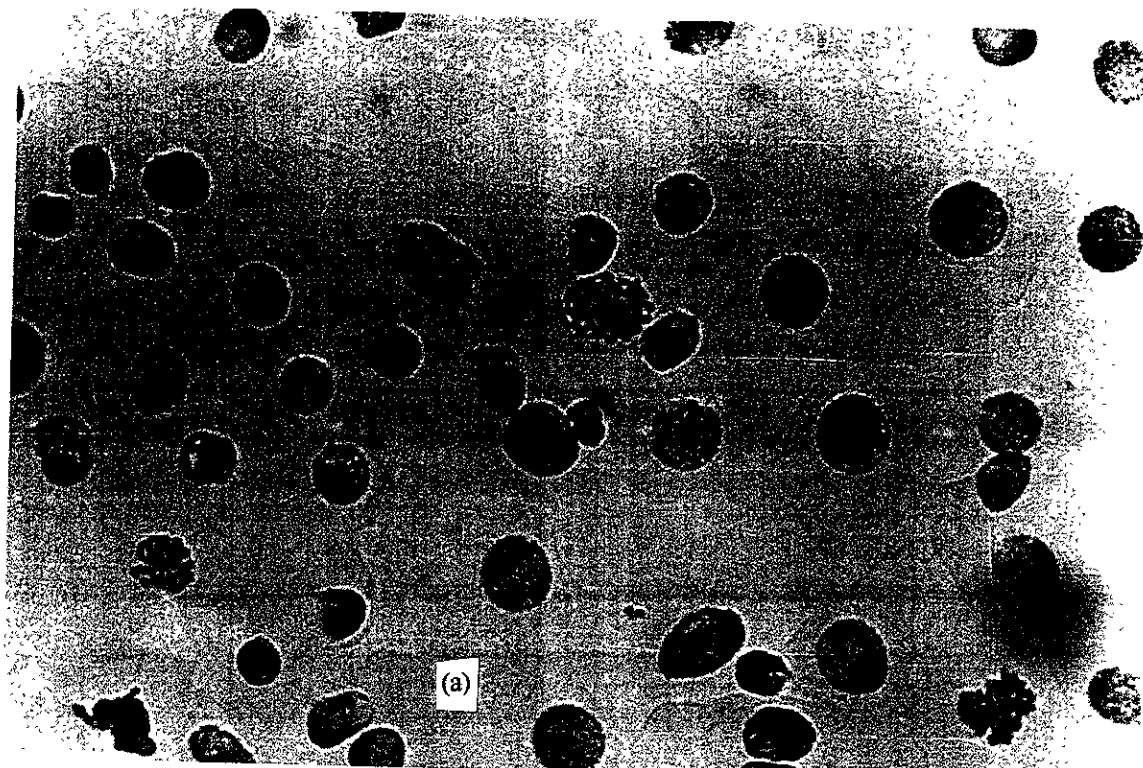


Fig. 33 Micronúcleos en células en interfase de la punta de la raíz de (a) *Vicia faba* y (b) *Allium cepa*.