INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS EN *Vicia faba* COMO BIOINDICADOR DEL EFECTO DEL AGUA DE LLUVIA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Ramiro MARAVILLA-GALVÁN¹, Sandra GÓMEZ-ARROYO¹,
Rafael VILLALOBOS-PIETRINI² y Omar AMADOR MUÑOZ²

¹Laboratorio de Citogenética Ambiental y ²Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 D.F., México

(Recibido diciembre 2000, aceptado mayo 2001)

Palabras clave: lluvia ácida, hidrocarburos aromáticos policíclicos, intercambios de cromátidas hermanas

RESUMEN

Durante 1993 se colectaron diversas muestras de agua de lluvia en la Ciudad de México, al sur en Huipulco y en la Ciudad Universitaria, al oriente en Zaragoza y al norte en Tlalnepantla y se evaluó su capacidad de inducir intercambios de cromátidas hermanas (ICH) en las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, ya que es un sistema muy sensible que aporta datos seguros y confiables sobre mutágenos y que además ha probado ser un buen monitor de contaminantes ambientales. Las raíces se expusieron a las muestras de agua de lluvia colectada en un sistema de embudo abierto en el intervalo de pH de 4.7 a 5.8 y los testigos se trataron con agua destilada y agua acidulada que tienen un pH de 6.0 y 4.7, respectivamente. Las únicas muestras que presentaron incrementos significativos de ICH con relación al testigo fueron las de Huipulco ($p < 0.001$). Se ha demostrado que los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) que se encuentran en el aire ambiental provocan efectos mutagénicos en diversos sistemas biológicos de prueba, en las muestras de Huipulco se encontraron compuestos con tiempos de retención similares a los HAP, mientras que en las otras muestras no se identificaron, es muy probable que los ICH en *Vicia faba* inducidos con las muestras de lluvia colectadas se deban a estos compuestos.

Key words: acid rain, polycyclic aromatic hydrocarbons, sister chromatid exchanges

RESUMEN

In 1993, several samples of rain were collected at south (Huipulco and Ciudad Universitaria), east (Zaragoza) and north (Tlalnepantla) of Mexico City. The samples were tested by mean of the sister chromatid exchanges (SCE) in the meristematic cells of *Vicia faba* root tips, this biological test system was selected because it is sensitive to the effects of mutagens and responded positively to environmental pollutants. The roots were treated with distilled water and acidulated water in 6.0 and 4.7 pH, respectively. In Huipulco were obtained the only samples that produced an increase of the SCE significantly different to the control ($p < 0.001$). It has been shown that the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) produced mutagenic effects in several biological test systems and in the samples of Huipulco were found compounds which retention times were similar to PAH, since in the other samples were not detected, probably the induction of SCE in *Vicia faba* by the rain samples was caused by these compounds.

INTRODUCCIÓN

La atmósfera de la Ciudad de México contiene diversos contaminantes muchos de ellos en condiciones vestigiales, como es el caso de los hidrocarburos alifáticos de cadenas largas (C2-C33) y de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), algunos provienen de la quema incompleta de combustibles fósiles originados por el tráfico vehicular y por las plantas industriales. Los HAP pueden estar en la fase gaseosa y/o en la particulada y oscilan en un rango que va desde especies bicíclicas presentes en su mayoría en la gaseosa o adsorbidos a las aeropartículas hasta los que contienen seis o más anillos (Budavari 1990). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA 1984) señala 16 HAP como mutágenos y cancerígenos para el hombre. Se ha demostrado también que los derivados nitro y oxi de los HAP son carcinógenos en animales y mutagénicos en bioensayos *in vitro* (Seinfeld 1986).

Los HAP aislados del ambiente son una mezcla compleja de diferentes compuestos, su concentración decrece en el orden siguiente: niebla > nieve > lluvia de invierno > lluvia de primavera (Czuczwa *et al.* 1988).

La remoción de los compuestos de la atmósfera se lleva a cabo a través de transformaciones químicas y de la depositación húmeda y seca (Duce *et al.* 1983, Próspero *et al.* 1983). En lo que se refiere a esta última, sus principios físicos han sido extensamente investigados por Slinn *et al.* (1978) y Scott (1981). Otros autores como van Vaeck y van Cauwenberghe (1985) notaron que los alcanos y los HAP se distribuyen principalmente en partículas con diámetro entre 0.5-2.4 μm y de 0.5-1.1 μm , respectivamente. Slinn *et al.* (1978) demostraron que hay eficacia en la colisión de las gotas de lluvia con partículas cuyo radio está entre 0.1 y 10 μm .

