BOL. SOC. BIOL. DE CONCEPCION, TOMO XLII, pp. 287-306 — 1969-1970

VARIACIONES CARIOTIPICAS EN *VICIA FABA* INDUCIDAS POR ACCION DE ALGUNAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE IMPORTANCIA TERAPEUTICA

POR

M. I. ALARCON y N. MOYA
Departamento de Biología Celular
Instituto Central de Biología
Universidad de Concepción

INTRODUCCION

Estudios biológicos amplios en cariotipía de *Vicia faba* se han dado a conocer desde hace tiempo en las informaciones científicas internacionales. En las investigaciones actuales alcanza especial interés dado que numerosos agentes antimitóticos se han usado con relativo éxito en terapia de cáncer. (Holmes, B. E. y col. 1954; Jensen, W. A., 1955; Kihlman, B. A., 1955; 1956, 1960 y 1964; Savage, J. R. K. y col., 1959; Swanson, C. P. y Merz, T., 1959; Chayen, J., 1960; Evans, H. J., 1960; Galinsky, I., 1960; Woodard, J. y otros, 1960; Merz, T., 1961; Taylor, J. H., 1963; Jakob, K. M. y Trosko, J. E., 1964; Natarajan, A. T. y Rao, N. R., 1964; Mattingly, E., 1963; y muchos otros).

Este sustrato biológico es de fácil manipulación, de ahí que represente un excelente material que permite interpretar la fenomenología que acontece en la división celular en gran medida. Se obtiene una exacta determinación de la morfología de la carioquinesis normal y las subsecuentes alteraciones que puede sufrir por efecto de factores naturales, aberrantes o condiciones de experimentación previamente fijadas.

Muchos investigadores han elegido este sustrato para explicar acciones sobre el fenómeno carioquinético, ya sea determinando un efecto mitostático o mitodepresivo; o bien sustancias que ejercen efectos mitoclásicos o efectos cromatoclásicos. (Kihlman, B. A., 1949, 1955 y 1956; Ordin, L. y Kramer, J. P., 1956; Evans, H. J. y otros 1958; Evans, H. J. y Savage, J. R. K.; 1958; Savage, J. R. K. y Evans, H. J., 1959; Evans, H. J. y Bigger, E. R. L., 1960; Wolff, S., 1963; Bell, S. L. y Wolff, S., 1964; Heiner, R. E., 1964; Frances, E., 1964; y Rieger, R. y Michaelis, A., 1964). Ellos no sólo han contribuído a explicar este tipo de fenómenos citogenéticos, sino que también han representado un rol importante en la dilucidación de problemas en fisiología celular vegetal (Jensen, W. A., 1955; Ordin, L. y Kramer, J. P. 1956; Bal, A. K. y Gross, P. R., 1964; Mattingly, E. y Jakob, K. M., 1964).

Hoy día constituye material de uso frecuente también en toda la línea que conduce a la interpretación de los complejos problemas de la síntesis proteica y su control a través de los ácidos nucleicos (Deeley, E. M. y otros, 1956; Jensen, W. A. 1957; Chayen, J., 1960; Mattingly, E. y Jakob, K. M., 1964; Das, N. K., y otros, 1965; Evans, H. J., 1965; Odmark, G. y Kihlman, B. A., 1965; Scott, D. y Evans, H. J. 1965; Bell, S. L. y Wolff, S., 1966.

La recopilación bibliográfica efectuada, mucha de la cual ya ha sido citada, informa de una gran cantidad de alteraciones inducidas sobre el proceso mitótico, destacando los efectos mitoinhibidores de muchas sustancias químicas que tienen como base una amplia gama de núcleos químicos fundamentales, trabajos realizados con finalidades diversas en el campo de la citogenética y de la biología molecular.

Se estima de interés constatar la acción de diversas sustancias sobre cariotipos de *Vicia faba,* sustancias que tienen de común el ser de uso frecuente en terapéutica.

Se ha elegido sustancias que tienen como base núcleos químicos que muchas veces son utilizados en gran variedad de sustancias derivadas.

La posibilidad manifiesta de alteración en el proceso carioquinético, ya sea mitoclásico o cromatoclásico, llevará a un estudio exhaustivo del núcleo químico que revele acción.

TECNICAS Y DESCRIPCION DEL MATERIAL EMPLEADO

1.— *Preparación de meristemas radiculares de Vicia faba.*

Se ha elegido meristemas radiculares de *Vicia faba* por la facilidad de visualizar sus cromosomas, debido a su gran tamaño (7,4 u - 18 u) y escaso número (6 pares), en los cuales se puede detectar con comodidad alteraciones.

Semillas de *Vicia faba* empleadas para la siembra experimental, se sumergen previamente en agua por 24 horas, para acelerar el proceso de desarrollo. Se colocan durante 72 horas en placas de Petri provistas de discos de papel filtro humedecidos en agua. Con este tratamiento los meristemas radiculares formados alcanzan una longitud de 2 a 3 centímetros.

En estas condiciones los meristemas se someten a la acción de sustancias químicas de importancia farmacológica preparando medios de germinación en los que se incluye la dosis fisiológica simple utilizada en terapéutica humana, que para este trabajo representa la dosis de referencia y que se estima debe ser una dosis muy alta para el tejido meristemático vegetal.

Para suministrar con eficiencia el fármaco, se adaptaron cubetas de tinción con capacidad de 150 ml. (Fig. 1), en ellas se incluye la dosis de la sustancia experimentada. Los meristemas en desarrollo se sumergen hasta la mitad en el medio así preparado. Se mantienen las semillas en este tratamiento durante 8 horas, luego se trasladan a cubetas similares con agua destilada y se mantienen por un período de recuperación de 24 horas (Kihlman, B. A., 1955).

Cumplida esta fase operativa se procede a cortar los meristemas y se fijan en solución Carnoy.

Para proceder al estudio cariotípico se emplea la clásica técnica de Feulgen (Gretchen y Humason, 1962).

2.— *Método empleado para recuento, observación y determinación de los estados fásicos.*

Para efectuar la observación de las preparaciones con relativa comodidad se sigue la siguiente pauta:

Se procede a efectuar una delineación de la preparación mediante una plumilla 141 F Soennecken, sobre el cubreobjeto empleando tinta china diluída que permita la transparencia de la línea. El trazado de las líneas se hace de un grosor de línea de 0,1 mm. y dejando espacios de 0.5 mm. Esto permite disponer de una guía en el conteo de núcleos, y, puede determinarse el número de núcleos por línea y por espacio.

