

“ESTUDIO DE ECOTOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD EN RECURSOS HÍDRICOS”

AUTORES **Elías C.¹**
Paz O²
Rodrigo G.³

SUMMARY

This paper studied ecotoxicity and genotoxicity in the Pallina river basin, this study complement the previous studies made in the river that analyzed physical, chemical, bacteriological and even heavy metals, but that did not express the effect produced by these parameters in biota and in the human beings. In the study area 6 sampling points were taken, in April and August of 2008, two on Seco river, three on Pallina river and one in the effluent of the Wastewater Treatment Plant of Puchucollo. Each sample was examined with three biomarkers: *Allium cepa*, *Vicia faba* and *Drosophila melanogaster*. 6 dilutions were used (100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%) to *A. cepa* and *D. melanogaster* and an additional for *V. faba* (3,125%). Levels of ecotoxicity and subtoxic concentrations were determined; with the subtoxic concentrations the genotoxic potential was established. As a negative normal control treated water was used and as a positive control H₂O₂ (hydrogen peroxide) at 0.02% and 0.5 M. Concerning to the toxicity analysis using *Allium cepa* as bioindicator, it was found that the basin has different degrees of toxicity, being the most toxic The Seco River, especially in the the point on the urban area of El Alto city. The basin showed genotoxicity in all samples analyzed, indicating that the xenobiotics present in water can interact with DNA, causing alterations that can lead to disease and cancer, relative to the degree of susceptibility of the exposed individual. Samples taken in August, representing dry season, were those that showed higher genotoxic activity.

RESUMEN

El presente trabajo realizó estudios de ecotoxicidad y genotoxicidad en la cuenca del río Pallina, con esto pretende complementar estudios anteriores donde se analizaron parámetros físicos, químicos, bacteriológicos e incluso metales pesados, pero que no expresan el efecto que producen estos parámetros en la biota y en el ser humano. Para este fin de la zona seleccionada se tomó 6 puntos de muestreo en los meses de abril y agosto del 2008, dos sobre el río Seco, tres sobre el río Pallina y uno del efluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Puchucollo. Cada muestra fue examinada con tres bioindicadores: *Allium cepa*, *Vicia faba* y *Drosophila melanogaster*. Se utilizaron 6 diluciones (100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%) para *A. cepa* y *D. melanogaster* y una adicional para *V. faba* (3.125%). Se determinó grados de ecotoxicidad y concentraciones subtóxicas, para con estas últimas establecer el potencial genotóxico de las muestras. Como control negativo se empleó agua de grifo y como control positivo H₂O₂ (agua oxigenada) al 0.02% y 0.5 M. Pertinente al análisis de toxicidad con el bioindicador *Allium cepa*, se obtuvo que toda la cuenca presenta diferentes grados de toxicidad, siendo Río Seco el más tóxico, especialmente el punto que está sobre la mancha urbana de la ciudad de El Alto. La cuenca presentó genotoxicidad en todas las muestras analizadas, esto indica que los xenobióticos presentes en el agua pueden interactuar con el ADN, ocasionando alteraciones que pueden desencadenar en enfermedades y cáncer, dependiendo del grado de susceptibilidad del individuo expuesto. Las muestras tomadas en el mes de agosto, representante de la época de estiaje, fueron las que mostraron mayor actividad genotóxica.

Palabras Claves: Agua, *Allium cepa*, *Vicia faba*, contaminación, ecotoxicidad, genotoxicidad.

1 Docente -.Investigadora – invitada IIS - UMSA. – Premiada por este trabajo
2 Docente -.Investigador –IIS - UMSA.
3 Docente -.Investigadora – IBBM - UMSA.

1. Introducción

Varios informes han sugerido una directa correlación entre la mutagenicidad y el nivel de ciertos contaminantes como los metales pesados y pesticidas presentes en los cuerpos de agua. La incidencia más alta de cáncer y otros efectos adversos de la salud también pueden ser atribuidos a la presencia de sustancias tóxicas en el medio ambiente en general y en el agua en particular. De hecho muchos agentes sub tóxicos en el medio ambiente actúan directamente dañando el ADN y de ahí causando mutaciones (da Silva et al., 2003).