Por otro lado, el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) ha constituido un ensayo importante en la evaluación del daño cromosómico, este fenómeno es inducido por mutágenos y/o carcinógenos (Latt 1974, Perry y Evans 1975). Taylor *et al.* (1957) y Taylor (1958) son los primeros en observar el ICH en cromosomas de *Vicia faba* marcados con timidina tritiada, sin embargo la autorradiografía tiene poca resolución. Con el desarrollo de nuevas técnicas, el ICH ha aportado una prueba rápida y sencilla en la evaluación del daño genético. Para llevar a cabo la observación del ICH es necesaria la tinción diferencial de las cromátidas hermanas, que se logra mediante la incorporación en el ADN de la 5-Bromodesoxiuridina, que es un análogo de la timina, durante dos ciclos de replicación, después de los cuales se obtiene una cromátida bifilarmente sustituida con el análogo (BB) y la otra unifilarmente sustituida (TB) (Kihlman y Kronborg 1975, Kihlman y Andersson 1982).

Considerando la importancia que tiene la lluvia ácida por la gran cantidad de contaminantes presentes en la

atmósfera y dado que no se han realizado estudios sobre su posible efecto a nivel genético, en este trabajo se evalúa su acción sobre los cromosomas de *Vicia faba* a través del intercambio de cromátidas hermanas, así como se detecta la presencia de mutágenos en muestras de lluvia colectadas en diferentes sitios de la Ciudad de México mediante el análisis por cromatografía de gases capilar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron muestras de agua de lluvia del sur (Huilpulco y Ciudad Universitaria), del oriente (Zaragoza) y del norte (Tlalnepantla) de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) durante la temporada correspondiente a 1993. Para ello se utilizó un embudo con boca ancha acoplado a botellas de vidrio etiquetadas. Los compuestos más abundantes en la depositación seca contienen potasio, sodio, calcio y magnesio, que por su tamaño son fáciles de impactar por la lluvia, mientras que los compuestos que incluyen sales de amonio y sulfatos son menos abundantes en la depositación seca y por su tamaño no son fáciles de impactar por la lluvia, aunque éstos se concentran en la pared del tubo colector (Galloway y Linkes 1976). El muestreo del agua de lluvia se hizo diariamente, se recogió a la mañana siguiente e inmediatamente se le midió el pH con un potenciómetro. Para evitar la contaminación todo el procedimiento se manejó con guantes.

Se utilizaron semillas de haba (*Vicia faba*) de la variedad minor, que se lavaron en agua corriente frotándose entre sí y se remojaron por 24 horas a temperatura constante de 21 °C. A continuación germinaron entre dos capas de algodón humedecido y se mantuvieron en obscuridad a 21 °C. Cuando aparecieron las radículas se les removió la testa y al alcanzar de 2 a 3 cm se les desprendió la cofia y se introdujeron en una solución con 100 μM de 5-Bromodesoxiuridina (BrdU), 0.1 μM de 5-Fluorodesoxiuridina (FdU) y 5 μM Uridina (Urd) por 20 horas durante el primer ciclo de replicación celular a 19 °C en la obscuridad. Transcurrido el tiempo, las radículas se trataron por tres horas con agua de lluvia y a los testigos se les expuso al agua destilada (pH 6.0) y al agua acidulada (pH 4.7) también en la obscuridad. Después se les volvió a colocar, por un segundo ciclo de replicación celular, en solución fresca de BrdU, FdU, Urd por 20 horas a 19 °C. Al cabo de ese tiempo se hicieron cortes de 2 mm de las puntas de las raíces y se sumergieron por tres horas en 0.05 % de colchicina en la obscuridad. La fijación se llevó a cabo en una hora con ácido acético al 100 % a 21 °C. Se transfirieron las raíces a etanol-ácido acético (3:1) durante 2 días a -20 °C. Transcurrido este lapso, se colocaron durante 15 minutos en etanol al 70 % y posteriormente se hidrolizaron en HCl 5N por 80 minutos a 28 °C. Los meristemos se enjuagaron al menos 3

veces en agua destilada y se tiñeron con el reactivo de Schiff, durante 12 minutos en la obscuridad. Después se les sometió a la pectinasa al 2 % disuelta en amortiguador de citratos 0.01M a pH 4.7 durante 15 minutos a 28 °C en baño de agua. En seguida se trataron con ácido acético al 45 % por 10 minutos transfiriéndose a etanol frío al 70 % por 30 minutos. Se efectuó el aplastamiento para obtener la monocapa del meristemo empleando ácido acético al 45 %. Las preparaciones se hicieron permanentes con la técnica de hielo seco (Conger y Fairchild 1953), deshidratándolas con dos cambios de butanol absoluto y finalmente se montaron en bálsamo de Canadá. Se analizaron 25 metafases de segundo ciclo celular de buena calidad y con tinción diferencial adecuada por tratamiento (300 cromosomas). Se aplicó la prueba de "t" de Student para determinar si había diferencias significativas entre los testigos y los tratados considerándose una $p < 0.001$.