Para obtener el número de células de la preparación, se cuenta los núcleos correspondientes a 10 líneas y 10 espacios elegidos al azar y finalmente se promedia el número de núcleos por espacio y por línea.

Resulta ventajoso el método ideado, ya que permite determinar además, el número de las distintas fases del proceso carioquinético en cada línea y cada espacio, pudiendo precisar así la frecuencia de alteraciones que se suceden.

CONSIDERACIONES GENERALES, PREVIAS A LOS RESULTADOS

Como se ha señalado *Vicia faba* presenta un valor 2n = 12; comprendiendo los seis pares cromosómicos según Evans, H. J., 1960, que se distribuyen como sigue:

1 par metacéntrico: (M), con un brazo largo (M_1) y uno corto (M_2). M_2 caracterizado por la constricción secundaria de la zona de organización nucleolar.

5 pares acrocéntricos: (S), similares en longitud. Tres de ellos (S_a, S_b, S_c), se diferencian poco en sus longitudes, siendo casi iguales S_b y S_c.

Según Rao, Nagaraja R. y Natarajan, A. T., 1967, la longitud de los cromosomas de *Vicia faba* es la siguiente:

$M = 18.9$ u.
$S_a = 9.5$ u.
$S_b = 8.6$ u.
$S_c = 8.1$ u.
$S_d = 7.9$ u.
$S_e = 7.4$ u.

Esquemáticamente corresponde a las morfologías detalladas por Evans, H. J. (Fig. 2).

La nomenclatura de *Vicia faba* ha tenido variaciones sensibles en algunas nominaciones, que si bien es cierto no altera la conceptuación fundamental, los nombres dados al complejo cromosómico se presta para confusión; en la tabla siguiente de Michaelis, A. y Rieger, R., 1968, que hemos modificado, se resume las nominaciones más frecuentes.

Tabla 1

NOMENCLATURA CARIOTIPICA USADA PARA DESIGNAR LOS CROMOSOMAS DE *VICIA FABA*

Autor	Cromosoma Metacéntrico	Cromosomas Acrocéntricos				
Michaelis y Rieger	1	II	III	IV	V	VI
Tjio y Levan	I	II	III	V	IV	VI
Ockey	I	2	4	3	5	6
Evans	M	Sa	Sb	Sc	Se	Sd
Rao y Natarajan	M	Sa	Sb_1	Sb_2	Sb_3	Sc
Lab. I. C. B.	M	Sa	Sb	Sc	Sd	Sc

Tabla 2

NUCLEOS QUIMICOS EXPERIMENTADOS EN ESTRUCTURAS CARIOQUINETICAS DE *VICIA FABA* Y SU CLASIFICACION DE ACUERDO A LA ACCION FARMACOLOGICA DE CADA UNO DE ELLOS

Núcleo químico	Fármaco usado	Clasificación farmacodinámica
Difenol	Resorcina	Antiséptico y desinfectante
Serie aliciclíca	Hidrato de terpina	Antiséptico y desinfectante
Derivado pirazólico	Antipirina	Analgésico y antipirético
Derivados hidroxiácidos	Salicilato de sodio	Analgésico y antipirético
	Acido Acetil salicílico	Analgésico y antipirético
Alcaloide opiáceo	Clorhidrato de morfina	Analgésico
Alcaloide tropánico	Sulfato de atropina	Parasimpático-lítico
Ureídos cíclicos	Barbital	Sedante hipnótico
	Luminal	Sedante hipnótico
Carbohidrato sulfoderivado	Dicumarol	Anticoagulante
Derivado de hidrazina	Iproniazida	Tubérculo-estático

Tabla 3

DOSIFICACION DE FARMACOS EMPLEADOS EN EL TRATAMIENTO DE MERISTEMAS RADICULARES DE *VICIA FABA*

Fármaco usado	Dosis empleada (1)	Tiempo de acción Horas	Tiempo de recuperación Horas
Resorcina	0.5 gr.	8	24
Hidrato de terpina	0.3 gr.	8	24
Antipirina	0.5 gr.	8	24
Salicilato de sodio	2.0 gr.	8	24
Ac. acetil salicílico	1.0 gr.	8	24
Clorhidrato de morfina	0.03 gr.	8	24
Sulfato de atropina	0.001 gr.	8	24
Barbital	0.5 gr.	8	24
Luminal	0.2 gr.	8	24
Dicumarol	0.05 gr.	8	24
Iproniazida	0.05 gr.	8	24

(1) Las dosis empleadas, según la técnica adoptada se diluye en 150 ml.

Tabla Nº 4

FRECUENCIA MITOTICA EN LOS MERISTEMAS RADICULARES DE *VICIA FABA*, TRATADOS CON AGENTES QUIMICOS

Agente empleado	Número preparaciones analizadas	Promedio células observadas	Promedio mitósis observadas	Nº de profases	Nº de metafases	Nº de anafases	Nº de telofases
Preparación control	20	27.340	800	545	107	56	92
Resorcina	36	65.468	494	296	85	53	60
Hidrato de Terpina	25	22.264	266	193	43	16	14
Antipirina	24	11.273	386	266	60	27	33
Salicilato de sodio	15	24.659	1.376	927	278	96	75
Acido acetilsalicílico	29	20.832	231	101	112	7	11
Clorhidrato de morfina	18	25.844	45	38	4	1	12
Sulfato de atropina	25	31.153	15	13	1	1	0
Barbital	26	34.313	179	58	60	34	27
Luminal	18	21.563	13	7	4	1	1
Dicumarol	25	26.306	1.168	519	350	107	192
Iproniazida	21	31.250	66	34	29	3	0

Tabla 5

NUMERO Y PORCENTAJE DE ALTERACIONES PRESENTADAS EN TRATAMIENTO DE MERISTEMAS RADICULARES DE *VICIA FABA* CON AGENTES QUIMICOS

Agente	Nº células mitóticas analizadas	Número alteraciones observadas	% alteraciones observadas (*)
Control	800	—	—
Resorcina	494	46	23.2
Hidrato de terpina	266	28	38.3
Antipirina	386	—	—
Salicilato de sodio	1.376	60	24.1
Acido acetil salicílico	231	45	34.6
Clorhidrato de morfina	45	—	—
Sulfato de atropina	15	—	—
Barbital	179	—	—
Luminal	13	—	—
Dicumarol	1.168	—	—
Iproniazida	66	2	6.2

(*) El cálculo de porcentaje de alteraciones se hizo excluyendo los estados de profase.