El presente trabajo realizó estudios de ecotoxicidad y genotoxicidad en la cuenca del río Pallina, puesto que esta cuenca junto a las cuencas de Quelcata, Tujsajahuirá y Katari fueron declaradas Zonas de Desastre Ambiental y de Emergencia Hídrica (Ley 2798, 2004). Con esto pretende complementar estudios anteriores donde se analizaron parámetros físicos, químicos, bacteriológicos e incluso metales pesados, pero que no expresan el efecto que producen estos parámetros en la biota y en el ser humano. Para esto es necesario implementar ensayos con bioindicadores que brinden información adicional sobre el riesgo potencial de tóxicos y así establecer un marco completo de niveles de contaminación, proporcionando mayores elementos para una evaluación de aguas que permita una adecuada toma de decisiones.

Por lo expuesto se infiere que no es suficiente para proteger un determinado ecosistema registrar las concentraciones de sustancias químicas, sino es necesario implementar nuevos ensayos que puedan brindar información adicional sobre el riesgo potencial de tóxicos. Estos ensayos son los que utilizan indicadores biológicos para hallar respuestas sobre los posibles riesgos a que son expuestos todos los seres vivos.

2. Objetivo

Objetivo general

Conocer el grado de toxicidad y establecer el potencial genotóxico de las aguas de la cuenca de estudio.

Objetivos específicos

- Implementar técnicas utilizando bioindicadores para la determinación de ecotoxicidad y genotoxicidad.
- Determinar grado de sensibilidad de los bioindicadores respecto a muestras de agua contaminadas.
- Establecer de donde proviene la mayor contaminación.

3. Marco teórico

Ecotoxicología es el estudio de las sustancias contaminantes en relación a su destino en el ambiente y a los efectos tóxicos producidos sobre los individuos, poblaciones y comunidades biológicas. A partir de este conocimiento, definir si existe riesgo sobre los ecosistemas naturales comparando las concentraciones de los tóxicos en el ambiente con aquellas que producen efectos. (Asociación Argentina de Ecotoxicología, 2010).

La toxicidad inherente o capacidad de causar algún efecto nocivo sobre un organismo vivo, dependerá del grado de exposición, cantidad que ingrese, de cuánto pase a los distintos compartimientos del ecosistema y de su persistencia (Levin et al, 1989).

Unidad Tóxica Aguda (Uta), es una unidad que expresa la transformación de relación inversa de la toxicidad (medida como CL50 ó CE en un determinado periodo de tiempo de exposición), esto es, cuanto más baja sea la concentración letal que mata 50% de los organismos, CL50, tanto más alta será la concentración del efluente. Como resultado, una unidad de toxicidad se define como (Hickman et al., 2001):

UTa= 100 / (CL50 ó CE50)

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha propuesto en su Manual de Evaluación y Manejo de Sustancias Tóxicas en aguas superficiales la siguiente tabla para clasificar grados de toxicidad:

Tabla 1: Clasificación de grados de toxicidad

CE50	UTa	Clasificación
< 25% >	4	Muy tóxica
25 a 50%	2 a 4	Tóxica
51 a 75%	1.33 a 1.99	Moderadamente tóxica
> 75%	< 1.33	Levemente tóxica

Fuente: Hickman et al., 2001.

La Genotoxicología surge de la integración de distintos conceptos de la Genética y la Toxicología, al identificar y analizar la actividad de xenobióticos sobre el material genético de los seres vivos (Zamorano, 2008). Se encarga de estudiar el daño en el ADN. Las sustancias genotóxicas pueden unirse directamente al ADN o actuar indirectamente mediante la afectación de las enzimas involucradas en la replicación del ADN, causando mutaciones que pueden o no desembocar en un cáncer. Las sustancias genotóxicas no son necesariamente cancerígenas, pero la mayor parte de los cancerígenos son genotóxicos. La correlación entre mutagenicidad y carcinogenicidad es cada día más aceptada. Se ha demostrado que 157 de los 175 carcinógenos conocidos también son mutágenos, de ahí la conveniencia de saber con precisión el posible daño que un compuesto puede tener sobre nuestro organismo o sobre otros seres vivos (Torres, 1999).