La extracción de los compuestos orgánicos se llevó a cabo agregando 60 ml de diclorometano a un litro de agua de lluvia en un embudo de separación, se agitó vigorosamente y se separó la fase orgánica, este procedimiento se repitió dos veces más. Posteriormente, el acumulado de las tres extracciones se concentró en un sistema Kuderna-Danish, se aforó a 2 ml y se almacenó en el refrigerador a 0 °C hasta su análisis. La identificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos disueltos en el agua de lluvia se realizó siguiendo el método citado por Amador-Muñoz (1996).

Se analizó la secuencia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos naftaleno (Naf), acenaftileno (Actil), acenafteno (Acno), fluoreno (Fno), fenantreno (Fen), antraceno (Ant), fluoranteno (Flt), pireno (Pir), benzo(a)antraceno [B(a)A], criseno (Cris), benzo(b)fluoranteno [B(b)F], benzo(k)fluoranteno [B(k)F], benzo(a)pireno [B(a)P], indeno (1,2,3-cd)pireno [I(1,2,3-cd)P], dibenzo(a,h)antraceno [Db(ah)A] y benzo(ghi)perileno [B(ghi)P].

Antes de realizar el análisis cromatográfico, las muestras se agitaron 2 minutos en vortex. Para determinar y cuantificar a los HAP se utilizó un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Sigma 2000 con ionización de flama agregando a todas las muestras dos estándares internos: 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroantraceno y tetrafeniletieno, cada uno a concentración de 100 µg/ml de concentración, aplicando tres criterios diferentes para la identificación basados en sus tiempos de retención: 1. absoluto, 2. relativo al 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroantraceno y 3. relativo al tetrafeniletieno. Para la cuantificación, se hizo una curva de calibración de siete diluciones con los 16 HAP (29.41, 14.7, 7.35, 3.67, 1.83, 0.919 y 0.450 µg/ml) construyéndolas con valores promedios de las inyecciones hechas por cuadruplicado de cada dilución, utilizadas como estándar externo e integrando en forma lineal, con un coeficiente de correlación promedio de 0.998.

Se trabajó con una columna del tipo capilar de 30 m de longitud por 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de grosor de película 5% polidifenil y el 95% de polidimetilsiloxano, específica para la separación no sólo de los 16 HAP estudiados (Carugno y Rossi 1967, Lee *et al.* 1976, 1979). La secuencia de elución de la columna de los 16 HAP con este tipo de fase estacionaria fue igual a la obtenida por diversos autores (Bjørseth *et al.* 1979, Spitzer y Danmecker 1983, Alsberg *et al.* 1985).

RESULTADOS

Se hicieron dos series de tratamientos, en la primera se tomaron muestras de lluvia durante junio de 1993 cuyos datos se presentan en la **tabla I** donde se nota que no hay diferencias significativas de las frecuencias de ICH entre los testigos con aguas destilada y acidulada, así como tampoco en la mayor parte de las muestras colectadas en los diversos sitios de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM). Únicamente en la colecta del 13 de julio de 1993 en Huipulco se observaron resultados significativos, el pH del agua de lluvia estuvo en un rango de 4.7 a 5.8. En la **tabla II** de la segunda serie de experimentos de la lluvia obtenida durante agosto y septiembre de 1993, se notó que solamente en las dos muestras de Huipulco las frecuencias de ICH fueron significativas, con relación al testigo a $p < 0.001$ y un rango de pH de 5.1 a 5.5, en el agua acidulada tampoco se elevaron las frecuencias de ICH.

A pesar de que el agua colectada en Ciudad Universitaria y en Tlalnepantla, ambas de fecha 09-07-93, muestran incrementos en ICH, éstos no son significativos, $p > 0.01$.

Los análisis cromatográficos realizados a los concentrados de las muestras de agua de lluvia de Huipulco reflejaron la presencia de 12 de los 16 HAP reportados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América. En la **tabla III** aparecen los HAP de 4 muestras colectadas en Huipulco en distintas fechas. Mientras que en las analizadas de los otros sitios no fueron cuantificables por estar debajo del límite de detección.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se ha demostrado que la resolución de la técnica de intercambio de cromátidas hermanas mediante la tinción de Feulgen sugerida por Tempeelar *et al.* (1982) es efectiva y los resultados son reproducibles (Gómez-Arroyo *et al.* 1988a,b, Gerster y Grant 1989, Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995).