ANALISIS DE LAS ALTERACIONES OBSERVADAS EN LOS MERISTEMAS RADICULARES DE *VICIA FABA* POR ACCION DE DIVERSOS AGENTES QUIMICOS

Preparación control.— Mitosis frecuentes, estados divisionales en todas sus fases. Cromosomas de acuerdo a lo descrito por otros autores. Caracterizado por 12 cromosomas: 1 par metacéntrico y 5 pares acrocéntricos, difícil de distinguir entre ellos debido a su longitud muy pareja (Fig. 3).

Resorcina.— Acción mitodepresiva con marcada ortomitosis. La desintegración de la organización cromosómica y las atipías en las figuras carioquinéticas revelan un significativo efecto cromatoclásico. Metafases con rupturas de cromosomas y cromátidas (Fig. 4). Anafases con estructuras cromatínicas anulares en la zona ecuatorial (Fig. 5). También, anafases con estas estructuras en los polos, unidas a los grupos cromosómicos en separación (Fig. 6). Observación frecuente de puentes cromatínicos simples y dobles en los estados de telofase (Figs. 7 y 8). También se observan cromosomas orientados hacia los polos al final de la telofase (Fig. 9).

Hidrato de terpina.— Inhibición del proceso carioquinético en las condiciones dadas, en un 33%. Notable engrosamiento de los cromosomas en estados prometafásicos (Fig. 10). En metafase, su longitud se reduce aproximadamente en un tercio con relación a la normal, engrosando en una proporción similar (Fig. 11); frecuentes anillos metafásicos (Fig. 12). Anafases con cromosomas igualmente gruesos y provistos también con puentes de cromatina simples y dobles.

Antipirina.— Inhibición mitótica en un 50%; figuras mitóticas normales.

Salicilato de sodio.— Incremento del índice mitótico en comparación con el control. Algunos estados metafásicos con cromosomas más cortos y gruesos que los normales. Otros con leves curvaturas terminales (Figs. 13 y 14); fragmentación cromosómica en casi todas sus fases (efecto cromatoclásico amplio).

Acido acetil salicílico.— Inhibición miótica. Se reduce el proceso a un 25% del normal. Algunas metafases con cromosomas bastoniformes, con sus extremos curvos y de mayor condensación cromatínica (Figs. 15 y 16). Telofases con ocasionales puentes cromatínicos y además material cromatínico fragmentado.

Clorhidrato de morfina.— Inhibición del proceso mitótico, se reduce la actividad carioquinética a un 5%. Las escasas figuras mitóticas son normales.

Sulfato de atropina.— Fuerte inhibición del proceso divisional. Las escasas figuras presentan cariotipía normal.

Barbital.— Inhibición a un 25% del proceso divisional; sus figuras muestran normalidad.

Luminal.— Inhibición marcada del índice mitótico. Cariotipía normal.

Dicumarol.— Incremento del índice carioquinético. Cariotipía normal.

Iproniazida.— Inhibición marcada de la carioquinesis; sus distintas figuras presentan cariotipía normal.

DISCUSION DE RESULTADOS

Mediante la técnica descrita con anterioridad, se ha podido efectuar un análisis de los estados carioquinéticos de meristemas radiculares de *Vicia faba* en los cultivos normales, apreciándose resultados similares a los encontrados por otros investigadores (Jensen, W. A., 1955; Evans, H. J., 1960; Woodard, J. y otros, 1960), como también un análisis de aquellos meristemas que se tratan previamente, como se detalla en la técnica, con sustancias químicas de importancia farmacológica (Kihlman, B. A., 1949 y 1964; Merz, T., 1961; Taylor, J. H. 1963; Natarajan, A. T. y Rao, N., 1964; Frances, E., 1964; Rao, N. y Natarajan, A. T., 1967) (Tablas 2 y 3).

Sin lugar a dudas el recuento de los estados divisionales en la forma señalada, permite establecer una buena comparación de las variaciones que provocan las acciones químicas, en forma, distribución y fragmentación de material cromosómico, como así mismo la inhibición o potenciación del proceso como se puede observar al analizar la Tabla 4.

El estudio de alteraciones observadas (Tabla 5), permite establecer que por acción de los agentes químicos utilizados se pueden inducir alteraciones, en muchos casos altamente significativas.

Al hacer un análisis del procedimiento usado y relacionarlo con la frecuencia mitótica observada, tanto en preparaciones controles como en aquellas derivadas de meristemas que habían sido sometidos a acciones de diversas sustancias químicas, cabe concluír, que la inducción de alteraciones en ciclo carioquinético es bastante frecuente mediante esta técnica. Esto está en concordancia con trabajos efectuados por otros investigadores (Avery, A. G., 1937; Witkus, E. R. y Berger, C. A., 1944; Kihlman, B. A., 1956; Cohn, N. S., 1959; Davidson, D. y Anderson, N., 1960; Galinsky, I., 1960; Bal, A. K. y Gross, P., 1963; Heiner, R. E., 1964; Bammi, R. K. y Jura, P., 1966; Mac Leod, R. D., 1966 y Michaelis, A. y Rieger, R., 1968).

Información directa sobre resorcina (Difenol) e hidrato de terpina (serie alicíclica), ambos de uso frecuente como agentes antisépticos y desinfectantes, no se ha encontrado desde el punto de vista de su acción carioquinética. En ambos ya hemos comprobado, existe una acción inhibitoria marcada en el índice mitótico, a la dosificación comúnmente empleada en terapia humana. No se descarta la posibilidad que trabajando a dosis diferentes se obtuvieran resultados de otro tenor. Hemos querido conservar la dosificación de uso frecuente para efectuar cuadros comparativos como lo hemos señalado anteriormente.