Las pruebas para la detección de agentes genotóxicos, son importantes en cuanto que estos compuestos tienen la capacidad de alterar el material genético en los organismos; además, pueden tener efectos

teratogénicos, causar mutaciones en las células germinales y en las células somáticas, inducir enfermedades cardíacas, influir en los procesos de envejecimiento y provocar mutaciones que pueden generar cáncer (Di Giorgio et al., 2003). Los agentes genotóxicos que van a alterar la secuencia de las bases del ADN pueden acelerar o aumentar el surgimiento de mutaciones asociadas con el desarrollo de neoplasias. Al pasar por varias divisiones una célula podría acumular mutaciones que en número elevado perdería el control de la división determinando la aparición del cáncer (Ribeiro y Rodríguez, 2003). Las mutaciones se producen por la inducción al daño al ADN y por alteraciones genéticas, que van desde cambios en uno o pocos pares de base (mutaciones génicas) hasta cambios groseros en la estructura de los cromosomas (aberraciones cromosómicas) o en el número (aneuploidias y poliploidías), quedando establecido que cualquier agente que causa mutaciones es mutágeno. Otros términos especializados como clastógeno y aneunógeno son utilizados para agentes que producen aberraciones cromosómicas y aneuploidías, respectivamente (Carvallo, 2006).

4. Marco práctico

Proceso Metodológico de Investigación

- Recopilación, análisis y evaluación de información.
- Determinación de puntos de muestreo.
- Toma de muestras.
- Análisis físico, químico y bacteriológico.
- Análisis ecotoxicológico y genotoxicológico.
- Análisis estadístico.
- Análisis de resultados.
- Diagnóstico de la cuenca.

Zona de estudio

La zona de estudio corresponde a la cuenca del río Pallina, esta cuenca atraviesa los municipios de El Alto, Viacha y Laja.

Figura 1: Cuenca del río Pallina



Fuente: Google earth - Elaboración propia.

4. Resultados

Prueba de ecotoxicidad con *Allium cepa*

Para el estudio estadístico se utilizó el programa PASW Statistics.18 (Antes SPSS). Una vez verificada la normalidad se empleó el modelo ANOVA, donde se puede probar la hipótesis nula acerca de los efectos de otras variables en el medio de varias agrupaciones de una única variable dependiente. Se investigó las interacciones entre los factores, así como los efectos de los factores individuales. Para encontrar el CI50%-96, se realizó un análisis de regresión. Una vez ajustada la recta de regresión a la nube de observaciones es importante disponer de una medida que evalúe la bondad del ajuste realizado y que permita decidir si el ajuste lineal es suficiente o se deben buscar modelos alternativos. Como medida de bondad del ajuste se utiliza el coeficiente de determinación (R^2). Del anterior análisis obtenemos el CI50% y con la Unidad Tóxica Aguda, con estos valores se realizó la clasificación de toxicidad (Tabla 2).

Tabla 2: CI50%, Uta y Clasificación de grados de Toxicidad

Muestra	CI50%	Uta	Clasificación
M1-I	9,09	11,00	Muy tóxica
M1-II	11,51	8,69	Muy tóxica
M2-I	43,82	2,28	Tóxica
M2-II	14,73	6,79	Muy tóxica
M3-I	79,29	1,26	Levemente tóxica
M3-II	28,36	3,53	Tóxica
M4-I	66,80	1,50	Moderadamente tóxica
M4-II	27,49	3,64	Tóxica
M5-I	i	0,00	No tóxica
M5-II	110,69	0,90	Levemente tóxica
M6-I	118,53	0,84	Levemente tóxica
M6-II	61,08	1,64	Moderadamente tóxica

Fuente: Elaboración propia.

Prueba de Genotoxicidad con *Vicia faba*

Para el estadístico se realizó un análisis de varianza multivariante (MANOVA) para determinar el grado de dependencia de las variables Índice Mitótico (IM), Micronúcleos (MN) y Aberraciones cromosómicas (AC), respecto a los factores lugar, fecha y concentración. Para este efecto se utilizó el programa PASW Statistics.18 (Antes SPSS). Posteriormente se empleó la prueba de Dunnett ($\alpha=0.05$ y $\alpha=0.01$) para determinar diferencias significativas entre los valores medios obtenidos en las muestras de agua respecto al control negativo de genotoxicidad (Huilan&Liangyan, 2007).