Como se muestra en las **tablas I y II**, los valores promedio de ICH/metafase en las raíces de los testigos

TABLA I. INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS (ICH) EN *Vicia faba* INDUCIDOS POR AGUA DE LLUVIA DE DIVERSOS SITIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN JULIO DE 1993

Muestras de diferentes localidades	Fecha de colecta	pH	ICH X ± EE	Valor de "t"
Testigo de agua destilada		6.0	27.25 ± 1.14	
Testigo de agua acidulada		4.7	29.64 ± 0.88	1.18 NS
Huipulco	04-07-93	5.5	32.92 ± 0.77	2.96 NS
Huipulco	13-07-93	4.7	37.92 ± 1.20	4.55 *
Ciudad				
Universitaria	09-07-93	5.8	35.48 ± 1.59	3.01 NS
Oriente	04-07-93	5.2	29.28 ± 0.96	0.96 NS
Oriente	14-07-93	5.3	26.68 ± 1.20	0.24 NS
Tlalnepantla	09-07-93	5.6	35.60 ± 1.52	3.14 NS

*p < 0.001

NS = no significativa

de este trabajo en cromosomas de constitución TB-BB (que estuvieron durante dos ciclos de replicación en presencia de BrdU) son 27 y 25, respectivamente, que concuerdan con 29 ICH/metafase obtenidos previamente por Kilhman y Andersson (1984), Gómez-Arroyo *et al.* (1988a,b), Gerster y Grant (1989) y Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini (1995).

Por otro lado, se ha descrito que en ocasiones se obtienen resultados positivos falsos en diferentes ensayos con relación a la disminución del pH ó a la presencia de

concentraciones elevadas de sales durante los períodos de tratamiento (Brusick 1986). Se ha mostrado en células de criceto chino, expuestas a pH bajo causado por la adición de ácidos acético y clorhídrico en el medio, el incremento de los rompimientos cromosómicos tanto con activación metabólica (S9 de mamíferos) como sin ella, siendo la mayor frecuencia con ácido acético a pH 5.25 (Brusick 1986). La mutagenicidad en el ensayo de linfoma de ratón aumenta considerablemente al disminuir el pH en presencia de la mezcla S-9, lo que implica que a pH

TABLA II. INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS (ICH) EN *Vicia faba* INDUCIDAS POR AGUA DE LLUVIA DE DIVERSOS SITIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN AGOSTO Y SEPTIEMBRE DE 1993

Muestras de diferentes localidades	Fecha de colecta	pH	ICH X ± EE	Valor de "t"
Testigo de agua destilada		6.0	25.06 ± 1.08	
Testigo de agua acidulada		4.7	25.46 ± 0.97	0.19 NS
Huipulco	23-08-93	5.5	36.16 ± 1.40	4.47 *
Huipulco	01-09-93	5.3	43.52 ± 1.75	6.52 *
Ciudad				
Universitaria	04-09-93	5.2	27.48 ± 1.32	1.01 NS
Ciudad				
Universitaria	12-09-93	5.1	29.48 ± 1.37	1.80 NS
Oriente	09-09-93	5.5	23.84 ± 2.46	2.48 NS
Tlalnepantla	09-09-93	5.5	23.56 ± 1.89	0.51 NS

*p < 0.001

NS = no significativa

TABLA III. COMPUESTOS ORGÁNICOS CON LOS MISMOS TIEMPOS DE RETENCIÓN QUE LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICICLICOS (HAP) ENLISTADOS Y PRESENTES EN LAS MUESTRAS DE LLUVIA ($\mu\text{g/l}$) DE HUIPULCO EN DIVERSAS FECHAS

HAP	PM	13/07/93	13/07/93	04/07/93	01/09/93
Acenaftileno	152	0.459	n.d.	n.d.	n.d.
Fluoreno	166	0.631	1.296	n.d.	0.280
Fenantreno	178	1.140	1.382	0.711	0.426
Antraceno	178	n.d.	n.d.	*	n.d.
Fluoranteno	202	n.d.	0.304	n.d.	n.d.
Pireno	202	0.403	0.481	n.d.	0.206
Benzo(a)-antraceno	228	*	0.667	n.d.	0.235
Criseno	228	*	1.415	n.d.	0.243
Benzo(b)-fluoranteno	252	n.d.	n.d.	n.d.	0.316
Benzo(k)-fluoranteno	252	n.d.	*	n.d.	0.009
Dibenzo(ah)antraceno	278	1.776	1.059	n.d.	n.d.
Benzo(ghi)perileno	276	2.018	0.606	2.402	0.554

* No cuantificable por estar por debajo del límite de detección
n.d. – no detectado

bajo se estimula la conversión de componentes de esta fracción en agentes genotóxicos (Brusick 1986). En células de linfoma de ratón L5178Y, Cifone *et al.* (1984), reportan que tratamientos por 4 horas a pH de 6.5 inducen mutaciones deficientes en timidina cinasa.

