

201154



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTOS GENETICOS DEL ACETATO DE ETILO EN Drosophila melanogaster.

T E S I S

Que para obtener el Título de
B I O L O G O
P r e s e n t a:

EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

México, D. F.

1984



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.

CONTENIDO

	Paginas
Resumen	1
Introducción	2-9
Material y Métodos	10-16
Resultados	17-18
Discusión y conclusiones	19-22
Bibliografía	23-27
Tablas	28-48
Gráficas	49-50
Figuras	51-55

RESUMEN

Se analizó el efecto genético de varias concentraciones de acetato de etilo en Drosophila melanogaster con el sistema de cruza "Oster"; el daño se cuantificó mediante la inducción de mutaciones letales dominantes, de la no disyunción y de la pérdida de los cromosomas sexuales en la primera generación filial y la inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo en la segunda generación.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$, en relación con la inducción de mutaciones letales dominantes, proporción sexual y viabilidad en la primera generación y no causó ningún efecto visible sobre el desarrollo de las moscas.

Con respecto a la no disyunción y a la pérdida de los cromosomas sexuales se observó un incremento estadísticamente significativo a $p < 0.05$ en las concentraciones de 3.56×10^{-3} ppm y de 5.34×10^{-3} ppm, mientras que en 1.78×10^{-3} ppm no se elevó la frecuencia con respecto al lote testigo.

En cuanto a la inducción de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo se notó una respuesta lineal de acuerdo a las concentraciones, siendo todos los resultados estadísticamente significativos a $p < 0.05$.

INTRODUCCION

En las últimas décadas la industria ha tenido un crecimiento exponencial y cada vez son más las sustancias nuevas fabricadas y vertidas al medio ambiente.

Dubinín (1981) reporta que alrededor de 500 nuevos compuestos se introducen actualmente al mercado, se conoce que algunas de estas sustancias tienen efecto biológico pero fue necesario que se produjeran accidentes dramáticos para que se les responsabilizara de los mismos.

Dentro de los contaminantes químicos, los solventes orgánicos ocupan un lugar importante; los cuales son sustancias que por ser volátiles son inhalados voluntaria o involuntariamente causando daños al inhalador, por otro lado se sabe que todos los solventes en un grado mayor o menor son tóxicos (Cutiérrrez-Flores, 1975).

Este tipo de compuestos involucran dos problemas principales: la falta de medidas de protección dentro del trabajo y la farmacodependencia; el primero se soluciona con el uso de máscaras y trajes apropiados, evitando la inhalación del solvente y procurando no estar en contacto (NIOSH, 1977).

La inhalación de estos compuestos representa en nuestro país uno de los principales problemas de drogadicción, tanto por la

frecuencia de su uso, como por el peligro de sus efectos sobre el organismo humano (Torres-Ruiz, 1975).

Entre los solventes que más se usan para este fin, se encuentran los acetatos alifáticos, bencenos, alcoholes, tetracloruro de etilo, eter, y otros, por su fácil obtención y su bajo costo.

Crabski (1961) señala que debido al caracter irreversible del daño que ocasionan estos solventes, la cesación de su inhalación debe ser considerada como una emergencia en el tratamiento siquiátrico de este tipo de adicción.

Los síntomas más frecuentes por el uso crónico de los volátiles inhalables son: fatiga, depresión, trastornos de la memoria, dermatitis, mayor excitabilidad del sistema nervioso y puede llegar a causar la muerte por sofocación. (Torres-Ruiz, 1975).

Dentro de los solventes más utilizados se encuentra el tiner el cual es una mezcla balanceada de varios solventes latentes y diluyentes, que se emplea tanto en la industria de los colorantes, peletera, barnices, lacas, etc, así como en la farmacodependencia.

Al ser inhalado el tiner produce irritación de las mucosas, convulsiones y depresión, anemia y ausencia de anticuerpos. Pueden presentarse alteraciones por su uso crónico en: bazo, riñones,

y glándulas endocrinas (Barroso-Mofuel, 1975).

En gatos el tñner causa hiperexcitabilidad, ataxia, catatonía y crisis mioclónicas (Gutierrez-Flores, 1975). En Vicia faba induce alteraciones cromosómicas (Cómez-Arroyo, 1980), y en Drosophila melanogaster modifica la proporción sexual y produce mutaciones letales recesivas ligadas al sexo (Rodríguez-Arnaiz, 1982).

Entre los constituyentes del tñner se presenta el acetato de etilo que es un éster que se obtiene de la petroquímica y es utilizado como solvente polar activo en la industria de las lacas, pinturas, barnices, tintas de impresión y recubrimientos orgánicos (Gutiérrez-Flores, 1975).

Presenta evaporación rápida y generalmente su obtención es poco costosa, es muy utilizado en trabajos donde el tiempo de secado es importante, como en el caso de las pinturas en aerosol (Gutierrez-Flores, 1975).

El acetato de etilo ($C_2H_5COOCH_3$), es una sustancia muy poco soluble en agua, su punto de ebullición es de 77 grados centígrados, se ha determinado las dosis permisibles en la atmósfera de trabajo en 400 ppm y 1400 mg/m^3 . Los metabolitos secundarios de esta sustancia son el ácido acético y el alcohol etílico (Cassarett y Doull, 1975).

Se ha observado que los vapores del acetato de etilo en concentraciones de 200 ppm producen la pérdida del olfato hacia determinados olores, ya que en esta concentración se emite un fuerte olor (Barrios y Devoto, 1931).

Por otra parte, se ha descrito que 400 ppm causan irritación severa de las membranas mucosas y dermatitis (Nelson, et al., 1943), mientras que concentraciones más elevadas tiene un efecto narcótico (Marsden y Seymour, 1963).

El acetato de etilo se encuentra como constituyente de materiales de construcción de polímeros y refrigerantes en la industria aeronáutica y espacial, lo cual representa una fuente de contaminación en los compartimentos herméticamente cerrados (Tikhonova, et al., 1979).

Aithoff (1931) reporta la muerte de un trabajador en el interior de un tanque donde se utilizaba pintura que contenía ochenta por ciento de acetato de etilo. Cuando se llevo a cabo la autopsia se vio que todos los órganos y tejidos oían fuertemente a dicho solvente.

Se considera que una intoxicación aguda por acetato de etilo ejerce una acción depresiva sobre la contractilidad del miocardio originando un colapso cardiovascular y subsecuentemente la muerte (Nakano et al., 1973).

El acetato de etilo se hidroliza rápidamente en ácido acético y etanol a nivel vascular (Fasset, 1963, Callaher y Loomis, - 1975), por lo que la exposición en la industria a este compuesto provoca un aumento en la concentración de alcohol etílico y ácido acético en la sangre (Kojima et al., 1979).

En estudios realizados en ratas se ha observado que la acumulación de alcohol etílico y ácido acético (Callaher y Loomis, 1975) debida a una excesiva inhalación de acetato de etilo, altera el metabolismo del piruvato ya que causa un incremento significativo en los niveles de ácido pirúvico contenidos en la sangre y el hígado, así mismo aumenta las concentraciones de ácido láctico y decrece la de glucosa del torrente sanguíneo (Seth y Srivastava, 1974).