Considerando los fármacos analgésicos y antipiréticos usados, (antipirina, salicilato de sodio y ácido acetil salicílico) podemos establecer diferencias notables en cuanto a su acción sobre la división celular; es obvio, sobre todo en el caso de la antipirina, porque si bien se corresponden en la clasificación farmacodinámica, no lo es en absoluto en su clasificación química: derivado pirazólico, la antipirina; derivados hidroxiácidos, el salicilato de sodio y el ácido acetil salicílico.

La antipirina presenta una inhibición mitótica marcada (50%), pero las figuras observadas son perfectamente normales. No se encontró información bibliográfica al respecto.

La acción del salicilato de sodio muestra un incremento notable de los procesos divisionales, la formación de tetraploides informados por Titow, N. de T., 1954, no fue observada, sólo destacan los cromosomas más cortos y gruesos que los normales en este estado de la división celular.

El ácido acetil salicílico manifiesta una inhibición del proceso; sin embargo pudo visualizarse un número similar de metafases a las que informan las preparaciones controles.

Las experiencias efectuadas con clorhidrato de morfina merece un estudio más profundo: la dosis empleada nos permitió observar que este analgésico por excelencia, inhibe el proceso divisional y sólo es posible observar esporádicas figuras carioquinéticas. Hay una total ausencia de alteraciones estructurales; sin embargo, la inhibición manifiesta del proceso y las características farmacológicas de esta droga requiere un mayor estudio. Podría tratarse de una estatmoquinesis.

Mediante el sulfato de atropina, se estimula el proceso y las escasas carioquinesis observadas manifiestan figuras normales.

Los alcaloides estudiados dejan planteadas interesantes hipótesis para trabajos más profundos en la pesquisa de la influencia de agentes químicos en la fisiología nuclear.

Como representante de los ureídos cíclicos, estimamos conveniente incluír el barbital y luminal; ambos considerados sedantes hipnóticos, los que presentan una inhibición marcada sobre los procesos carioquinéticos, sobre todo el luminal; pero en ambos casos las figuras mitóticas se revelan normales.

El dicumarol (carbohidrato sulfoderivado), clásico anticoagulante, manifiesta una leve potenciación en su acción divisional; se conservan las figuras mitóticas normales.

Iproniazida (derivado hidrazínico), presenta un fuerte efecto inhibitorio sobre el proceso, y esta sustancia tubérculoestático por excelencia y potente inhibidor de sistemas aminooxidásicos requiere también de un mayor estudio, ya que es posible que su mecanismo de acción podría deberse a su acción inhibidora sobre sistemas enzimáticos (Zeller, E. A. y col., 1952).

Esta revisión general permite una primera aproximación a este tipo de experiencias; la acción de los diferentes núcleos ensayados, permite suponer que hay efectos interesantes en los que debe profundizarse las experiencias, efectuando análisis a concentraciones variadas, considerando la solubilización y absorción de las sustancias a través de las células meristemáticas y en condiciones físicas diversas como lo han hecho otros investigadores (Kihlman, B. A., 1955; Ordin L., Kramer, J. P., 1956; Evans, H. J. y Tonkinson, S. M., 1958; Evans, H. J. y Savage, J. R. K., 1958; Savage, J. R. K. y Evans, H. J., 1960; y Sisken, J. E., 1965).

La acción de varias aminas también han sido informadas (Davidson, D. y Anderson, N., 1960) y sus efectos se han descrito como procesos de desespiralización en anafase y telofase, mostrando las metafases como una sola masa cromatínica, sin duda los efectos observados en núcleos con grupos aminos, ha de relacionarse con esta acción sobre las fases finales del proceso divisional nuclear.

Nada de lo observado nos permite suponer la causa directa de las aberraciones cromosómicas cuando se presentan; pero suponemos como lo hacen Smith, H. H. y Lofty, T. A., 1955, que estas alteraciones cromosómicas podrían ser causadas por desnaturalización de las proteínas integrantes del complejo molecular que revela la ultraes-

tructura cromosómica, también podría suponerse, no una desnaturalización proteica, sino una simple separación del componente proteico del ácido desoxiribonucleico en las nucleoproteínas cromosómicas, o también esta acción podría afectar a los precursores de estos componentes nucleares .

Sin duda el problema permanece ubicado a nivel molecular y su mecanismo debe ser variado para los diferentes núcleos químicos que hemos experimentado, es decir, algunos deben actuar por desnaturalización proteica, otros por alteración de los procesos de génesis de la molécula de nucleoproteína.

Por lo tanto la acción de enzimas que controlan estos procesos también pueden ser influídas por agentes químicos como los experimentados. Es necesario considerar, que el estudio de estos problemas es difícil, ya que deben hacerse en ambientes o medios celulares complejos. Si la acción alcanza hasta el ácido desoxiribonucleico por ejemplo, no podría precisarse de inmediato la acción, puesto que el análisis se realiza horas después del tratamiento y todos los pasos intermedios del ataque químico y las respuestas inmediatas se desconocen. En este caso, sólo se analiza los resultados finales de la experimentación. Sobre este mecanismo intermedio es interesante señalar los estudios de Taylor, H., 1963, quien ha dilucidado algunos aspectos de este problema.

A nivel de la estructura molecular hay investigadores que se preocupan de ubicar la acción de los compuestos químicos sobre las moléculas constitutivas mismas de la estructura cromosómica; especial atención ha merecido la ubicación y distribución de los ácidos nucleicos en meristemas radiculares de *Vicia faba:* Holmes D. E. y otros, 1954; Jensen, W. A., 1955; Chayen, J., 1960; Woodard, J. y col. 1960; Deeley, E. M. y otros, 1965; entre otros se han preocupado de esta distribución. La alteración en la síntesis y distribución de los ácidos nucleicos, también es estudio frecuente; es de hacer notar los trabajos de Jensen, W. A., 1957; Van't Hof, J., 1964; Scott, D. y Evans, H. J., 1964; Jacob, K. y Trosko, J., 1964; Bell, S. y Wolff, S., 1964 y 1966; Evans, H. J. 1965; Chakraborty, A. y Biswas, B. B., 1965. Sin embargo estas acciones moleculares a nivel de los ácidos nucleicos exceden la interpretación de este trabajo.