Asimismo, Morita *et al.* (1989, 1990, 1992) y Morita (1995) han descrito actividad clastogénica en tratamientos con pH bajos en células de ovario de criceto chino y una producción ligera pero significativa de ICH y de alteraciones en el ciclo de replicación celular. Se han dado algunas explicaciones sobre los mecanismos de mutación y de clastogenicidad debidos al pH, sugiriéndose que tanto la fidelidad de la replicación del ADN como la reparación pueden ser disminuidos por el pH, lo que puede provocar el daño mutagénico. También se ha mencionado que a pH bajo se producen agentes de vida corta que son mutagénicos (Brusick 1986). Por ello en este trabajo se decidió evaluar el efecto que sobre la inducción de ICH, pudiera tener el pH bajo, por medio de tratamientos con aguas aciduladas a pH 4.7, notándose que sus frecuencias no fueron significativamente diferentes a las del testigo con agua destilada cuyo pH es de 6.0 (**Tablas I y II**).

Con relación al efecto provocado por las diferentes muestras de agua de lluvia de distintos lugares de la ZMCM se evidencia que en todos los casos el pH fue ácido (**Tablas I y II**) observándose que en la colecta del 13 de julio de 1993 sólo en Huipulco a pH 4.7, la frecuencia de ICH inducidos fue significativa con respecto al testigo con agua destilada a pH 6 (**Tablas I y II**). En el caso de las aguas colectadas en septiembre del mismo año se aprecia otra vez que la inducción de ICH en Huipulco fue significativa cuyo pH fue de 5.3 y 5.5 (**Tabla II**). A este respecto, Villalobos-Pietrini *et al.* (1995,

1999) han descrito que en la atmósfera de la ZMCM existe actividad mutagénica en extractos orgánicos de aeropartículas probados en *Salmonella typhimurium*, y que ésta se debe en gran parte a la presencia de HAP, por ello el hecho de haber encontrado en las muestras de Huipulco 12 compuestos con los mismos tiempos de retención que los HAP de la mezcla estándar reportados por la Agencia Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA 1984) probablemente la producción de ICH por agua de lluvia en *Vicia faba* puede deberse al efecto de estos compuestos. No obstante, es importante señalar la presencia de otras sustancias que no fueron determinadas en las muestras y pudieron influir en la producción o en la reducción de los ICH. Cuando los HAP son emitidos a la atmósfera, se condensan sobre la superficie de partículas coexistentes (Natush 1976), este evento afecta tanto la reactividad química de la atmósfera del material particulado como a los seres vivos cuando se inhalan o ingieren (Crisp y Fisher 1980). Asimismo en períodos largos de muestreo los HAP se pierden por arrastre y formación de derivados en su interacción con contaminantes como ozono, óxidos de nitrógenos y de azufre (Pitts *et al.* 1978, Koning 1980, Countant *et al.* 1988, Kamens *et al.* 1990). Estos resultados también son consistentes con los descritos por Levenberg *et al.* (1988) en muestras de aeropartículas de lluvia, nieve y neblina colectadas en sitios urbanos en Suiza, donde encontraron mezclas complejas de 14 HAP originados principalmente por la combustión y la pirólisis de la materia orgánica, sin embargo, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno no fueron detectados. Mc Veety y Hites (1988) determinaron 11 HAP en aguas superficiales. De igual manera, este hecho se corrobora en los resultados negativos que se obtuvieron en la in-

ducción de ICH en casi todas las muestras de agua de lluvia excepto en las tres de Huipulco (**Tablas I y II**), en donde se pone de manifiesto que el efecto es probablemente provocado en su mayoría por los HAP y no por la acidez del agua. Esto se confirma en los casos de Ciudad Universitaria y de Talnepanla, del nueve de julio de 1993, en los que no se indujeron ICH de manera significativa y tampoco fueron identificados HAP dentro de los límites de detección de la metodología utilizada en este trabajo, aunque los valores de pH fueron los más elevados de todas las muestras colectadas (5.8 y 5.6, respectivamente). Por otro lado, Villalobos-Pietrini *et al.* (1995) detectaron que el mayor efecto mutagénico causado por los extractos de aeropartículas colectadas en distintos sitios de la ZMCM en *Salmonella typhimurium* se expresó al agregarles la fracción microsómica S-9 de hígado de mamífero, es decir que la acción mutagénica más importante de estos compuestos fue indirecta o promutagénica porque requieren ser activados a través del metabolismo para provocar su efecto y los HAP son promutágenos reconocidos (Cerná *et al.* 2000). A este respecto, se ha descrito que las plantas poseen sistemas microsómicos capaces de transformar promutágenos a mutágenos (Plewa y Gentile 1982) incluidos los HAP que fueron transformados por la acción microsómica S-9 de la alcachofa de Jerusalem y de bulbos de tulipán principalmente en B(a)P-quinonas y B(a)P-fenoles (Higashi 1988); las quinonas de benzo(a)pireno son producidas como mutágenos a través del ciclo redox (Berlín y Haseltine 1981, Chesis *et al.* 1984, Cavalieri y Rogan 1985, Sandermann 1988). La mutagenicidad de las quinonas se ha atribuido a la generación de radicales libres (Higashi 1988) y a la producción de especies oxigenadas activas (Nikolaou *et al.* 1984). En este sentido es importante resaltar que otra ventaja de *Vicia faba* como sistema de prueba, es el hecho de que tenga la fracción microsómica S-10, que facilita la conversión de promutágenos a mutágenos (Takehisa y Kanaya 1983, Takehisa *et al.* 1988, Gómez-Arroyo *et al.* 1995, Calderón-Segura *et al.* 1999) por ello, en este trabajo posiblemente los HAP que provocaron ICH en esta planta, sean transformados y sus metabolitos fueron capaces de causar el efecto sobre el ADN, ya que en las únicas muestras que produjeron ICH también se hallaron los HAP.