El acetato de etilo juega un papel importante como reactivo en los métodos cromatográficos, ya que se utiliza en la cromatografía de gases líquida (Buchet y Lauwerys, 1973).

Se ha observado que el acetato de etilo provoca alteraciones cromosómicas y cromosomas retardados, así como anomalías en el huso mitótico de Vicia faba (Castillo, 1981).

En la actualidad se tiene establecidos numerosos sistemas de prueba para el bioensayo de agentes potencialmente mutagénicos en toda la escala evolutiva (Tabla 0), de ellos Drosophila - -

melanogaster, la mosca de la fruta, es uno de los más adecuados para la inducción y detección de mutaciones y aberraciones cromosómicas in vivo (Zimmering, 1975a).

Pocos organismos superiores pueden ser cultivados en gran número, fácil y económicamente como Drosophila, su tiempo de generación es corto de 9 a 10 días a la temperatura óptima de 25 grados centígrados (Abrahamson y Lewis, 1971; Zimmering, 1975b) (Tabla 1) .

Drosophila melanogaster por ser el sistema de eucariontes más rápido, versátil y eficiente, permite en un solo experimento la detección de aberraciones cromosómicas y mutaciones inducidas en células de la línea germinal.

Es el único organismo en el cual puede analizarse el espectro total de alteraciones inducidas por agentes ambientales (Zimmering, 1975a).

Gran cantidad de carcinógenos y mutágenos que actúan de una manera indirecta (o sea, que requieren de activación metabólica) se probaron en otros sistemas biológicos y mostraron no tener efecto mutagénico, al emplearlos en Drosophila melanogaster dieron resultados positivos (Cochr, 1979).

Esto se debe a que los extractos de la fracción microsomática de Drosophila melanogaster contienen factores enzimáticos que --

son capaces de activar gran cantidad de agentes químicos (Baars et al., 1980). Por lo tanto debe resaltarse la importancia de la presencia de un sistema enzimático microsómico semejante al del hígado de mamíferos, esto le confiere una ventaja única sobre otros sistemas de eucariontes utilizados para el bioensayo (Zimmerin, 1975a).

Existen gran cantidad de líneas de laboratorio con marcadores genéticos específicos, tales como inversiones y otros rearranglos cromosómicos que permiten la evaluación de una amplia variedad de efectos genéticos y cromosómicos, tales como la inducción de: mutaciones letales dominantes, no disyunción, pérdida total o parcial de los cromosomas sexuales en la primera generación filial (F_1) y mutaciones letales recesivas ligadas al sexo y translocaciones en la segunda generación filial (F_2).

Los experimentos en los cuales se prueban las alteraciones antes mencionadas son probablemente los más importantes tomando en cuenta que estos cambios genéticos son los que más seriamente afectan a las poblaciones humanas (Zimmerin, 1975a).

La administración de mutágenos químicos potenciales en Drosophila melanogaster se puede realizar de varias maneras dependiendo de las diferentes características de las sustancias a probar, entre las que se encuentran: administración por vía oral o -

digestiva, por inyección, por inhalación gaseosa o por ducha vaginal (Lee, 1976).

En vista de la importancia del acetato de etilo como disolvente tanto solo como en mezcla formando parte del tiner, en este trabajo se pretende establecer el daño genético que causa sobre los cromosomas sexuales de Drosophila melanogaster mediante la cuantificación de mutaciones letales dominantes, pérdida de los cromosomas sexuales y de la no disyunción en la primera generación y de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo en la segunda generación filial.

MATERIAL Y METODOS

Sistema de cruzas

Se utilizó el sistema de cruzas "Oster" (Oster, 1958) para cuantificar la inducción de mutaciones letales dominantes, pérdida cromosómica total o parcial de los cromosomas sexuales, de la no disyunción y de la inducción de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo.

Las hembras de la línea "Oster hembras" presentan el marcador yellow (y, cuerpo amarillo) y una serie de inversiones - como son sc^{s1} , In^{49} , sc^8 , en el cromosoma X, en el cromosoma 2 el marcador brown (b, ojos color café) y los marcadores scarlet (st, ojos color escarlata) y pink-peach (p^p , ojos color durazno) - en el tercer cromosoma. Por lo tanto el fenotipo de estas hembras es cuerpo amarillo y ojos blancos, debido a la interacción de los marcadores para el color de los ojos.

La línea "Oster machos" muestran el cromosoma X en anillo - (X^{o2}), el cual lleva los marcadores yellow (y, cuerpo amarillo) y el marcador para ojos en forma de barra (B), y en el cromosoma Y contienen un fragmento del cromosoma X debido a una translocación, con los marcadores sc^8 y el alelomorfo y^+ (color de cuerpo silvestre), entonces el fenotipo de los machos es el de cuer-

po silvestre y ojos en forma de barra.

Por lo tanto la cruce progenitora sera:

$ysc^{s1}In^{49}sc^8 / ysc^{s1}In^{49}sc^8 ; bw/bw ; st/st, p^p/p^p -- X^{c2}yB/sc^8Y$

Hembras cuerpo amarillo, ojos blancos -- Machos silvestres ojos
en forma de barra

Para determinar la inducción de mutaciones letales dominantes se lleva a cabo la cuantificación de la ovoposición, contando como un evento de letalidad dominante al huevecillo de color café y al huevecillo color blanco como normal.

Primera generación filial (F_1)

1.- Prole normal

$ysc^{s1}In^{49}sc^8 / X^{c2}yB$

- Hembra cuerpo amarillo, ojos
en barra.

$ysc^{s1}In^{49}sc^8 / sc^8Y$

- Macho silvestre

2.- Prole excepcional

a) no disyunción en hembras

$ysc^{s1}In^{49}sc^8 / ysc^{s1}In^{49}sc^8 / sc^8Y$

- Hembra silvestre (XXY)

- $y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / X^{c2} y^B}$ - Superhembra cuerpo amarillo
ojos en forma de barra(XXX)
- $0/X^{c2} y^B$ - Macho cuerpo amarillo, ojo
en forma de barra (XO esteril)
- $0/sc^B Y$ - Macho (YO muere).
- b) no disyunción en machos
- $y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / X^{c2} y^B / sc^B Y$ Hembra ojo en forma de barra (XXY)
- $y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / 0$ - Macho cuerpo amarillo (estéril XO
- c) pérdida del cromosoma X en las hembras
- $0/X^{c2} y^B$ - Macho cuerpo amarillo y ojos
en forma de barra (XO)
- $0/sc^B Y$ - Macho (YO muere).
- d) pérdida del cromosoma X en machos
- $y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / 0$ - Macho cuerpo amarillo (estéril XO
- e) pérdida del cromosoma Y en machos
- $y^{sc^{s1} In^{49} sc^8 / 0$ Macho cuerpo amarillo (estéril XO)

Para determinar la inducción de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo es necesario seguir la crua hasta la segunda generación filial(F_2) para lo cual se emplea la progenie normal de la F_1 :

$ysc^{s1}In^{49}sc^8/x^{c2}yB$

--

$ysc^{s1}In^{49}sc^8/sc^8Y$

Hembras cuerpo amarillo y ojo en barra -- Machos silvestres

Prole de la segunda generación filial

$ysc^{s1}In^{49}sc^8/ysc^{s1}In^{49}sc^8$

- Hembra cuerpo amarillo

$ysc^{s1}In^{49}sc^8/sc^8Y$

- Macho silvestre

$x^{c2}yB/ysc^{s1}In^{49}sc^8$

- Hembra cuerpo amarillo

y ojo en forma de barra

$x^{c2}yB/sc^8Y$

- Machos silvestres con

ojos en forma de barra

En los frascos donde no hay machos con ojos en forma de barra se cuantifican como letales recesivos ligados al sexo.