Las determinaciones carioquinéticas efectuadas en los meristemas radiculares de *Vicia faba* y las alteraciones producidas por acción de agentes químicos, permite concluír que hay una acción manifiesta sobre los complejos cromosómicos y/o sobre la estructura carioquinética en general, ya sea potenciando, inhibiendo o modificando el fenómeno divisional, en las condiciones experimentales fijadas, como así mismo se induce en algunos casos un efecto cromatoclásico. Sin duda es necesario un mayor estudio, variando las condiciones de experimentación y considerando coeficientes de solubilidad, temperatura y concentración de las sustancias empleadas.

CONCLUSIONES

1.— Se estudia las variaciones y alteraciones cariotípicas de cromosomas de *Vicia faba* por acción de resorcina, hidrato de terpina, antipirina, salicilato de sodio, ácido acetil salicílico, clorhidrato de morfina, sulfato de atropina, barbital, luminal, dicumarol e iproniazida.
2.— Se hace un recuento en cada caso de las distintas fases de la carioquinesis y se detectan las modificaciones presentadas al cariotipo normal.
3.— En las condiciones experimentales fijadas se puede precisar que con resorcina, hidrato de terpina, antipirina, ácido acetil salicílico, clorhidrato de morfina, sulfato de atropina iproniazida, barbital y luminal existe una inhibición marcada del proceso mitótico normal.
4.— Alteraciones y aberraciones cromosómicas se manifestaron en resorcina (23.2%); hidrato de terpina (38.3%); salicilato de sodio (24.1%); ácido acetilsalicílico (34.6%); iproniazida (6.2%).
5.— Efecto potenciador moderado se observa por acción de Dicumarol y más intenso por acción de Salicilato de sodio.
6.— Se analizan estos resultados.

RESUMEN

Se hace un estudio de las variaciones y alteraciones cariotípicas de meristemas radiculares de *Vicia faba* por acción de agentes químicos representativos de grupos con importancia farmacodinámica.

De las observaciones y recuentos efectuados se deduce que muchos de ellos alteran la carioquinesis normal, ya sea inhibiendo, potenciando o modificando el proceso.

SUMMARY

A study on the karyotypical variations and alterations of root tips of *Vicia faba* by the action of chemical agents of pharmacodynamic importance is reported.

It can be inferred from the results, that many of the chemical agents use inhibit, stimulate or modificate the normal mitosis.

BIBLIOGRAFIA

BAL, AYRA K. and GROSS, PAUL, R.
1963 Mitosis and differentiation in roots treated with actinomycin. Science 139 (3555) : 584-587.

BAMMI, R. K. and JURA, P.
1966 Effects of phenetyl alcohol on chromosomes of *Allium cepa*. Exptl. Cell Res. 41 (1) : 124-130.

BELL, SANDRA L. and WOLFF, SHELDON
1964 Effects of 5-fluorodeoxyuridine on DNA synthesis in *Vicia faba*. In: Fourth Annual Meeting of American Society for Cell Biolg. Cleveland, Ohio, 11-13 Nov. 1964. Jour. Cell Biol. 23 (2) : 9A.
1966 Effects of FUdR and thymidine on incorporation of deoxycytidine into DNA of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 42 (2) : 408-412. Illus.

BHIDE, S. V. and BRACHET, J.
1960 Study of the uptake or ribonucleasa by onion root tip cells. Exptl. Cell. Res. 21 (2) : 303-315.

BLAKESLEE, A. F. and AMARY, A. G.
1937 Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. Jour, Heredity, 28 (12) : 393-411.

CHAKRABORTY, A. and BISWAS, B. B.
1965 The effect of colchicine on nucleic acid and protein synthesis. Exptl. Cell Res. 28 (1) : 57-65.

CHAYEN, J.
1960 The localization of deoxyribosa nucleic acid in cells of the root meristem of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 20 (1) : 150-170.

COHN, N. S.
1959 The effective wave length promoting ligth reversal of carbon monoxide inhibited chromosome rejoining. Exptl. Cell Res. 16 (1) : 424-427.

DARLINGTON, C. D.
1965 Recent advances in citology. Part. II; 1937-1964. J. and A. Churchill Ltd. London, 1965.

DARLINGTON, C. D. and LA COUR, L. F.
1962 The handling of chromosomes. George Allen and Unwin Ltd. London, Fourth edition.

DARLINGTON, C. D. and LEWIS, R. K.
1966 Chromosomes Today, vol. 1, Oliver and Boyd Edimburg and London.

DAS, N. K. ELSIE P. SIEGEL and ALFERT, M.
1965 On the origin of labeled RNA in the cytoplasm of mitotic root tip cells of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 40 (1) : 178-181.

DAVIDSON, D. and ANDERSON, N.
1960 Cromosomes coiling: abnormalities induced by polyamines. Exptl. Cell. Res. 20 (30) : 160-613.

DAVIDSON, D.
1966 The onset of mitosis and DNA synthesis in roots of germinating beans. Amer. Jour. of Botany 53 (5) : 491.

DEELEY, E. M. DAVIES, H. and CHAYEN, J.
1956 The DNA content of cells in the root of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 12 (3) : 582-591.

EVANS, H. J. NEARY, G. J. and TONKINSON, S. M.
1958 The effect of oxygen on the induction by gamma radiation of mitotic delay in root tips of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 17 (1) : 144-159.

EVANS, H. J. and TONKINSON, S. M.
1958 A paradoxical effect of aeration on the accumulation of root tip metaphase cells by spindle inhibitors. Exptl. Cell Res. 17 (2) : 262-271.

EVANS, H. J. and SAVAGE, J. R. K.
1959 The effect of temperature on mitosis and on the action of colchicine in root meristem cells of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 18 : 51-61.

EVANS, H. J.
1960 Chromatid aberrations induced by gamma irradiation. I. The structure and frecuency of chromatid interchanges in diploid and tetraploid cells of *Vicia faba*. Genetics 46 (3) : 257-275.

EVANS, H. J. and BIGGER, T. R. L.
1960 Chromatid aberrations of gamma irradiation. II. Non randomness in the distribution of chromatid aberrations in relation to chromosome length in *Vicia faba* root tip cells. Genetics, 46 (3) : 227-289.

EVANS, H. J.
1965 Uptake of H^3 thymidine and patterns of DNA replication in nuclei and chromosomes of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 35 (2) : 381-393.

FRANCES, E.
1964 Experimental Alteration of Metaphase Chromosome Morphology. Effect of Actinomycin. Exptl. Cell Res. 39 (1) : 305.