En general, se ha mencionado que la atmósfera contiene gran cantidad de contaminantes que están relacionados con la combustión incompleta de productos derivados del petróleo y de carbón en calentadores domésticos, plantas industriales y automóviles, tales como hidrocarburos alifáticos de cadena larga e hidrocarburos aromáticos policíclicos (Amador-Muñoz 1996) y sus derivados oxigenados y nitrados que han demostrado ser carcinógenos y mutágenos en ensayos *in vitro* (Seinfeld 1986). En aerosoles, estos compuestos pueden distribuirse entre la fase de gas y la particulada (Yamasaki *et al.*

1982, van Vaeck y van Cauwenberge 1985). La remoción de estos agentes químicos de la atmósfera tiene lugar a través de transformaciones químicas, así como de la depositación húmeda y seca (Duce *et al.* 1983, Prospero *et al.* 1983). Los principios físicos de la depositación húmeda han sido estudiados por Slinn *et al.* (1978) y Scott (1981) cuyos modelos se basan en las características que existen entre el gas y la partícula que es removida de compuestos químicos por precipitación. Slinn *et al.* (1978) demostraron que la eficiencia de colisión de una gota de lluvia o de un copo de nieve con una partícula es una función que depende del radio de la partícula (0.1 y 10 μm).

AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Josefina Cortés por su valiosa colaboración en la realización de la técnica de intercambio de cromátidas hermanas.

REFERENCIAS

- Alsberg T., Stenberg U., Westerholm R., Strandell M., Rannung U., Sundvall A., Romert L., Bernson V., Pettersson B., Toftgard R., Frazén B., Jansson M., Gustafsson J.A., Egebäck K.E. y Tajle G. (1985). Chemical and biological characterization of organic material from gasoline exhaust particles. *Environ. Sci. Technol.* 19, 43-50.
- Amador-Muñoz O. (1996). Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la fracción orgánica asociada a las aeropartículas de la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.
- Berlin V. y Haseltine W.A. (1981). Reduction of adriamycin to a semiquinone-free radical by NADPH cytochrome p-450 reductase produce DNA cleavage in a reaction mediated by molecular oxygen. *J. Biol. Chem.* 10, 4747-4756.
- Brusick D. (1986). Genotoxic effects in cultured mammalian cells produced by low pH treatment conditions and increased ion concentrations. *Environ. Mutagen.* 8, 879-886.
- Bjørseth A., Lunde G. y Lindskeog A. (1979). Long-range transport of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Atmos. Environ.* 13, 45-53.
- Budavari S. (1990). *The Merck Index*. Merck, Radhway, Nueva Jersey.
- Calderón-Segura M.E., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R. y Espinosa-Ramírez M. (1999). *In vivo* and *in vitro* promutagen activation by *Vicia faba* of thiocarbamate herbicides molinate and butylate to products inducing sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* 438, 81-88.
- Carugno N. y Rossi S. (1967). Evaluation of polynuclear hydrocarbons in cigarette by glass capillary columns. *J. Gas Chromat.* 6, 103-106.
- Cavalieri E. y Rogan E. (1985). Roles of radical cations in aromatic hydrocarbon carcinogenesis. *Environ. Health*