Procedimiento experimental

El tratamiento se hizo en los machos de la crucea parental para lo cual se colocaron en frascos lecheros de 250ml y se expusieron a atmosferas con acetato de etilo. Mediante experimentos previos se determinó en tiempo en el cual morían la mitad de los individuos tratados, siendo esta la concentración más alta empleada.

Los machos ya tratados se cruzaron con hembras vírgenes en

proporción 1:2 para asegurar y amplificar los efectos del acetato de etilo, a las hembras se les dejó ovopositar durante tres días y luego se eliminaron los progenitores.

Se determinó la inducción de las mutaciones letales dominantes colocando un papel con medio, dejando a las hembras ovopositar encima y luego se verificó el número de huevecillos. Posteriormente se dejó completar el desarrollo y a los 15 días se cuantificó la primera generación filial.

Cada hembra de la primera generación filial autofecundada por los machos de la misma generación se colocó en un frasco homeopático o vial, en donde se les permitió ovopositar tres días y quince días después se cuantificó la segunda generación filial.

Para aplicar los tratamientos a los machos se montó un pequeño aparato el que se muestra en la fig.1, el cual consiste de: (a) una bomba pecera que introduce aire al sistema, el cual es recogido en el frasco (c) el paso del aire esta regulado por una pinza (b), el frasco (c) contiene la sustancia a probar y los vapores de esta pasan al frasco (d) que es la cámara de exposición de las moscas, los vapores son recogidos en el frasco (e) donde son burbujeados en agua.

Se escorpió este sistema de tratamiento debido a que de esta

la presión dentro del sistema es la misma, porque es abierto y el volumen es igual, con esto se simplificaron algunos cálculos.

Las moscas fueron expuestas a diferentes concentraciones de acetato de etilo: 1.78, 3.56, 5.34×10^{-3} ppm, el grupo testigo se trató burbujeando agua en el aparato antes descrito; para cada tratamiento se montó el testigo correspondiente.

De cada experimento se hicieron dos repeticiones. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó la prueba de diferencia de proporciones, ya que permite trabajar muestras grandes con valores porcentuales. El método consiste en determinar la diferencia entre 2 proporciones, por ejemplo, testigo y una concentración, para lo cual se calcula d:

$$d: \frac{r_1 - r_2}{\sqrt{r(1-r) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Los parámetros r_1 y r_2 son los porcentajes o sea que vienen dados por a_1/n y a_2/n donde a_1 y a_2 son el número de moscas con alteraciones y n_1 y n_2 son el número de moscas totales.

El parámetro r de la fórmula viene dado por:

$$r: \frac{a_1 + a_2}{n_1 + n_2}$$

El error estándar se calculó a partir de los datos utilizando el hecho de que la varianza de la proporción de cada muestra viene dada por dq/n (Parker, 1976)

Para analizar las diferencias entre la proporción sexual de cada concentración se utilizó el método de chi-cuadrada (Spiegel, 1970).

RESULTADOS

La evaluación del efecto del acetato de etilo sobre la inducción de mutaciones letales dominantes se llevó a cabo contando el número de huevecillos normales y excepcionales (Fig. 2).

Con respecto a la no disyunción (Fig. 3) y a la pérdida de los cromosomas sexuales (Fig. 4) se hizo mediante el conteo de individuos normales y excepcionales en la primera generación. Para la cuantificación de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo (Fig. 5) se conto el número de viales con y sin mutaciones en la segunda generación.

En las tablas donde aparece el simbolo (-) significa la no aparición de individuos excepcionales o letales.

Con respecto a las mutaciones letales dominantes se vió que no hubo diferencias significativas a $p < 0.05$ (Tabla 2) al igual que no alteró el desarrollo de las moscas (Tabla 3).

Para la inducción de la no disyunción y de la pérdida cromosómica en la primera generación los datos obtenidos se muestran en las tablas 4, 5, 6, en donde se denotan los individuos normales y excepcionales de cada experimento y en la tabla 7 se muestra la suma de los tres experimentos (Gráfica 1).

Se notó un incremento estadísticamente significativo a $p < 0.05$ de estas alteraciones con respecto a los testigos de los machos con cuerpo amarillo para las concentraciones de 3.56×10^{-3} ppm y

5.34×10^{-3} ppm.

También se encontraron tres hembras excepcionales con fenotipo cuerpo silvestre y ojos en forma de barra que son provenientes de la no disyunción en machos, asimismo se encontraron una hembra excepcional (XXY) de fenotipo silvestre en la concentración de 3.56×10^{-3} ppm y un macho excepcional con fenotipo silvestre con ojos en forma de barra en la misma concentración. En la concentración 5.34×10^{-3} ppm se encontró otra hembra XXY (Tabla 7).

Con respecto a la viabilidad y a la proporción sexual (Tablas 8,9,10,11) no hubo diferencias significativas con respecto al lote testigo.

En las tablas 12,13,14, se muestran los resultados de los experimentos I,II,III, donde se puede observar la inducción de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo. En la tabla 15 y en la gráfica 2 se resumen los resultados de los tres experimentos.

En cuanto a la inducción de este tipo de mutaciones, se vio un incremento estadísticamente significativo con respecto al lote testigo (Tabla 15).

Con respecto a la viabilidad obtenida en la segunda generación filial, no hubo diferencias significativas en ninguna de las concentraciones con respecto al lote testigo (Tablas 16,17,18 y 19).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Al analizar los resultados obtenidos se nota que no hubo diferencias significativas con respecto al testigo en las pruebas de letales dominantes, la viabilidad y en la proporción sexual.

Con respecto a la detección de la no disyunción y la pérdida de los cromosomas sexuales en la primera generación filial, se encontró que los machos excepcionales con fenotipo cuerpo amarillo y las hembras cuerpo silvestre son individuos provenientes de la pérdida de los cromosomas sexuales y de la no disyunción en los machos progenitores.

La frecuencia de pérdida de los cromosomas sexuales es mucho más alta que la no disyunción, la espontánea de pérdida de los cromosomas sexuales en machos es de 0.06 (Tabla 20) y la pérdida del cromosoma Y es de 0.02 a 0.06 (Snyder y Oster, 1964). La pérdida del cromosoma X en anillo ocurre con una frecuencia de 1.3 a 3.2 (Vozel y Natarajan, 1979).