GALINSKY, IRVING
1960 Induced sub-chromosome breaks in prophase of *Vicia faba*. The Jour. of Heredity, 51 (1) : 19-20.

GRETCHEN, L. HUMASON

1962 Animal tissue techniques. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London.

HAGBERG, ARNE and AKERBERG, ERIK

1962 Mutation and polyploidy in plant breeding. Scandinavian University books. Printed in Sweden Stockholm. Alb. Bonniers Boktryckeri.

HAINES, R. E.

1964 The effect of tritiated thymidine and diethyl sulfate on *Vicia faba* roots. In: 1964 Meetings of the Genetics Society of America Boulder. Colorado 24-26 August 1964. Genetics 50 (2) : 254.

HOLMES, B. E. MEE, L. K. HORNSEY, and GRAY, L. H.

1954 The nucleic acid content of cells in the meristematic elongating and fully elongated segments of roots *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 8 (1) : 101-113.

JACOB, KARL M. and TROSKO, J. E.

1964 The relation between 5-amino uracil induced mitotic synchronization and DNA synthesis. Exptl. Cell Res. 40 (1) : 56-67.

JENSEN, W. A.

1955 A morphological and biochemical analysis of the early phases of cellular growth in the root tip of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 8 (3) : 506-522.

1955 On the distribution of nucleic acids in the root tip of *Vicia faba*. Esptl. Cell Res. 10 (1) : 222-224.

1957 The nucleic acid and protein content of root tip cells of *Vicia faba* and Allium cepa. Exptl. Cell Res. 14 (3) : 575-583.

KIHLMAN, B. A.

1949 8-ethoxycaffeine, an ideal inducer of structural chromosome changes in the root tips of *Allium cepa*. Exptl. Cell Res. 1 (1) : 135.

1955 Studies on the effect of oxygen on chromosome breakage induced by 8-ethoxycaffeine. Exptl. Cell Res. 8 (2) : 404-407.

1956 Factors affecting the production of chromosome aberrations by chemicals. Jour. Biophy. Biochem. 2 : 543-555.

1960 The radiomimetic effect of N-nitroso-N-methylurethan in *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 20 (3) : 657-659.

1964 The production of chromosomal aberrations by streptonigrin in *Vicia faba*. Mutation Research 1 : 54-64.

LEDYARD STEBBINS, G.

1966 Chromosomal variation and evolution. Science 152 (3728) : 1463-1469.

MAC LEOD, R. D.

1966 Studies on induced changes in growth patterns and polarity in roots of *Vicia faba*. L. Apartado. Planta (Berl.) 71, 257-267.

MATTINGLY, ELLEN and JACOB, KARL M.
1964 Studies on mechanism involved in 5-aminouracil induced synchrony in *Vicia faba*. In Fourth Ann. Meeting of the Amer. Soc. for Cell Biol. Cleveland, Ohio. 11-13 Nov. 1964. Jour. Cell Biol. 23 (2) : 57A.

MATTINGLY, ELLEN
1965 Differences in mitotic cycle in various tissues of Vicia faba. Roots as revealed by 5-amino uracil synchronization of cell division. Exptl. Cell Res. 42 (2) : 274-280.

MERZ, T.
1961 Effect of mitomycin C on lateral root tip chromosomes of *Vicia faba*. Science 133 (3448) : 329-330.

MICHAELIS, A. and RIEGER, R.
1968 On the distribution between chromosomes of chemically induced chromatid aberrations: studies with a new karyotype of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 6 (1) : 81-91.

NATARAJAN, A. T. and NAGARAJA RAO, R.
1964 Chromosome breakage induced by fluorinated thymidine in secondary roots of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res 38 (3) : 580-584.

ODMARK, G. and KIHLMAN, B. A.
1965 Effects of chromosome-breaking purine derivatives on nucleic acid synthesis and on the levels of adenosine-5-triphosphate and deoxyadenosine-5'-triphosphate in beans root tips. Mutation Research 2 : 274-286.

O'MARA, J. G.
1939 Observations on the inmediate effects of colchicine. Journal of Heredity 30 (2) : 35-37.

ORDIN, LAURENCE and KRAMER, J. P.
1956 Permeability of *Vicia faba* root segmentes to water as measured by diffusion of deuterium hedroxide. Plant Physiology 31 (6) : 468-471.

RAO, NAGARAJA, R. and NATARAJAN, A. T.
1967 Somatic association in relation to chemically induced chromosome aberrations in *Vicia faba*. Genetics 57 (4) : 821-833.

RIEGER, R. and MICHAELIS, A.
1964 On the distribution amongst cells of chemically induced chromatid aberrations in root tip meristems of *Vicia faba*. Mutation Research 1 : 109-112.

SAVAGE, J. R. K. and EVANS, H. J.
1959 The effect of low temperature on the mitotic cycle of root meristem cells of *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 16 (2) : 364-378.

SAVAGE, J. R. K., NEARY, G. and EVANS, H. J.
1959 The rejoining time of chromatid breaks induced by gamma radiation in *Vicia faba* root tips at 3ºC. Jour. Biophy. and Biochem. Cytol. 7 (1) : 79-85.

SCOTT, D. and EVANS, H. J.
1964 Influence of nucleous on DNA synthesis and mitosis in *Vicia faba*. Exptl. Cell Res. 36 (1) : 145-159.

SISKEN, J. E.
1965 Exposure time as a parameter in the effect of temperature on the duration of metaphase. Exptl. Cell Res. 40 (2) : 436-438.

SMITH, H. H. and LOTFY, T. A.
1955 Effects of beta propiolactone and ceepryn on chromosomes of *Vicia faba* and Allium. Amer. Jour. Bot. 42 (8) : 750-758.

SMITH, H. H., FUSSELL, C. P. and KUGELMAN, B. H.
1963 Partial synchronization of nuclear divitions in root meristems with 5-amino uracil. Science 142 (3592) : 595-596.

SWANSON, C. P. and MERZ, T.
1959 Factors influencing the effect of betapropiolactone on chromosomes of *Vicia faba*. Science 129 (3359) : 1364-1365.