- Perspect. 64, 69-84.
- Cerná M., Pochmanová D., Pastorková A., Benes I., Lenicek J., Topinka J. y Binková B. (2000). Genotoxicity of urban air pollutants in the Czech Republic. Part. I. Bacterial mutagenic potencies of organic compounds adsorbed on PM10 particulates. *Mutat. Res.* 469, 71-82.
- Chesis P.L., Levin D.E., Smith M.T., Ernster L. y Ames B.N. (1984). Mutagenicity of quinones: pathways of metabolic activations and detoxification. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 81, 1696-1700.
- Cifone M.A., Fisher J. y Myhr B. (1984). Evidence for pH effects in the L5178Y TK+/-mouse lymphoma forward mutation assay. *Environ. Mutagen.* 6, 423 (Abstract).
- Conger A.D. y Fairchild L.M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technol.* 28, 281-283.
- Countant R.W., Brown L., Chuang J.G., Riggin R.M. y Lewis R.G. (1988). Phase distribution and artifact formations in ambient air-sampling for PAH. *Atmos. Environ.* 22, 403-409.
- Crisp C.J. y Fisher G.L. (1980). Mutagenicity of airborne particles. *Mutat. Res.* 76, 143-164.
- Czuczwa J., Levenberg C. y Giger W. (1988). Seasonal and temporal changes of organic compounds in rain and snow. *Atmos. Environ.* 22, 234-238.
- Duce A.R., Mohnen V.A., Zimmerman P.R., Grosjean D., Cautreels W., Chatfield R., Jaenicke R., Ogree J.A., Pellizzari E.D. y Wallace G.T. (1983). Organic material in the global troposphere. *Rev. Geophys. Space Phys.* 21, 921-952.
- Galloway J.N., Linkes G.E. y Edgerton E.S. (1976). Acid precipitation in north-eastern United States: pH and acidity. *Science* 194, 722-724.
- Gerster J.L. y Grant W.F. (1989). A cytogenetic study of factors affecting sister chromatid differentiation in *Vicia faba* and *Hordeum vulgare*. *Cytologia* 54, 523-537.
- Gómez-Arroyo S., Hernández-García A. y Villalobos-Pietrini R. (1988a). Induction of sister chromatid exchanges in *Vicia faba* by arsenic-contaminated drinking water. *Mutat. Res.* 208, 219-224.
- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz P., Cortés-Eslava J. y Villalobos-Pietrini R. (1988b). *Vicia faba* sister chromatid exchanges of organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, oxydemeton-methyl, azinphos methyl and phoxin. *Cytologia* 53, 627-634.
- Gómez-Arroyo S. y Villalobos-Pietrini R. (1995). Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in *Vicia faba* as monitor of environmental pollutants. En: *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change* (F.M. Butterworth, L.D. Corkum y J. Guzmán-Rincón, Eds.). Plenum Press, Nueva York, pp. 95-113.
- Gómez-Arroyo S., Calderón-Segura M.E. y Villalobos-Pietrini R. (1995). Sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures induced by propoxur following plant activation by *Vicia faba*. *Environ. Mol. Mutagen.* 26, 324-330.
- Higashi K. (1988). Metabolic activation of environmental chemicals by microsomal enzymes of higher plants. *Mutat. Res.* 197, 273-288.
- Kamens R.M., Guo J.Z. y Stephen R.M. (1990). PAH degradation by heterogeneous reactions with N₂O₅ on atmospheric particles. *Atmos. Environ. Sci. Technol.* 12, 909-915.
- Kihlman B.A. y Kronborg D. (1975). Sister chromatid exchanges in *Vicia faba*. I. Demonstration by a modified fluorescent plus Giemsa (FPG) technique. *Chromosoma* 51, 1-10.
- Kihlman B.A. y Andersson H.C. (1982). Sister chromatid exchanges in plants. En: *Sister chromatid exchanges* (S. Wolff, Ed.). Wiley, Nueva York, pp. 243-265.
- Kihlman B.A. y Andersson H.C. (1984). Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. En: *Handbook of mutagenicity test procedures* (B.J. Kilbey, M. Legator, M. Nichols y C. Ramel, Eds.). Elsevier, Amsterdam, pp. 531-554.
- Koning J. (1980). Testing a high volume air samples for quantitative collection of PAH. *Atmos. Environ.* 14, 609-613.
- Latt S.A. (1974). Sister chromatid exchanges indices of human chromosomes damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 71, 3162-3166.
- Lee M.L., Novotny M. y Bartle K.D. (1976). Gas chromatographic/mass spectrometric and nuclear magnetic resonance spectrometric studies on carcinogenic polynuclear aromatic hydrocarbons in tobacco and marijuana smoke condensate. *Anal. Chem.* 48, 405-416.
- Lee M.L., Vassilaros D.L., White C.M. y Novotny M. (1979). Retention indices for programmed temperature capillary-column gas chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal. Chem.* 51, 768-776.
- Levenberger C., Czuczwa J., Heyerdahl E. y Giger W. (1988). Aliphatic and polycyclic hydrocarbons in urban rain, snow and fog. *Atmos. Environ.* 22, 695-705.
- Mc Veety B.D. y Hites R.A. (1988). Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to water surfaces: a mass balance approach. *Atmos. Environ.* 22, 511-536.
- Morita T., Watanabe Y., Takeda K. y Okumura K. (1989). Effects of pH in the *in vitro* chromosomal aberrations test. *Mutat. Res.* 225, 55-60.
- Morita T., Takeda K. y Okumura K. (1990). Evaluation of clastogenicity formic acid, acetic acid, and lactic acid on cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* 268, 297-305.
- Morita T., Takeda K. y Okumura K. (1992). Evaluation of clastogenicity of low pH to various cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* 268, 297-305.
- Morita T. (1995). Low pH leads to sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations, and its clastogenicity is S-dependent. *Mutat. Res.* 334, 301-308.
- Natush D.F.S. (1976). Characterization of atmospheric pollutants from power plants. *Proceedings of the second federal conference on the Great Lakes: Great Lakes Basin Commission Ann. Arbor Science, Ann Arbor*, 114 p.
- Nikolaou K., Masclat P. y Mouvier G. (1984). Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbons in the

