



Citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche mediante el bioindicador ambiental *Vicia faba* L.

Cytotoxicity and genotoxicity of the waters of the Jequetepeque and Moche rivers in the environmental bioindicator *Vicia faba* L.

Raúl Antonio Beltrán Orbegoso*; **Katty Aracely Gonza Carnero**

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria, Trujillo, Peru.

Received February 07, 2016. Accepted July 10, 2017.

Resumen

La evaluación de la toxicidad de las aguas de los ríos como método complementario al análisis físico, químico y biológico proporciona una información integral de la calidad del agua, por tanto, el objetivo del estudio fue determinar los niveles de citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de las cuencas alta, media y baja de los ríos Moche y Jequetepeque, usando el bioindicador ambiental *Vicia faba* L. "haba" (2n = 12). Se germinaron semillas de *V. faba* L.; luego las raicillas emergentes se expusieron, durante tres horas, a siete tratamientos: T1 (100 ml de agua destilada), T2 (1 ml agua de río Jequetepeque / 99 ml de agua destilada), T3 (5 ml agua de río Jequetepeque / 95 ml de agua destilada), T4 (10 ml agua de río Jequetepeque / 90 ml de agua destilada), T5 (1 ml agua de río Moche / 99 ml de agua destilada), T6 (5 ml agua de río Moche / 95 ml de agua destilada) y T7 (10 ml agua de río Moche / 90 ml de agua destilada). Los ápices de las raicillas fueron sometidos a la técnica de Tjio y Levan. El agua de la cuenca media del río Moche del T7, presenta una alta citotoxicidad (índice mitótico de 5,4 % y alteraciones de los índices de fases) y un alto efecto genotóxico; las aguas del río Jequetepeque no evidencian efecto citotóxico ni genotóxico de importancia.

Palabras clave: Citotoxicidad; genotoxicidad; río Jequetepeque; río Moche; *Vicia faba*.

Abstract

Evaluation of the toxicity of the waters of the rivers as method complementary to the analysis of physical, chemical and biological provides a comprehensive water quality information, therefore, the objective of the study was to determine the levels of cytotoxicity and genotoxicity of water of watersheds high, medium and low of the Moche and rivers Jequetepeque, using environmental bioindicator *Vicia faba* L. "bean" (2n = 12). It germinated seeds of *V. faba* L.; then emerging rootlets are exposed, three hours, seven treatments: T1 (100 ml of distilled water), T2 (1 ml water from Jequetepeque river / 99 ml of distilled water), T3 (5 ml water from Jequetepeque river / 95 ml of distilled water), T4 (Jequetepeque river water 10 ml / 90 ml of distilled water), T5 (1 ml water of Moche river / 99 ml of distilled water), T6 (5 ml water of Moche river / 95 ml of distilled water) and T7 (10 ml water of Moche river / 90 ml of water) distilled). Apices were subjected to the technique of Tjio and Levan. The water of the basin of the Moche river of the T7, presents the greatest effect cytotoxic (mitotic index of 5.4% and alterations in indices of phases) and a genotoxic effect; the waters of the Jequetepeque river not demonstrate effect cytotoxic or genotoxic of importance.

Keywords: Cytotoxicity; genotoxicity; Jequetepeque river; Moche river; *Vicia faba*.

1. Introducción

La actividad antrópica representa un problema ambiental en el mundo. Los ríos, lagos, lagunas y humedales, interiores o costeros, han sido manejados como

formaciones naturales destinadas a satisfacer solo las necesidades humanas sin importar su rol en la estructura y dinámica de los ecosistemas lóticos y lénticos (ANA, 2005; Jun *et al.*, 2011; Puga *et al.*,

* Corresponding author
E-mail: rbeltran@unitru.edu.pe (R. Beltrán).

2006; Ramírez-Pérez y Blas, 2017; Taylor *et al.*, 2016).