TITOW, N. de T.
1954 Alteraciones morfológicas en los cromosomas de *Vicia faba* y *Pisum sativum,* provocadas por la eserina, salicilato de eserina, ácido salicílico y salicilato de sodio. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción. Tomo XXVI-XXX.

TAYLOR, J. H.
1963 Effect of inhibitors of thymidylate synthetase on chromosome breakage and reunion. Exptl. Cell Res. Suppl. 9 : 99-106.

VAN'T HOF, J.
1964 Discrepancies in mitotic cycle time when measured with tritiated thymidine and colchicine. Exptl. Cell Res. 37 (2) : 292-299.
1964 Relationships between mitotic cycle duration S period duration and the average rate of DNA synthesis in root meristem cells of several plants. Exptl. Cell Res. 39 (1) : 48-58.

WOLF, S.
1963 Radiation induced chromosome aberrations. Columbia University Press. New York and London.

WOODARD, J., RASCH, E. and SWIFT, H.
1960 Nucleic acid and protein metabolism during the mitotic cycle in *Vicia faba*. Jour Biophys. Biochem, Cytology 9 (2) : 445-462.

ZELLER, E. A. y col.
1952 Marsilid "Roche" Servicio Científico Montevideo-Uruguay.

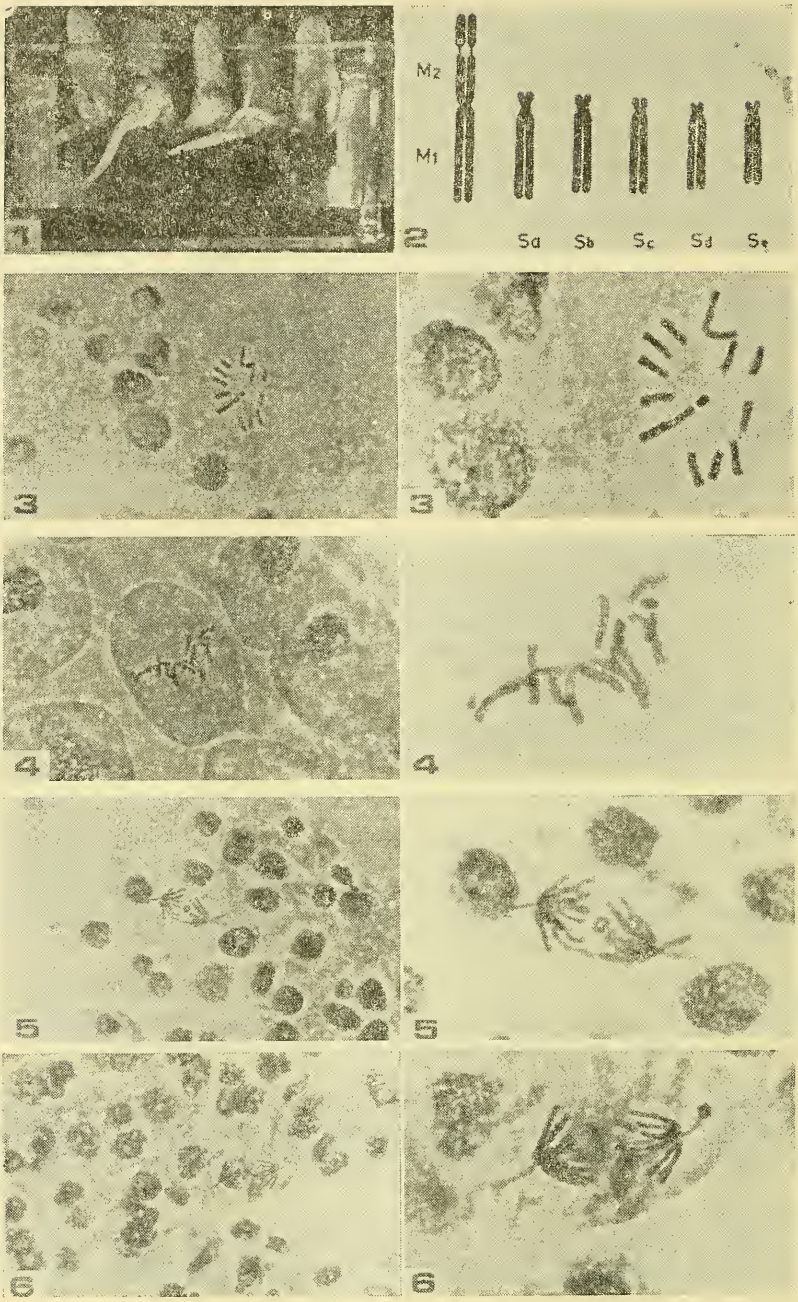
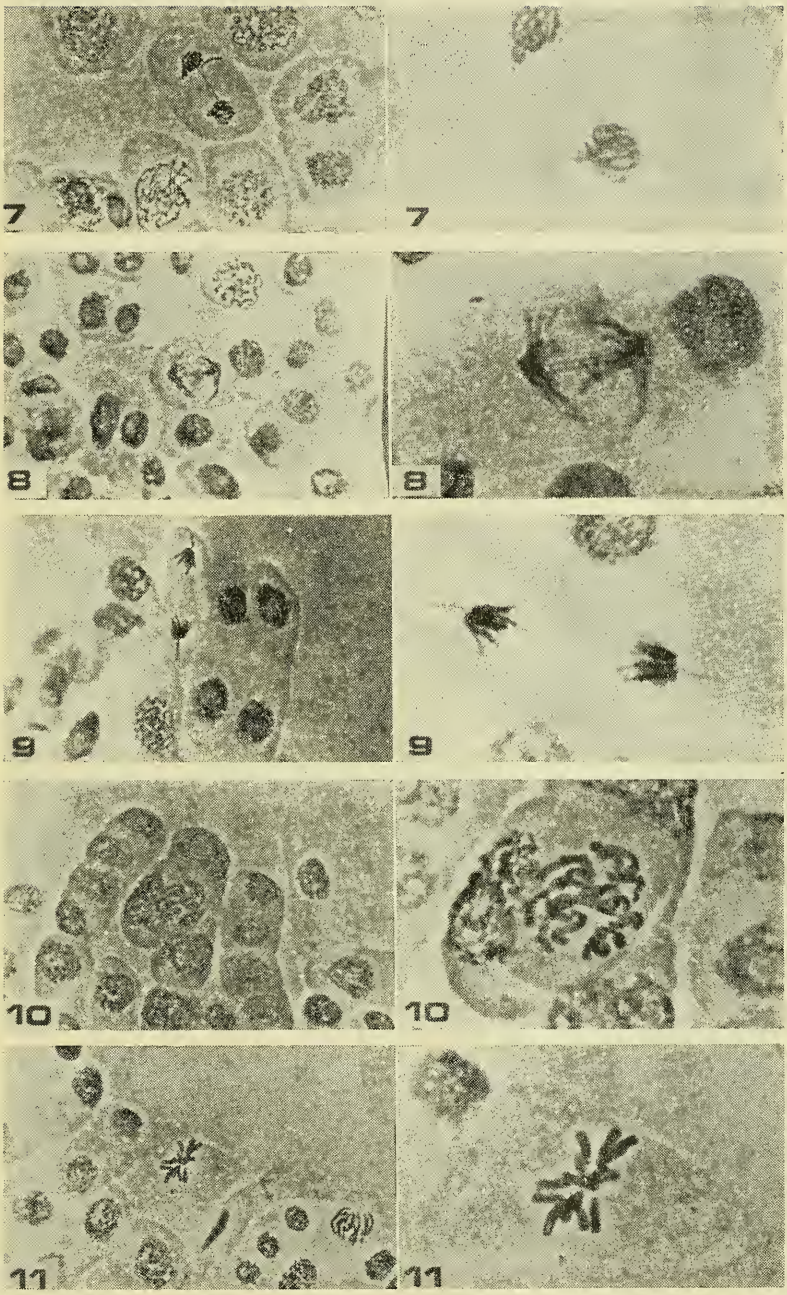