El porcentaje de individuos excepcionales provenientes de la no disyunción, así como la pérdida de los cromosomas sexuales en los machos, en este trabajo varío de 0 a 1.47, teniendo una media de 0.28 en los testigos y en las concentraciones Osciló

entre 0 y 2.6 (Tabla 7).

Como se puede apreciar en la gráfica 1 el comportamiento de esta sustancia no es lineal con respecto a la concentración. Este tipo de comportamiento ya ha sido reportado en trabajos realizados con Drosophila melanogaster con el benceno, que es otro constituyente del tñer (Rodríguez-Arnaiz, 1982) y con el PyDMT (Vogel y Leigh, 1975).

En la concentración de 3.56×10^{-3} ppm aparece un gran incremento en la frecuencia de individuos excepcionales (2.63 %), misma que disminuye en la concentración de 5.34×10^{-3} ppm (1.22 %), (Tabla 7, Gráfica 1).

Esta cinética de la sustancia se puede deber a que al pasar de la concentración 3.56×10^{-3} ppm se disparen factores limitantes para su bioactivación o biodegradación (Vogel y Leigh, 1975).

Gómez-Arroyo (1980) reportó que tanto el tñer como los solventes contenidos en él, provocan en las células de la raíz de Vicia faba tanto aberraciones subcromatídicas como cromatídicas y cromosómicas.

En trabajos posteriores, Castillo (1981) con Vicia faba demostró que el acetato de etilo produce alteraciones cromosómicas como fragmentos sencillos y dobles, cromosomas retardados, así como efectos directos sobre el centromero causando inactivación del

mismo lo que provoca la formación de cromosomas con centrómero inactivado o bien divisiones anormales del mismo, formando isocromosomas que en la siguiente generación van a producir aberraciones numéricas, además este compuesto causa alteraciones en el huso acromático apareciendo anafases multipolares.

Por otro lado, Gómez-Arroyo (1980), estableció un efecto estimulante del tiner en la concentración de 0.03 % sobre el índice mitótico, demostrándose posteriormente que tal efecto era provocado por el acetato de etilo (Gómez-Arroyo et al., datos no publicados).

Con respecto a las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo (Fig. 5) son alteraciones que comprenden tanto deleciones como mutaciones puntuales, y pueden demostrarse en hembras homocigóticas y machos hemicigóticos (Auerbach, 1976).

La frecuencia espontánea de las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo es de 0.17 (Korsetelius, 1979). En los lotes testigo del presente trabajo fue de 1.2, mientras que en las concentraciones osciló entre 3.45 y 5.6 (Tabla 15). Estas diferencias con respecto a la frecuencia espontánea propuesta por Korsetelius se debe a que se utilizó una línea más sensible a los mutágenos que la que uso Korsetelius.

Se pudo observar una relación lineal entre las concentracio-

nes y la frecuencia de letales (Gráfica 2).Estos resultados se comportan de manera similar a los obtenidos por Korsetelius (1979) con la beta-propiolactona y con el trabajo realizado por Rodríguez-Arnaiz (1982) con el tiner, benceno y el n-hexano al tratar a los machos progenitores de Drosophila melanogaster.

Se ha mencionado que de todas las pruebas empleadas en Drosophila para la detección de mutágenos potenciales, la de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo es la más sensible y es posible usarla como dosímetro biológico (Auerbach,1976), sin embargo una objeción que se propone a este enunciado es el hecho de que estas mutaciones incluyen un conjunto heterogéneo de cambios genéticos, los porcentajes de estos diferentes eventos pueden diferir entre mutágenos y variar entre las concentraciones (Vogel y Natarajan,1979b).

Como se puede apreciar el acetato de etilo puede ser un compuesto dañino para el hombre, por lo que la regulación de su uso debe ser controlada, al igual que las concentraciones máximas en la atmosfera de trabajo. El uso de máscaras y trajes apropiados debe de ser considerado como obligatorio para las industrias que trabajan con este solvente.

BIBLIOGRAFIA

Abrahamson, S y E.B. Lewis (1971) The detection of mutations in Drosophila melanogaster. En: Chemical mutagens, Principles and methods for their detection. Vol, 2. Alexander Hollander, Ed, Plenum press. Nueva York. pp 461-487.

Auerbach, C. (1976) Mutation research. Chapman and Hall, Londres.

Althoff, E. (1931) Tod Durch Einatmung von Essigester, Z. Med Beamte, 15:420.

Baars, A.J., W.G.H. Blijleven, G.R. Mohn, A.T. Natarajan y D.D. Breimer (1980) Preliminary studies on the ability of Drosophila microsomal preparations to activate mutagens and carcinogens. Mutat. Res. 72: 257-264.

Barrios, D.L. y J.S. Devoto (1931) Comentarios sobre la acción tóxica del barniz, "Tini y Pomada", Sem. Med. Buenos Aires 1: 252.

Barroso-Moguel, R. (1975) Alteraciones morfológicas producidas por inhalantes. Cuadernos científicos del C.E.M.E.F. 2:97-106.

Buchet, I.P. y R.P. Lauwerys (1973) Measurement of urinary hippuric and m-methyl, hippuric acids by gas chromatography. Brit. J. Ind. Med. 30: 125-128.

Cassarett, L y J. Doull (1975) Toxicology. Macmillan Publishing, Nueva York, pp 503.

Castillo, P. (1981) Efecto del acetato de etilo sobre los cromosomas de las células meristemáticas de la raíz de Vicia faba. Tesis, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México.

Cohr, K. (1979) Toluene: a toxicologic review. Environ Health 5: 71-90.

Dubinín, N.P. (1981) Genética General Editorial M.I.R., Moscú, pp. 173.

Fassett, D.W. (1963) Esters, En: Industrial and Toxicology, D.W. Fassett y D.D. Frish editors, Volume 2, Interscience Publishers, Nueva York, pp. 1847.

Gallaher, E.J., y I.A. Loomis (1975) Metabolism of ethyl acetate in the rat hidrolisis to ethyl alcohol in vitro and in vivo. Toxicol. Appl. Pharmacol. 34: 309-313.

Gomez-Arroyo, S (1980) Efectos cromosómicos del tiner y algunos de sus principales componentes. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias U.N.A.M. México.

Grabski, D.A. (1961) Toluene sniffing producing cerebellar degeneration. Amer. J. Psychiat. 118: 461-462

Gutiérrez-Flores, R.R. (1975) Solventes industriales, Cuadernos científicos del C.E.M.E.F. 2: 35-48.

Kojima, T., M. Yashiki y I. Une (1979) Descompositión of ethyl acetate and relationship of ethanol levels with pH values of blood in rats exposed to ethyl acetate vapor. J.P.N.J. Leq. Med. 33: 704-713.

Korsetelius, M.J.H. (1979) Induction of sex linked recessive lethals and autosomal translocations by beta-propiolactone in Drosophila Influence of the route of administration on mutagenic activity. Mutat. Res. 66: 55-63.

Lee, W.R. (1976) Chemical mutagenesis. En: The Genetics and Biology of Drosophila melanogaster. Ashburner, M. y E. Novitski, Eds. Volume 1c Academic press, Nueva York. pp 1299-1341.