A nivel mundial, las investigaciones sobre la contaminación de las aguas continentales son un tema de actualidad. Se ha estudiado, por ejemplo, los efectos del níquel en los ríos de la cuenca amazónica (Holland *et al.*, 2017); el impacto del radio procedente de minas de carbón en aguas de río de Polonia (Chalupnik *et al.*, 2017); la abundancia de disolventes orgánicos en aguas de ríos, lagos y mar de China (Xu y Guo, 2017); el riesgo acuático generado por pesticidas en ríos de la cuenca del Mediterráneo (Silva *et al.*, 2015).

En Perú, la situación de los recursos hídricos continentales es crítico, pues la contaminación de las aguas, suelo, flora y fauna asociados a las cuencas de los ríos debido a los residuos de las actividades minera, petrolera, doméstica e industrial; la expansión territorial no planificada de las ciudades y los continuos derrames de hidrocarburos en la selva norte y central, configuran una visión poco alentadora sobre la conservación de dichos recursos en el país (INRENA, 1996; MINAM, 2009). En ese sentido, trabajos realizados sobre la calidad de agua en el lago Titicaca (Beltrán *et al.*, 2015); el estado de biodiversidad del río Cunas en Junín (Custodio y Chanamé, 2016); la contaminación por metales pesados en la cuenca del río Moche (Huaranga *et al.*, 2012), reflejan la preocupación de los investigadores por estudiar la calidad de nuestros recursos hídricos continentales a fin de formular planes de gestión, mejora o recuperación ambiental pertinentes (Jun *et al.*, 2011; Plasencia, 2004; Puga *et al.*, 2006; Ramírez-Pérez y Blas, 2017; Taylor *et al.*, 2016). La importancia de investigar el recurso agua se manifiesta en los fundamentos de la Política Nacional Ambiental (PNA) del Ministerio del Ambiente, al señalar que el deterioro de la calidad del agua es uno de los problemas más graves del país, y que no obstante persistir algunos retos como el limitado recurso financiero, la investigación científica y tecnológica debe procurar consolidar

instrumentos de gestión ambiental (MINA, 2009). Por tanto, dentro de la perspectiva de la PNA, se propone que la evaluación integral de la calidad de las aguas de los ríos debe considerar no solo el análisis físico, químico y biológico como actualmente se realiza, sino también el análisis del nivel de toxicidad del agua. Toxicidad que puede ser determinada mediante el uso de bioindicadores, método basado en la propiedad que tienen ciertos organismos o poblaciones celulares de detectar contaminantes en un medio o de identificar la pérdida de calidad de un ambiente (Di Marzio y Sáenz, 2013). Se ha reportado el uso de macroinvertebrados (Moya *et al.*, 2009), del microcrustáceo *Daphnia magna* (Iannacone y Alvarino (2007), de coleópteros y quironómidos, a *Lemna minor* y *Lactuca sativa* (Di Marzio y Sáenz, 2013), del salmónido *Oncorhynchus* (Lacaze *et al.*, 2014) como organismos bioindicadores. Así mismo, ciertas poblaciones celulares procariontas y eucariotas, se utilizan como bioindicadores de sustancias que inducen la alteración del ciclo celular (citotóxicos), anormalidades cromosómicas (genotóxicos) y cuadros malignos (carcinógenos). Por ejemplo, un protocolo celular procarionta validado a nivel mundial es el test de Ames, un ensayo biológico que identifica el potencial mutagénico de compuestos químicos en cultivos bacterianos (Gadaleta *et al.*, 2016; Huamán *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2016).