Fig. 1.— Cubetas con semillas de *Vicia faba* en germinación, sumergidas en soluciones de fármacos experimentados.
Fig. 2.— Cariotipo determinado para *Vicia faba*.
Fig. 3.— Cariotipos controles de *Vicia faba* efectuados en meristemas radiculares. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.
Figs. 4, 5 y 6.— Acción de Resorcina sobre las fases mitóticas en meristemas radiculares de *Vicia faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.

LAMINA II



Figs. 7, 8 y 9.— Acción de Resorcina sobre fases mitóticas de meristemas radiculares de *Vicia Faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.

Figs. 10 y 11.— Acción de Hidrato de Terpina sobre fases mitóticas en meristemas radiculares de *Vicia Faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.

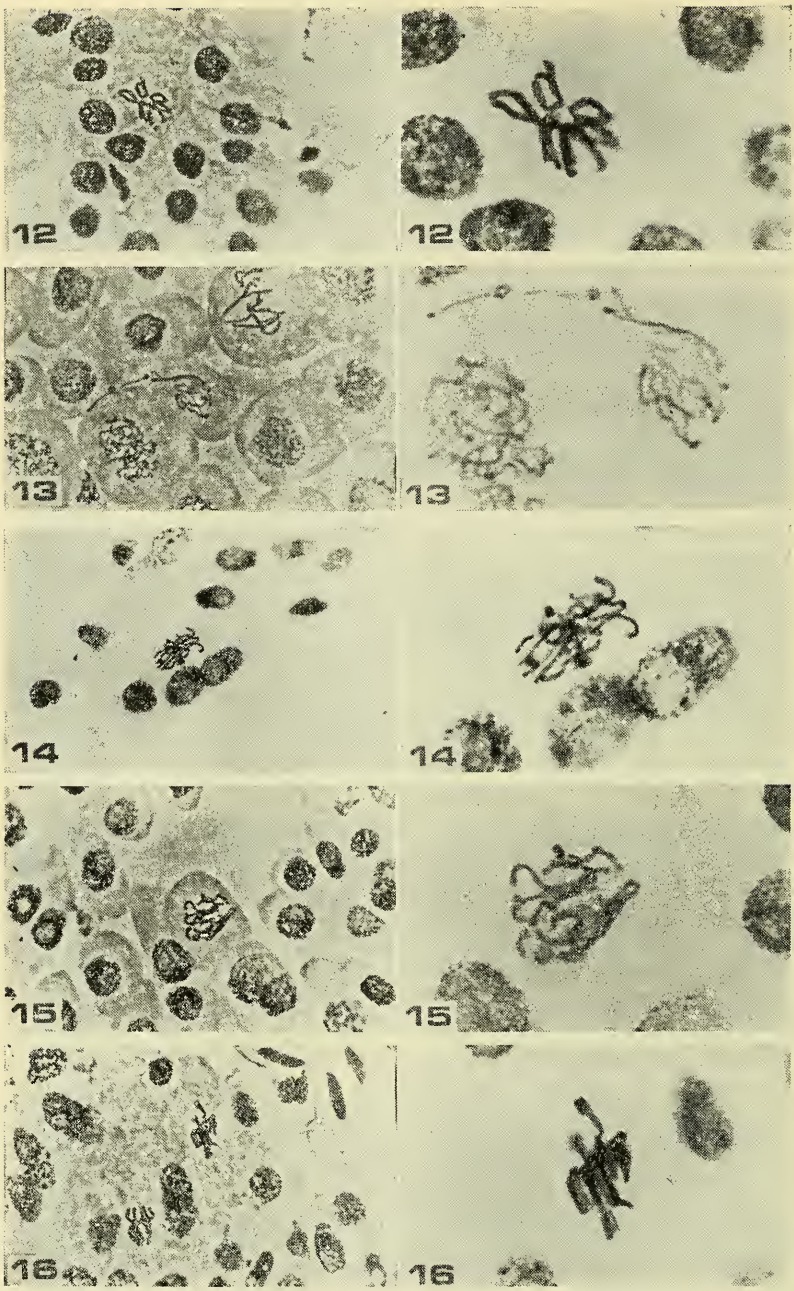


Fig. 12.— Acción de Hidrato de Terpina sobre fases mitóticas en meristemas radiculares de *Vicia faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.

Figs. 13 y 14.— Acción de Salicilato de sodio sobre fases de la mitosis en meristemas radiculares de *Vicia faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.

Figs. 15 y 16,— Acción de ácido Acetil Salicílico sobre el proceso mitótico en meristemas radiculares de *Vicia Faba*. Aumento X 1400 y Aumento X 3400.