Levin, B. (1980) Chromosome segregation. En: Gene Expression 2 Eukariotic chromosomes. Wiley, Nueva York, pp 127.

Marsden, C.B. y M. Seymour (1963) Solvents guide. Cleaver Hume press, LTD Londres.

Nakano, J., S.E. Moore y C.L. Kessinger (1973) Miocardial depressant action of ethyl acetate, J. Pharm. Pharmacol. 25: 1018-1020.

Nelson, K.W., J.F. Ege, M. Ross, L.E. Woodman y L. Silverman (1943) Sensory response to certain industrial solvents vapours. J. Ind. Hyg. Toxicol. 25: 282.

NIOSH (1977) Revised recommendation for an occupational exposure standard for benzene. U.S. Department of Health, education and welfare Public health service. Center for disease control. Nat. Inst. for occupational safety and health.

Oster, I.I. (1958) The spectrum of sensitivity of Drosophila melanogaster germ cells stages to X irradiation. En: Radiation Biology.
Martin, E.H., Ed. Proc. Ind. Aust. Conf. Rad. Biol. pp 253-267.

Parker, R.E. (1976) Estadística para biólogos. Editorial Omega.
Barcelona España. pp 314.

Rodríguez-Arnaíz, R. (1982) Efectos genéticos del tñer y de algunos de sus componentes en Drosophila melanogaster. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México.

Seth, P.K. y S.P. Srivastava (1974) Biochemical changes induced by ethyl acetate in blood and liver of the rat. Environ. Contam. Toxicol. 12: 612-616.

Snyder, L.A. y I.I. Oster (1964) A comparison of genetic changes induced by monofunctional and polifunctional alkylating agents in Drosophila melanogaster. Mutat. Res. 1: 347-445.

Spiegel, M.R. (1970) Estadística. Serie de compendios Schaum. MacGraw-Hill. México, pp 168-171.

Tikhonova, G.P., G.I. Solomín, Y.P. Bisin y Z.I. Pilibyuk (1979) Effect of hipokinesia on the resistance of animals exposed to chemical agent. Kosm. Biol. Aviakosm. Med. 13: 46-50.

Torres-Ruiz, A. (1975) Manifestaciones clínicas en los usuarios y/o abudadores de volátiles. Cuadernos científicos del C.E.M.E.F. 2: 73-84.

Vogel, E. y B. Leigh. (1975) Concentration effect studies with MMS, TEB, 2,4,6-triCl-PDMT and DEN on the induction of dominant and recessive lethals, chromosome loss and translocations in Drosophila sperm. Mutat. Res. 29: 383-396.

Vogel, E. y A.T. Natarajan (1979a) The relation between reaction kinetics and mutagenic action of mono-functional alkylating agents in higher eukariotic systems. I Recessive lethals mutations in Drosophila. Mutat. Res. 62: 51-100.

Vogel, E. y A.T. Natarajan (1979b) The relation between reaction kinetics and mutagenic action of mono-functional alkylating agents in higher eukariotic systems. II Total and Partial sex-chromosome loss in Drosophila. Mutat. Res. 62: 101-123.

Zimmering, Z. (1975a) Utility of Drosophila for detection potential environmental chemical mutagens, Annals. New York. Acad. Sci. 269: 26-33.

Zimmering, Z. (1975b) Selected methodologies for mutagenicity testing in Drosophila melanogaster. Brown University. New York. pp1-26.

Tabla 0. Sistemas de prueba para detectar alteraciones genéticas

SISTEMA	MUTACIONES		ABERRACIONES CROMOSÓMICAS				RECOMBINACIÓN INDUCIDA
	hacia adelante y/o atrás	loci específicos	Letales dominantes	Translocación	Delecciones y duplicaciones	No disyunción	
1) MICROBIANOS							
A) Procariontes							
1.- <u>Salmonella typhisurium</u>	X						
2.- <u>Escherichia coli</u>	X						
B) Hongos							
1.- <u>Neurospora</u>	X				X		
2.- <u>Aspergillus</u>	X	X			X		X
3.- <u>Levaduras</u>	X	X	X			X	X
2) PLANTAS							
A) <u>Vicia</u>				X	X	X	
B) <u>Tradescantia</u>	X			X	X	X	
3) INSECTOS							
A) <u>Drosophila</u>	X	X	X	X	X	X	X
B) <u>Habrobacon</u>	X	X	X				
C) <u>Bombyx</u>	X	X					
4) SISTEMAS DE CÉLULAS DE MAMÍFERO IN VITRO							
A) <u>Grieteo Chino</u>	X			X	X	X	
B) <u>Linfoma de ratón</u>	X			X	X	X	
5) SISTEMAS DE MAMÍFEROS IN VIVO							
A) <u>Ratón</u>		X	X	X	X	X	
B) <u>Rata</u>			X	X	X	X	
6) <u>Humano</u>				X	X	X	

* Tomado de Environmental Society (1975) Science 187: 503.

Tabla 1. Ciclo de vida de Drosophila melanogaster (25°C, 60% de humedad) *

Huevo a eclosión	1 día
Primer estadio larvario	1 día
Segundo estadio larvario	1 día
Tercer estadio larvario	2 días
Prepupa	4 horas
Pupa	5 días
Duración del ciclo	10 días.

* Tomado de Zimmering (1975b)

Tabla 2. Letales dominantes obtenidos al tratar con acetato de etilo
a los machos progenitores de Drosophila melanogaster .

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	normal	letal	%
Testigo	2106	6	0.28
1.78	2085	3	0.14
3.56	2160	3	0.13
5.34	2145	6	0.27

Tabla 3. Efectos sobre el desarrollo al tratar a los machos progenitores de Drosophila melanogaster con acetato de etilo.

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Huevos	Larvas	Pupa
Testigo	702	350	278
1.78	695	315	240
3.56	720	304	234
5.34	715	340	268

tratar con acetato de estilo a los machos progenitores de

Drosophila melanogaster, (Experimento I)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	hembras normales	hembras excepcionales no disyunción en		machos normales	machos excepcionales		total
		hembras	machos		perdida de X y Y en machos	No disyun- ción y per- dida de X en Hembras	
	yB	+	B+	++	y	yB	
Testigo	285	-	-	283	1	-	568
1.78	202	-	-	210	-	-	412
3.56	241	-	1	270	8	-	520
5.34	137	3	1	153	-	-	294

Tabla 5. Número de individuos normales y excepcionales obtenidos al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento II).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Hembras normales	Hembras excepcionales		Machos normales	Machos excepcionales		Total
		no disyunción en hembras	no disyunción en machos		perdida de X y Y en machos	no disyunción y per- dida de X en hembras	
	yB	+	B+	++	y	yB	
Testigo	227	-	-	200	-	-	427
1.78	184	-	-	229	-	-	415
3.56	128	1	-	148	2	-	389
5.34	189	-	-	168	5	-	362

Tabla 6. Número de individuos normales y excepcionales obtenidos al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento III).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Hembras normales	Hembras excepcionales		Machos normales	Machos excepcionales		Total
		no disyunción en hembras	no disyunción en machos		perdida de X y Y en machos	no disyunción y per- dida de X en hembras	
	yB	+	B+	++	y	yB	
Testigo	226	-	-	208	1	-	435
1.78	163	-	-	38	-	-	264
3.56	119	-	-	115	6	-	240
5.34	217	-	-	196	3	-	416

Tabla 7. Número y frecuencia de individuos normales y excepcionales obtenidos al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimentos I,II,III).