En cuanto a las células eucariotas vegetales, las más empleadas en pruebas de toxicidad son *Allium cepa* L., *Hordeum vulgare* L. y *Vicia faba* L., quienes, por sus reducidos genomas diploides de 16, 14 y 12 cromosomas, respectivamente, se han convertido en biomonitores del nivel citotóxico y/o genotóxico de productos químicos usados en la alimentación, salud, industria, agricultura (Amin *et al.*, 2009; Beltrán, 2013; Dítica y Anila, 2013; Osman, 2014). Sin embargo, a pesar de su propiedad de biosensores, los vegetales mencionados no se han usado en Perú en la evaluación de la calidad de las aguas de los ríos. En el país se desconocen los niveles

citotóxicos y genotóxicos de las aguas de los ríos, así como los efectos que estarían ocasionando en los seres vivos pues no se ha sistematizado un método para evaluar la toxicidad del agua. En ese sentido, la presente investigación se orienta a estudiar los niveles de citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche ubicados en la Región La Libertad, Perú, usando el bioindicador ambiental *Vicia faba* L., cuyo genoma $2n = 12$, constituido por un par de cromosomas metacéntricos con satélites y cinco pares de cromosomas acrocéntricos, tiene la propiedad de alterarse ante sustancias contaminantes (Bath *et al.*, 2005; Beltrán, 2009; Beltrán y Beltrán, 2016; Garrido *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2012; Menone *et al.*, 2015; Mohammed y Ghassan, 2014). La investigación responde a los objetivos de la PNA al proponer un método sencillo, de bajo costo, rápido y sensible que permita conocer el nivel de toxicidad de las aguas de los ríos, sobre todo de aquellas que vienen soportando una alta polución por residuos mineros, industriales, agrícolas, petroleros, capaces de inducir anomalías en el material genético de los seres vivos (Goswami *et al.*, 2016; Lacaze *et al.*, 2014; Vaz y Marin-Morales, 2017). La evaluación de la toxicidad de las aguas de los ríos es importante porque complementado con el análisis físico, químico y biológico proporcionará una información integral de la calidad de las aguas de ríos, para propiciar y asegurar el uso sostenible, responsable, racional y ético del recurso natural en armonía con su entorno. Por tales razones, el objetivo del estudio fue determinar los niveles de citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche usando el bioindicador ambiental *Vicia faba* L.

2. Materiales y métodos

Área de estudio

Los ríos Jequetepeque y Moche se ubican en la región La Libertad (costa norte de Perú), pertenecen a la región hidrográfica

del Pacífico (ANA, 2005). La cuenca del río Jequetepeque se halla comprendida entre los $7^{\circ}6'S$ a $7^{\circ}30'S$ y $78^{\circ}30'O$ a $79^{\circ}40'O$; recorre en su tramo posterior a la represa de Gallito Ciego la provincia de Tembladera (región Cajamarca) y las provincias de Chepén y Pacasmayo (región La Libertad).

La cuenca del río Moche se halla comprendida entre los $7^{\circ}46'S$ a $8^{\circ}15'S$ y $78^{\circ}16'O$ a $79^{\circ}08'O$. Recorre las provincias de Santiago de Chuco, Julcán, Otuzco y Trujillo (región La Libertad).

Puntos de muestreo en los ríos Jequetepeque y Moche

a) Río Jequetepeque: a) Cuenca alta: Gallito Ciego (coordenadas UTM 17M 696886,32 E; 9199106,64 S); b) cuenca media: Bocatoma Talambo-Zaña (coordenadas UTM 17M 680726,92 E; 9190000,29 S); c) cuenca baja: Fatclo Grande (coordenadas UTM 17M 656144,22 E; 9188362,11 S).

b) Río Moche: a) Cuenca alta: Shorey (coordenadas UTM 17L 794974,00 E; 9113188,62 S); b) cuenca media: Puente Tim Tim, Samne (coordenadas UTM 17M 756160,82 E; 9116021,53 S); c) cuenca baja: Puente Moche (coordenadas UTM 17L 718884,03; 9099335,80 S).

Recolección y conservación de las muestras de agua

Las muestras de agua de las tres cuencas de los ríos Jequetepeque y Moche fueron recolectadas al azar en las partes ribereña y central, durante noviembre (época de estiaje), en envases de polietileno de boca ancha, con tapa, de 1L. Los envases fueron colocados en un cooler para hielo Qibing, a temperaturas de 5 a 10 °C para evitar la alteración de las aguas. Luego, los cooler se llevaron de inmediato al laboratorio.