- atmosphere. A critical review. *Sci. Total Environ.* 32, 103-132.
- Perry P. y Evans H.J. (1975). Cytological detection of mutagen carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature (London)* 258, 121-125.
- Pitts J.N., van Cauwenberghe K.A., Grosjean D., Schmid J.P., Fitz D.R., Belser W.L., Knudson G.B. y Hynds P.M. (1978). Atmospheric reactions of polycyclic aromatic hydrocarbons: facile formation of mutagenic nitroderivatives. *Science* 202, 512-519.
- Plewa M.J. y Gentile J. M. (1982). The activation of chemicals into mutagens by green plants. En: *Chemicals mutagens, principles and methods for their detection* (F.J. de Serres y A. Hollander, Eds). Vol 7, Plenum, Nueva York, pp. 401-420.
- Prospero J.L., Charlston R.J., Mohnen V., Jaenicke R., Delany A.C., Moyers J., Zoller W. y Tahn K. (1983). The atmospheric aerosol system: an overview. *Rev. Geophys. Phys.* 21, 1607-1629.
- Sandermann H. (1988). Mutagenic effect of xenobiotics by plant enzymes. *Mutat. Res.* 197, 183-194.
- Scott B.C. (1981). Modeling wet deposition. En: *Atmospheric pollutants in natural waters* (S.J. Eisenreich, Ed.), Ann Arbor Science, Ann Arbor, pp. 3-21.
- Seinfeld J.H. (1986). *Atmospheric chemistry and physics of air pollution*. Wiley, Nueva York, 137 p.
- Slinn W.G.N., Hasse L., Hincks B.B., Hogan A.W., Lal D., Liss P.S., Munnich K.O., Sehmel G.A. y Vittori D. (1978). Some aspects of the transfer of atmospheric trace constituents past the air-sea interface. *Atmos. Environ.* 12, 2055-2087.
- Spitzer T. y Danmecker W. (1983). Membrane filters as adsorbents for PAH during high volume sampling of air particulate matter. *Anal. Chem.* 55, 2229-2228.
- Takehisa S. y Kanaya N. (1983). A comparison of *Vicia faba*-root S10 and rat-liver S9 activation of ethanol, maleic hydrazide and cyclophosphamide as measured by sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* 124, 145-151.
- Takehisa S., Kanaya N. y Rieger R. (1988). Promutagen activation by *Vicia faba*, an assay based on the induction of sister-chromatid exchange in Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* 197, 195-205.
- Taylor J.H., Woods P.S. y Hughes W.L. (1957). The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labelling thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 43, 122-128.
- Taylor J.H. (1958). Sister chromatid exchanges in tritium-labelling thymidine chromosomes. *Genetics* 43, 515-529.
- Teempelar M.J., de Both M.T.J. y Vesteegh J.E.G. (1982). Measurement of SCE frequencies in plant: a simple Feulgen staining procedure for *Vicia faba*. *Mutat. Res.* 103, 321-326.
- USEPA (Environmental Protection Agency) (1984). Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants. Vol. II. Research Triangle Park, NC. Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office, Report No. EPA-600/8-84-028.
- van Vaeck L. y van Cauwenberge K.A. (1985). Characteristic parameters of particles size distributions of primary organics constituents of ambient aerosols. *Environ. Sci. Technol.* 19, 707-716.
- Villalobos-Pietrini R., Blanco S. y Gómez-Arroyo, S. (1995). Mutagenicity assessment of airborne particles in Mexico City. *Atmos. Environ.* 29, 517-524.
- Villalobos-Pietrini R., Blanco-Jiménez S. y Gómez-Arroyo, S. (1999). Direct- and indirect-acting mutagens of airborne particles from south-western México City. *Toxicol. Environ. Chem.* 70, 103-113.
- Yamasaki H., Kuwuata K. y Miyamoto H. (1982). Effects of ambient temperature on aspects of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 16, 189-194.