Concentración (x 10 ⁻³ ppp)	hembras normales	hembras excepcionales				machos normales	machos excepcionales			
		yB	†	%	B†		%	††	y	%
testigo	738	-	-	-	-	691	2	0.28	-	-
1.78	549	-	-	-	-	477	-	-	-	-
3.56	488	1	0.2*	1	0.2*	533	16	2.63*	-	-
5.34	691	1	0.14*	3	0.43*	647	8	1.22*	-	-

* p < 0.05

Tabla 8. Número de individuos y proporción sexual en la F₁ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento I)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Número de hembras	%	Número de machos	%	Total
Testigo	285	49	283	50.9	568
1.78	202	48.7	210	51.2	412
3.56	241	47.16	270	52.8	511
5.34	137	47.2	153	52.7	290

Tabla 9. Número de individuos y proporción sexual en la F₁ al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento II).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	número de hembras	%	número de machos	%	total
Testigo	200	46.83	227	53.16	427
1.78	184	44.55	229	55.44	413
3.56	128	46.37	148	53.62	276
5.34	189	52.9	168	47.05	357

Tabla 10. Número de individuos y proporción sexual en la F₁ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melano-
gaster (Experimento III).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	número de hembras	%	número de machos	%	total
Testigo	226	52.07	208	47.92	434
1.78	163	81.09	38	18.90	201
3.56	119	50.8	115	49.14	234
5.34	217	52.54	196	47.45	413

Tabla 11. Número de individuos + proporción sexual en la F₁ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimentos I, II, III)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	número de hembras	%	número de machos	%	total
Testigo	738	51.64	691	48.35	1429
1.78	549	53.5	477	46.49	1026
3.56	488	47.79	533	52.2	1021
5.34	691	51.64	647	48.35	1338

Tabla 12. Inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento I)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	viales sin letal	viales con letal	frecuencia %
Testigo	155	2	1.33
1.78	72	3	4.00
3.56	118	5	4.07
5.34	60	4	6.25

Tabla 13. Inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo al tratar con acetato de etilo a Drosophila melanogaster (Experimento II)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	viales sin letal	viales con letal	Frecuencia %
Testigo	151	1	0.6
1.78	125	5	3.8
3.56	86	5	5.4
5.34	125	8	6.06

Tabla 14. Inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo al tratar con acetato de etilo a Drosophila melanogaster (Experimento III).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	viales sin letal	viales con letal	frecuencia %
Testigo	184	3	1.6
1.78	110	3	2.72
3.56	68	3	4.4
5.34	152	8	5

Tabla 15. Inducción de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo en Drosophila melanogaster con tratamientos de acetato de etilo (Experimentos I,II,III).

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	viales sin letal	viales con letal	Frecuencia &	Frecuencia (- testigo)
Testigo	490	6	1.20	-
1.78	307	11	3.45	2.25*
3.56	270	13	4.5	3.39*
5.34	337	20	5.6	4.40*

* p < 0.05

Tabla 16. Viabilidad en la F₂ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento I)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	vial no emergencia %	vial con emergencia	Viabilidad %
Testigo	44.5	157	55.5
1.78	63.4	74	36.6
3.56	44.7	123	55.3
5.34	56.8	64	43.2

Tabla 17. Viabilidad en la F₂ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimento II)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Vial no emergencia %	Vial con emergencia	viabilidad %
Testigo	32.4	151	67.6
1.78	28	125	72
3.56	27.7	86	72.3
5.34	28	125	72

Tabla 18. Viabilidad de la F₂ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (experimento III)

Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	Vial no emergencia %	vial con emergencia	viabilidad %
Testigo	13.71	184	86.29
1.78	30.06	110	69.94
3.56	31.9	68	68.06
5.34	26.72	152	73.28

Tabla 19. Viabilidad de la F₂ obtenida al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (Experimentos I, II, III)

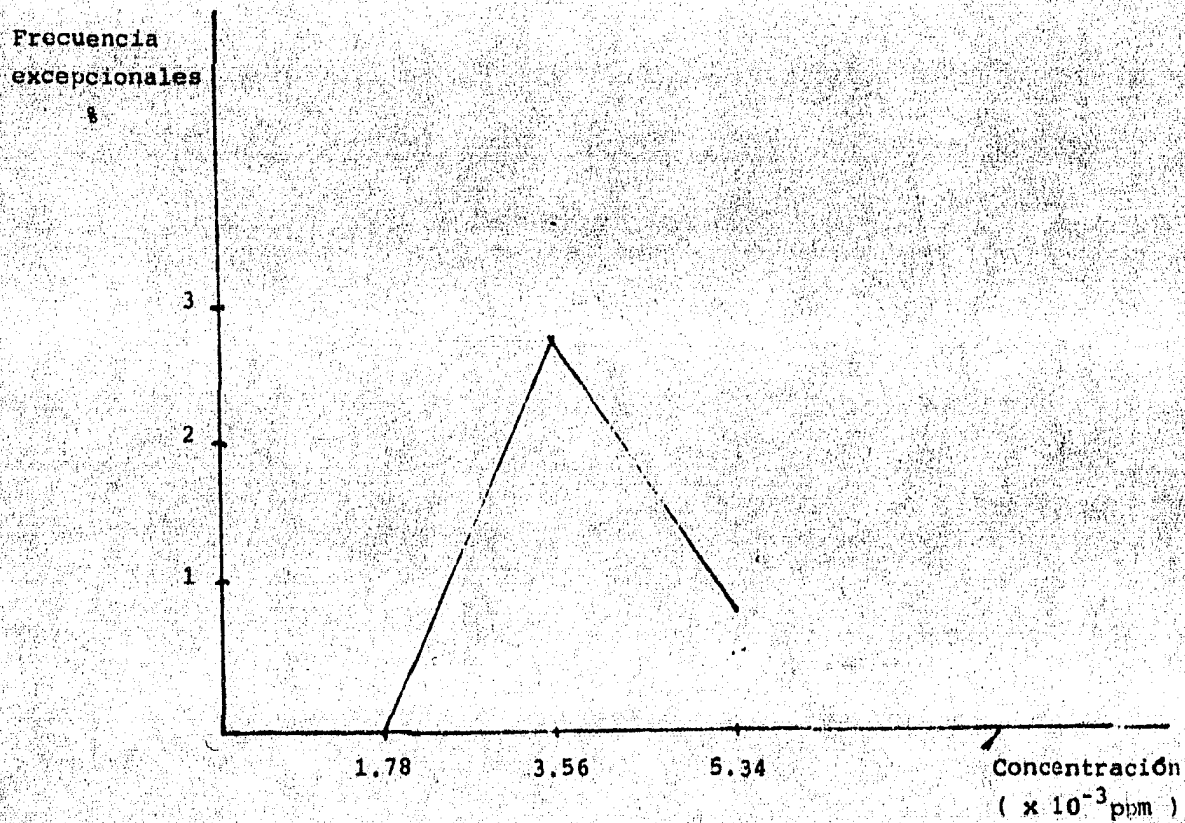
Concentración (x 10 ⁻³ ppm)	vial no emergencia 8	vial con emergencia	viabilidad 8
Testigo	30.2	490 .	69.7
1.78	40.15	307	59.51
3.56	34.7	270	65.22
5.34	37.17	337	62.82

Tabla 20. Frecuencia de no disyunción espontánea en meiosis de Drosophila melanogaster *

Cromosoma	Porcentaje de no disyunción	
	hembras	machos
X (Y)	0.08	0.06
II	0.02	0.03
III	0.01	0.03
IV	0.07	no determinado

* Tomado de Levin (1980).