Inducción del desarrollo radicular en el bioindicador *Vicia faba* L

Las semillas de *V. faba* L. var. minor son certificadas y libres de transgénicos, proceden de la empresa exportadora Cultivos Andinos MARA (Cusco, Perú) con registro FDA (USA) 19441326648.

Las semillas fueron catalogadas por el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Luego, en el laboratorio de Ecotoxicidad Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNT, se realizó una evaluación pre-experimental del nivel germinativo de la semilla y de la calidad citológica del ápice de la raicilla mediante un microscopio compuesto de campo claro Olympus CX21 (Philippines) hallándose las células y cromosomas completamente normales. Corroborando la calidad de las semillas, 60 de ellas se colocaron para inducir el crecimiento radicular. Cuando las semillas presentaron raicillas secundarias de 2 cm de longitud se seleccionaron las más turgentes por evaluación sensorial, para determinar la citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos.

Diseño experimental

Las raicillas secundarias de *V. faba* L. fueron expuestas durante tres horas a siete tratamientos: T1 (100 ml de agua destilada), T2 (1 ml agua de río Jequetepeque / 99 ml de agua destilada), T3 (5 ml agua de río Jequetepeque / 95 ml de agua destilada), T4 (10 ml agua de río Jequetepeque / 90 ml de agua destilada), T5 (1 ml agua de río Moche / 99 ml de agua destilada), T6 (5 ml agua de río Moche / 95 ml de agua destilada) y T7 (10 ml agua de río Moche/ 90 ml de agua destilada); cada tratamiento incluyó agua de las cuencas alta, media y baja. El sistema experimental se mantuvo bajo aireación constante con una bomba aireadora Elite 799 Hegan.

Obtención de preparados citológicos

Finalizada la exposición de las raicillas a las aguas, se disecaron los ápices para someterlos a la técnica de Tjio y Levan (Beltrán, 2016). Los preparados citológicos se observaron a 400X en un microscopio compuesto de campo claro Olympus CX21 (Philippines), donde se realizó el recuento de aproximadamente 2000 células por tratamiento. La citotoxicidad se evaluó mediante los índices mitóticos de *V. faba*

L. y la genotoxicidad a través del tipo y número de aberraciones cromosómicas.

Análisis estadístico

Las medias de los porcentajes del índice mitótico de *V. faba* L. fueron sometidas a la prueba de Anova para determinar diferencia significativa en algún tratamiento y a la prueba de Tukey para determinar en qué tratamiento o tratamientos estaría la diferencia significativa. Se usó el programa estadístico Statgraphc 5.2 con una probabilidad de error del 5%.

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presenta el consolidado de los niveles de citotoxicidad de las aguas de las tres cuencas de los ríos Jequetepeque y Moche, expresados en índices interfásico (II) y mitótico (IM), así como en índice profásico (IP), metafásico (IME), anafásico (IA) y telofásico (IT) del bioindicador *Vicia faba* L.

El IM, caracterizado por el número total de células en división, es el criterio fundamental para evaluar la citotoxicidad del agente investigado (Beltrán, 2016), incluso el IM es usado como un parámetro para pronosticar carcinomas humanos (Kir *et al.*, 2016). Se observa que el IM de *V. faba* L. en T1 (control) es de 10,8%, el valor indica que, por cada 100 células, 11 ingresan a división. Por tanto, valores inferiores indican citotoxicidad de las aguas pues afecta el número de células que ingresan a división; valores superiores señalan un efecto contrario de inducción de la reproducción celular, llevando a una proliferación descontrolada (Lodish *et al.*, 2012).