Tabla 3: Genotoxicidad en las muestras analizadas con Vicia faba

Muestras	Aberraciones cromosómicas					Promedio ±DS	
	Quiebra cromosómica	Cromosomas resagados	Cromosomas pegados	Puentes cromosómicos			
K(-)		2,00 ± 1,00	1,00 ± 1,00	1,67 ± 1,53	0,00 ± 0,00	4,67 ± h	
M1-I	3,13%	1,33 ± 0,58	1,00 ± 1,00	0,67 ± 0,58	0,33 ± 0,58	3,33 ± 0,72	
	6,25%	1,33 ± 1,53	H2,00 ± 1,00	1,33 ± 1,15	0,00 ± 0,00	4,67 ± 1,19	
	12,5%	2,00 ± 2,00	2,33 ± 1,53	2,67 ± 2,52	0,33 ± 0,58	7,33 ± 1,80	
M1-II	3,13%	0,67 ± 1,15	3,33 ± 1,53	4,33 ± 1,53	0,33 ± 0,58	8,67 ± 2,08	
	6,25%	1,33 ± 1,15	1,67 ± 0,58	5,00 ± 1,00 *	0,67 ± 0,58	8,67 ± 1,90	
	12,5%	3,33 ± 1,53	3,67 ± 1,15	4,33 ± 1,15	0,00 ± 0,00	11,33 ± 1,99	
M2-I	3,13%	0,33 ± 0,58	3,33 ± 1,53	2,67 ± 0,58	0,00 ± 0,00	6,33 ± 1,68	
	6,25%	6,00 ± 2,00	2,67 ± 2,08	4,00 ± 2,00	0,67 ± 1,15	1,33 ± 2,57 *	Genotóxica
	12,50%	4,67 ± 1,53	7,33 ± 3,06 ***	4,67 ± 2,08	1,00 ± 1,00	17,67 ± 2,94 ***	Genotóxica
M2-II	3,13%	3,00 ± 1,73	2,67 ± 1,53	5,33 ± 1,53 *	0,00 ± 0,00	11,00 ± 2,30	
	6,25%	4,67 ± 1,15	3,67 ± 1,53	3,33 ± 1,53	0,33 ± 0,58	12,00 ± 2,00 *	Genotóxica
	12,5%	16,67 ± 4,51 ***	6,67 ± 3,06 ***	7,33 ± 2,08 ***	0,00 ± 0,00	30,67 ± 6,68 ***	
M3-I	3,13%	1,00 ± 1,00	3,33 ± 1,53	5,67 ± 1,53 *	0,00 ± 0,00	10,00 ± 2,50	
	6,25%	1,00 ± 1,00	1,67 ± 1,15	6,00 ± 1,73 *	0,33 ± 0,58	9,00 ± 2,53	
	12,5%	1,33 ± 1,53	2,00 ± 2,00	3,00 ± 1,00	1,33 ± 1,53 *	7,67 ± 1,51	
M3-II	3,13%	8,33 ± 3,06 ***	3,67 ± 2,52	2,67 ± 2,08	0,33 ± 0,58	15,00 ± 3,60 ***	Genotóxica
	6,25%	13,00 ± 3,61 ***	6,00 ± 3,46 ***	8,00 ± 1,73 ***	0,00 ± 0,00	27,00 ± 5,36 ***	Genotóxica
	12,5%	7,67 ± 5,51 ***	2,67 ± 2,08	6,67 ± 2,31 ***	1,00 ± 1,73	18,00 ± 4,01 ***	Genotóxica
M4-I	3,13%	2,67 ± 1,53	0,33 ± 0,58	2,33 ± 1,53	0,00 ± 0,00	5,33 ± 1,56	
	6,25%	2,33 ± 1,53	1,33 ± 1,53	2,00 ± 1,00	0,00 ± 0,00	5,67 ± 1,38	
	12,5%	1,00 ± 1,73	0,67 ± 1,15	8,67 ± 3,21 ***	0,00 ± 0,00	10,33 ± 4,03	
M4-II	3,13%	12,00 ± 5,00 ***	3,33 ± 1,53	4,00 ± 3,61	0,33 ± 0,58	19,67 ± 5,26 ***	Genotóxica
	6,25%	9,33 ± 1,15 ***	4,00 ± 2,00	5,33 ± 2,08	0,00 ± 0,00	18,67 ± 3,73 ***	Genotóxica
	12,5%	11,00 ± 3,61 ***	5,33 ± 2,08 *	5,33 ± 1,53 *	0,00 ± 0,00	21,67 ± 4,48 ***	Genotóxica
M5-I	3,13%	2,33 ± 1,53	2,00 ± 1,00	4,33 ± 1,53	0,00 ± 0,00	8,67 ± 1,90	
	6,25%	2,00 ± 1,00	3,00 ± 1,00	4,00 ± 1,73	0,00 ± 0,00	9,00 ± 1,82	
	12,5%	1,00 ± 1,73	2,00 ± 1,73	4,00 ± 2,65	0,00 ± 0,00	7,00 ± 2,18	
M5-II	3,13%	11,33 ± 1,53 ***	6,33 ± 1,15 ***	5,33 ± 1,53 *	0,00 ± 0,00	23,00 ± 4,33 ***	Genotóxica
	6,25%	10,00 ± 4,36 ***	9,33 ± 7,51 ***	10,00 ± 3,00 ***	0,00 ± 0,00	29,33 ± 5,91 ***	Genotóxica
	12,5%	11,67 ± 2,52 ***	6,33 ± 2,31 ***	7,67 ± 3,06 ***	2,00 ± 2,65	27,67 ± 4,25 ***	Genotóxica
M6-I	3,13%	0,67 ± 0,58	1,33 ± 2,31	4,33 ± 3,21	0,00 ± 0,00	6,33 ± 2,43	
	6,25%	0,00 ± 0,00	1,67 ± 1,53	1,67 ± 2,08	0,00 ± 0,00	3,33 ± 1,40	
	12,5%	0,67 ± 0,58	1,33 ± 1,15	4,67 ± 2,08	0,00 ± 0,00	6,67 ± 2,15	
M6-II	3,13%	6,67 ± 1,53 *	2,67 ± 1,53	7,33 ± 1,53 ***	0,00 ± 0,00	16,67 ± 3,33 ***	Genotóxica
	6,25%	8,33 ± 3,06	6,00 ± 1,00 ***	5,67 ± 1,53 *	1,00 ± 1,73	21,00 ± 3,25 ***	Genotóxica
	12,5%	4,67 ± 3,06	4,00 ± 1,00	6,00 ± 3,61	0,00 ± 0,00	14,67 ± 3,11 ***	Genotóxica
K(+)		5,67 ± 2,52	6,00 ± 2,65 ***	10,33 ± 3,06 ***	0,67 ± 1,15	22,67 ± 4,14 ***	Genotóxica