GRAFICA 1 - Frecuencia de individuos excepcionales (F_1) obtenidos al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster (- testigo)



GRAFICA 2 - Frecuencia de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo obtenidas al tratar con acetato de etilo a los machos progenitores de Drosophila melanogaster. (- testigo)

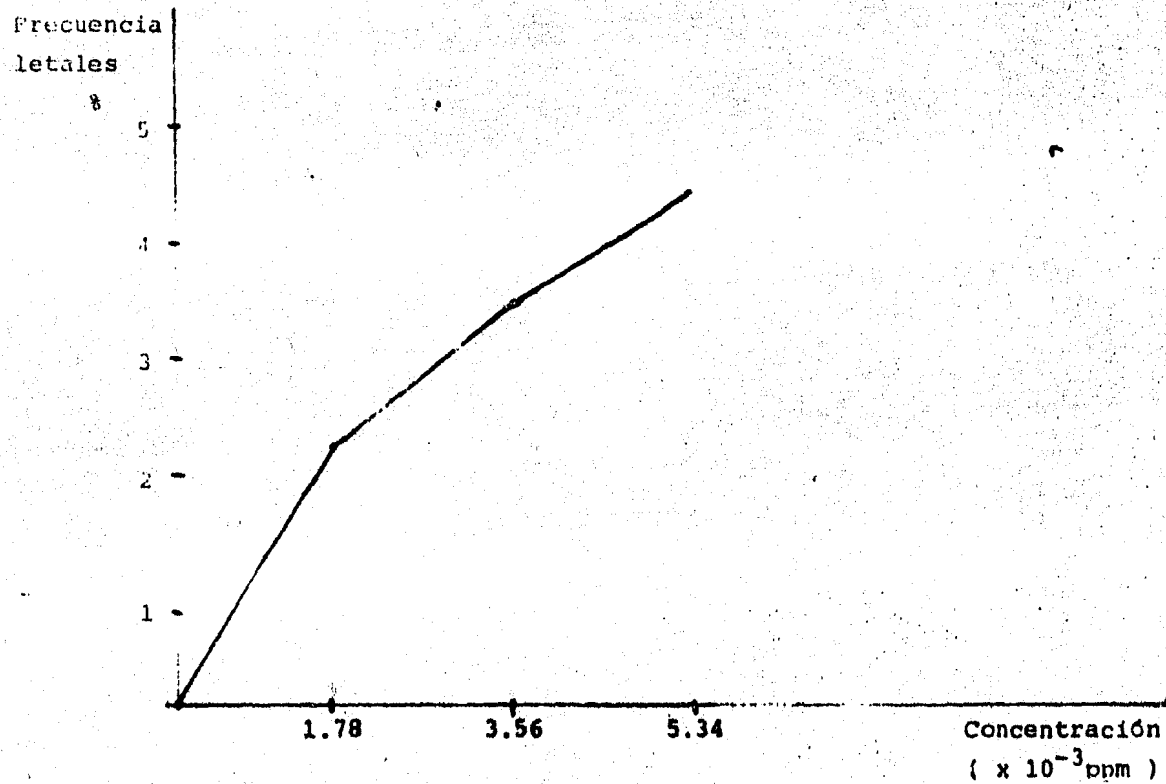
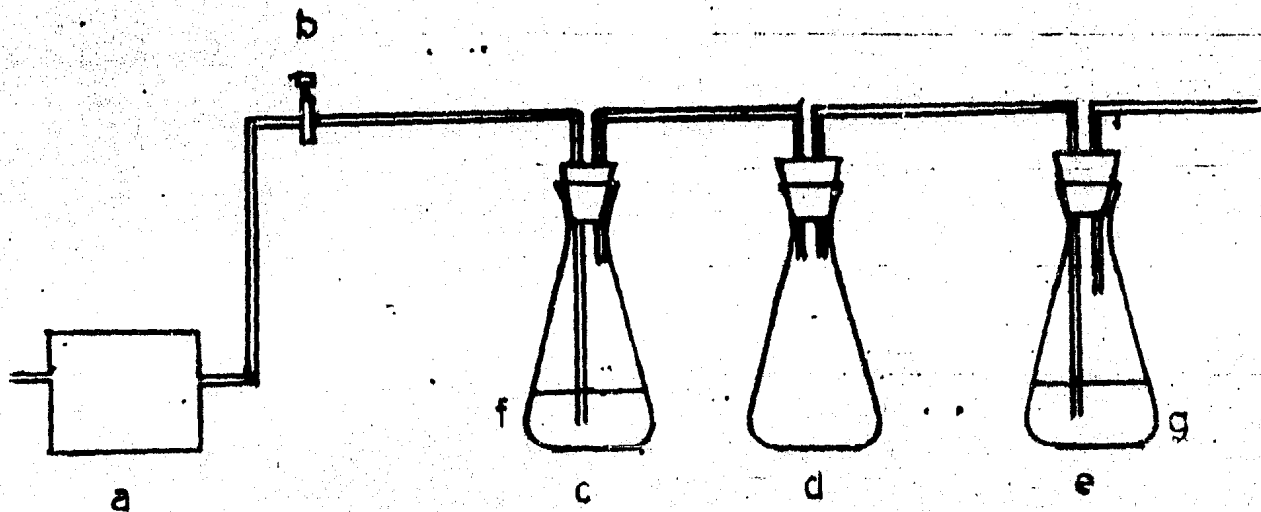


Figura 1.- Aparato de tratamiento por vía gaseosa de los aceites vegetales de Resembleda malagranza.