*** Nivel de significancia 0.01 (confiabilidad 99%), para la Prueba de Dunnett.

* Nivel de significancia 0.05 (confiabilidad 95%), para la Prueba de Dunnett.

Fuente: Elaboración propia.

Prueba de Genotoxicidad de *Drosophila melanogaster* SMART

El método estadístico recomendado en el protocolo para analizar los resultados del test SMART fue propuesto por Frei & Würzler (1988),

posibilita la caracterización de los resultados como positivo, débil-positivo, negativo e inconclusivo.

Tabla 4: Resultados del Análisis Estadístico del Potencial Genotóxico mediante Cruce Estándar para SMART

Genotipos y Conc.	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (Nº de manchas) diag. estadístico ^a				Total manchas mwh ^c (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2	
mwh/ flr3						
K-	20	0,35 (07)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,35 (07)	7
M1-I	20	0,95 (19) +	0,00 (00) i	0,05 (01) i	1,00 (20) +	19
M1-II	20	0,80 (16) +	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,90 (18) +	17
M2-I	20	0,60 (12) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,60 (12) i	11
M2-II	20	0,40 (08) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,40 (08) i	8
M3-I	20	0,45 (09) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,55 (11) i	10
M3-II	20	0,45 (09) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9
M4-I	20	0,90 (18) +	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,95 (19) +	17
M4-II	20	0,70 (14) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,80 (16) +	16
M5-I	20	0,60 (12) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,70 (14) i	13
M5-II	20	0,45 (09) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9
M6-I	20	1,20 (24) +	0,00 (00) i	0,00 (00) i	1,20 (24) +	23
M6-II	20	0,85 (17) +	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,85 (17) +	17
K+	20	0,80 (16) +	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,80 (16) +	16

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5: Resultados del Análisis Estadístico del Potencial Genotóxico mediante Cruce HB para SMART

Genotipos y Conc	Nº de moscas (N)	Manchas por mosca (Nº de manchas) diag. estadístico ^a				Total manchas mwh ^c (n)
		MSP (1-2 céls) ^b m=2	MSG (>2 céls) ^b m=5	MG m=5	TM m=2	
mwh/ flr3						
K-	20	0,25 (05)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,30 (06)	5
M1-I	20	0,85 (17) +	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,85 (17) +	17
M1-II	20	0,75 (15) +	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,80 (16) +	15
M2-I	20	0,45 (09) i	0,00 (00) i	0,10 (02) i	0,55 (11) i	9
M2-II	20	0,25 (05) i	0,10 (02) i	0,05 (01) i	0,40 (08) i	7
M3-I	20	0,45 (09) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9
M3-II	20	0,85 (17) +	0,10 (02) i	0,05 (01) i	1,00 (20) +	18
M4-I	20	0,55 (11) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,60 (12) i	12
M4-II	20	1,00 (20) +	0,05 (01) i	0,05 (01) i	1,10 (22) +	21
M5-I	20	0,70 (14) +	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,70 (14) i	14
M5-II	20	0,75 (15) +	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,85 (17) +	16
M6-I	20	1,05 (21) +	0,05 (01) i	0,00 (00) i	1,10 (22) +	21
M6-II	20	1,20 (24) +	0,05 (01) i	0,00 (00) i	1,25 (25) +	25
K+	20	0,75 (15) +	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,80 (16) +	16

^aDiagnóstico estadístico Frei y Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo.

^bIncluso las manchas sixx

^cConsiderando los clones mwh para las manchas simples mwh y para las manchas gemelas.

^m, factor de multiplicación a fin de evaluar los resultados significativamente negativos.

Niveles de significancia $\alpha = \beta = 0,05$.

Fuente: Elaboración propia.

5. Conclusiones y recomendaciones

En la prueba con *Vicia faba*, la aberración predominante fue de cromosomas pegados, esto refleja efectos sumamente tóxicos, generalmente de tipo irreversible llevando a la muerte celular (Turkoglu, 2008). En segundo lugar está la quiebra cromosómica, las sustancias que inducen este proceso son conocidas como clastógenos y su acción en los cromosomas es considerada una acción en el ADN (Grant, 1978; Chauhan&Sundararaman, 1990). Finalmente se tiene a los cromosomas rezagados, resultado de la falla de los cromosomas al moverse a cualquiera de los polos, adicionalmente fragmentos acéntricos aparecen como rezagados (Turkoglu, 2008).

Del estudio estadístico con *Drosophila melanogaster*, tenemos que para el Cruce Estándar (ST), 6 muestras salieron genotóxicas y 6 inconclusivas. Para el cruce de Alta Bioactivación (HB), 7 muestras salieron genotóxicas y 5 inconclusivas. Los resultados inconclusivos expresan que aunque la frecuencia de mutación de las muestras es significativamente mayor respecto a la mutación espontánea, la diferencia entre la frecuencia del número de manchas encontrado en las muestras y el número de manchas presentes en el control negativo no fue significativa. Nótese que en ninguna de las muestras analizadas dio resultado negativo (-), es decir no podemos aseverar que alguna de las muestras no es genotóxica.

El mecanismo molecular de daño al ADN no es comprendido claramente, sin embargo varios autores plantean ideas de posibles mecanismos en la formación de aberraciones cromosómicas, a continuación las más aceptadas.

- Los cromosomas rezagados serían el resultado de la falla de los cromosomas al moverse a cualquiera de los polos, adicionalmente, fragmentos acéntricos aparecen como rezagados (Türkoglu, 2008).
- Cromosomas pegados son posiblemente el resultado de la acrecentada contracción

y condensación de cromosomas (Ahmed & Grand, 1972) o por la despolimerización del ADN (Darlington, 1942) y la disolución parcial de microproteínas (Kaufman, 1958), en todo caso refleja efectos sumamente tóxicos, generalmente de tipo irreversible llevando a la muerte celular.

- En cuanto a la quiebra cromosómica, las sustancias que la producen son conocidas como clastógenos y su acción en los cromosomas es considerado una acción en el ADN (Grant, 1978; Chauhan&Sundararaman, 1990).

Después de estas consideraciones, se puede afirmar la presencia de sustancias genotóxicas en la cuenca analizada, en ambas fechas de muestreo, mutágenos de acción directa e indirecta, es decir que los genotóxicos presentes interactúan con el ADN en su forma original y también después de experimentar un proceso de metabolización, clastógenos que inducen a la quiebra cromosómica y aneugénicos que intervienen en la fijación de las fibras del huso al cinetocoro y, por ende, el desplazamiento de cromosomas en la anafase. Ocasionando alteraciones que pueden desencadenar en enfermedades y cáncer, dependiendo del grado de susceptibilidad del individuo expuesto.