a bomba de pecera
 b pinza
 c cámara de evaporación
 d " de exposición
 e " de burbujeo

f sustancia
 g agua

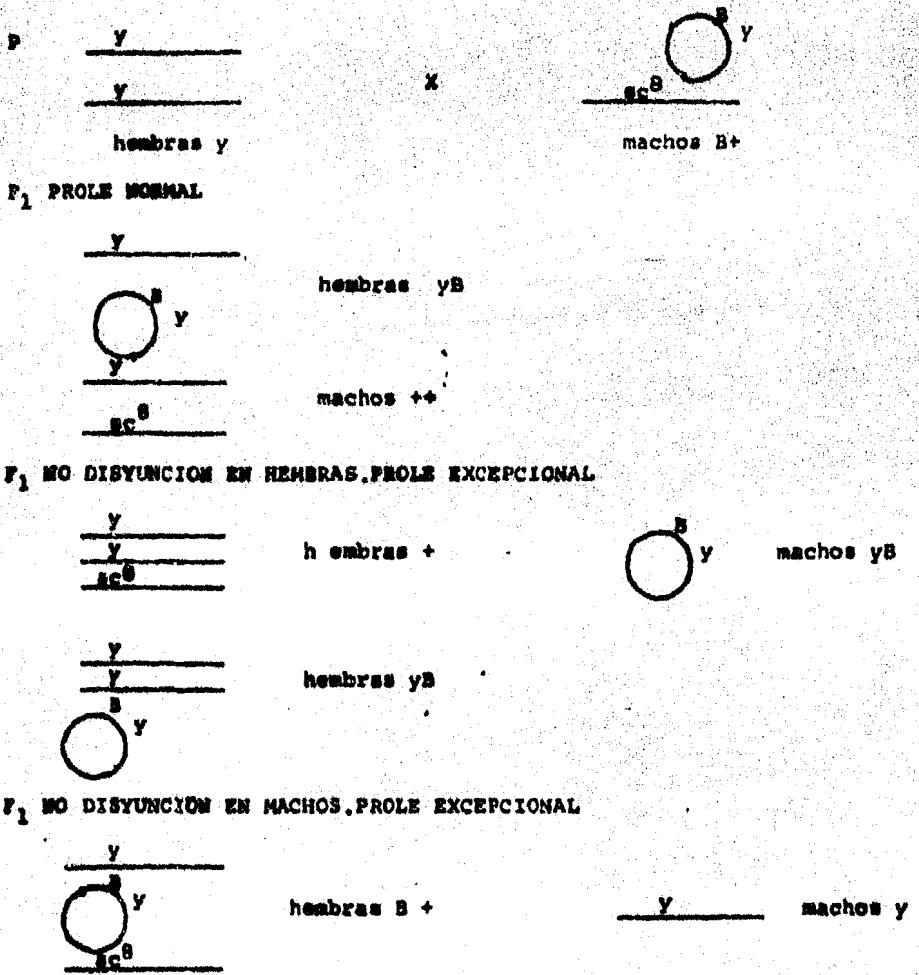
Figura 2.- Mutaciones letales dominantes *



24 horas despues del tratamiento se cuantifican los huevecillos blancos como eventos normales y los huevecillos café como eventos letales

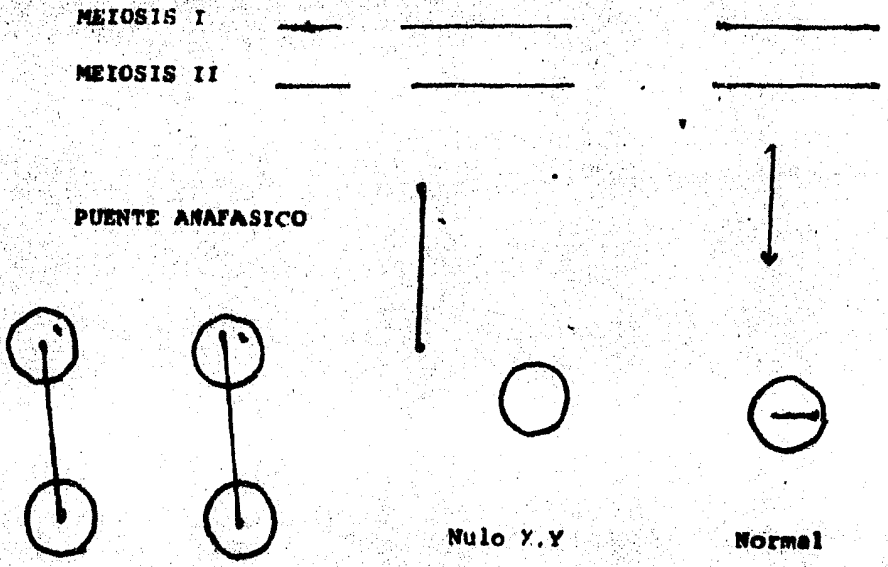
* Tomado de Zimmering, (1975 b)

FIGURA 3. NO DISYUNCIÓN *



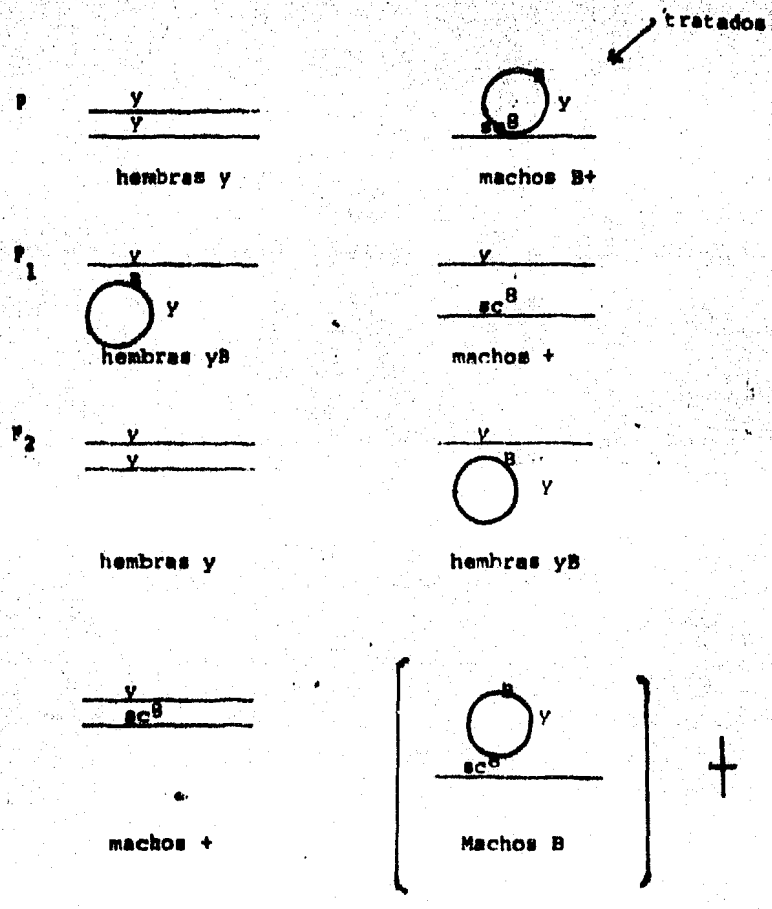
*Tomado de Rodríguez-Arnaiz (1980)

FIGURA 4. PERDIDA CROMOSOMICA EN UNA CELULA MEIOTICA *



* Tomado de Rodriguez-Arnaiz (1982)

FIGURA 5 . MUTACIONES LETALES RECESIVAS LIGADAS AL SEXO *



* Tomado de Rodríguez-Arnaiz (1982).