En relación con la ecotoxicidad, la cuenca presentó efectos tóxicos con el bioindicador *Allium cepa* en 11 de los 12 puntos de muestreo, la única muestra no tóxica fue en el Río Pallina después de la confluencia con río Seco, tomada en el mes de abril, posiblemente por el fenómeno de autorrecuperación de los ríos.

Analizados los grados de toxicidad y genotoxicidad, se puede aseverar que la mayor carga contaminante proviene de la ciudad de El Alto, tanto de las descargas de aguas residuales e industriales como de la mala disposición de residuos sólidos.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo fuerzan a desarrollar análisis similares en otros cuerpos de agua que actualmente están sujetos a recibir descargas de aguas residuales en todo

el país, para concientizar a la población sobre los efectos de la contaminación sobre la vida y así obligar a que se tomen medidas más agresivas para mejorar las condiciones ambientales.

6. Referencias

- **Asociación Argentina de Ecotoxicología, 2010.** Definición de Términos, (www.aae.org.ar).
- **Da Silva, Juliana, Erdmann, Bernardo, Pegas Joan Antonio, 2003.** Genética toxicológica. Brasil.
- **Di Giorgio; Sardi, M.; Busto, E.; Valleriga, M.B. y Taja, 2003.** Ensayo de micronúcleos. Italia.
- **Diana, F., Fernández, V., Torres, E., 2000.** Evaluation of genotoxic activity in tannery effluents in the Central Department of the Eastern Region of Paraguay Revista de Ciencia y Tecnología 2, 37–45.
- **Fiskesjo, G., 1988.** The Allium test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research 197, 243–260.
- **Fiskesjo, G., 1993.** The Allium test in a wastewater monitoring. Environ. Toxic. Water 8, 291–298.
- **Frei H, Würigler F.E., 1988.** Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from Drosophila assays indicate positive, negative or inconclusive result. Mutation Research, 203: 297-308.
- **Frei H, Würigler F.E., 1995.** Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination test (SMART). Mutation Research, 334: 247-258.
- **Grant, W.F., 1982.** Chromosome aberration assays in Allium. A report of the USEPA Gene Tox Program. Mutat. Res. 99, 273–291.
- **Grover, I.S., Kaur, S., 1999.** Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the Allium root anaphase aberration and micronucleus assays. Mutat. Res. 426, 183–188.
- **Kaufman, B.P., 1958.** Cytochemical studies of changes induced in cellular materials by ionizing radiations. USA. Ann. New York Acad. Sci. 59, 553.
- **Laura Rivadeneira José Luis, 2008.** Evaluación genotóxica del tomate expuesto a plaguicidas mediante el test en alas de *Drosophila*. UMSA Tesis de grado. Bolivia.
- **Levin, S. A., Harwell M. A., Kell J. R. y Kimball Y K. D., 1989.** Ecotoxicology: Problems and Approaches. Springer-Verlag, USA.
- **Morais Leme D. & Marin-Morales Ma. A., 2009.** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Departamento de Biología, Instituto de Biociencias. Brasil. MutationResearch 682 (2009) 71–81
- **Paz O. et al., 2009.** Valoración de Metales Pesados en la Cuenca del río Katari y su impacto en la calidad de vida el área de influencia. Bolivia.
- **Quesada Lucio Nel, 2009.** Estadísticas con PASW18 SPSS. Editora Macro. Perú.
- **Ribeiro, Salvadori y Maerques, 2003.** Mutagenese Ambiental, editora da ULBRA, Brasil.
- **SrivastavaRicha, KumarDinesh, Gupta S.K., 2005.** Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by Allium cepa. India. BioresourceTechnology 96 1867–1871.
- **TürkogluSifa, 2008.** Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. Turkey. Food and Chemical Toxicology.
- **Villafuerte, 2002.** Evaluación de la Ecotoxicidad Aguda de las aguas de riego del río Choqueyapu. UMSA, Tesis de Pregrado. Bolivia.
- **White P.A., Rasmussen J.B., 1998.** The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. Mutation Research 460, 223–236.