La Tabla 1 evidencia una disminución del IM en todos los tratamientos con respecto al control. Las aguas de la cuenca baja del río Jequetepeque en el T4 (10 ml agua de río Jequetepeque / 90 ml de agua destilada) induce la más baja proporción de IM (7,8%); sin embargo, las aguas de la cuenca media del río Moche (zona de puente Tim Tim, Samne) en el T7 (10 ml agua de río Moche/ 90 ml de agua destilada) generan el IM más reducido en

todo el trabajo con 5,4%. Si comparamos este valor (5,4%) con el IM control (10,8%), vemos que las aguas del río Moche de T7 impiden en un 50% el ingreso de células a división, lo cual demuestra una alta citotoxicidad de las aguas. La reducción del IM se debe a que las aguas de dicha zona soportan una alta incorporación de residuos de la minería formal e informal los cuales presentan plomo, cadmio, mercurio e incluso arsénico en cantidades superiores a los valores permisibles, hecho que se observa en la coloración amarillenta y a veces rojiza de las aguas, suelo, rocas e incluso plantas ribereñas (Figura 1).

Los residuos metálicos mencionados afectarían la integración del complejo CdK1-ciclina B responsable de la formación del

factor promotor de la mitosis (FPM) generando las alteraciones de los índices metafásico (5,1%), anafásico (3,3%) y telofásico (4,4%) (Lodish *et al.*, 2012; Vicente y Wordeman, 2015). Al ser sometidos los valores IM de la Tabla 1 a las pruebas de Anova y Tukey, vemos que el IM (5,4) generado por las aguas de la cuenca media del río Moche es significativo con respecto a los restantes tratamientos.

En cuanto a los índices de fases, se observa en la Tabla 1 que todas las proporciones están alteradas, siendo solo el índice profásico (IP) donde se muestra valores superiores al control; el hecho se explica por el efecto citostático que están también induciendo las sustancias presentes en las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche.

Tabla 1

Niveles de citotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche, de sus tres cuencas, evidenciados mediante el promedio de los índices interfásico (II) y mitótico (IM) e índice de fases (profásico, metafásico, anafásico y telofásico) del bioindicador *Vicia faba* L.

Ríos	Tratamientos	Cuencas	II	IM	IP	IMe	IA	IT
Control	T1		89,2	10,8 ± 0,32	78,1	8,2	6,7	7,0
Jequetepeque	T 2	Alta	90,1	9,9 ± 0,21	80,7	7,3	5,7	6,3
		Media	90,5	9,5 ± 0,19 ^a	82,2	6,7	5,3	5,8
		Baja	90,6	9,4 ± 0,30	82,4	6,7	5,2	5,7
	T 3	Alta	91,4	8,6 ± 0,32	82,2	7,0	5,1	5,7
		Media	91,8	8,2 ± 0,28 ^a	83,4	6,5	4,7	5,4
		Baja	92,0	8,0 ± 0,17	82,7	6,6	5,0	5,7
T 4	Alta	91,9	8,1 ± 0,37	82,7	6,9	4,9	5,5	
	Media	92,1	7,9 ± 0,22 ^b	84,2	6,4	4,3	5,1	
	Baja	92,2	7,8 ± 0,29	83,9	6,4	4,5	5,2	
Moche	T 5	Alta	90,9	9,1 ± 0,32	82,2	6,9	5,2	5,7
		Media	91,2	8,8 ± 0,32 ^a	82,6	6,6	5,1	5,7
		Baja	91,0	9,0 ± 0,32	82,2	6,7	5,3	5,8
	T 6	Alta	91,8	8,2 ± 0,32	83,1	6,6	4,8	5,5
		Media	93,1	6,9 ± 0,32 ^b	83,6	6,4	4,6	5,4
		Baja	92,4	7,6 ± 0,32	82,8	6,4	5,1	5,7
	T 7	Alta	92,6	7,4 ± 0,32	84,2	6,3	4,4	5,1
		Media	94,6	5,4 ± 0,32 ^c	87,2	5,1	3,3	4,4
		Baja	93,5	6,5 ± 0,32	84,6	6,4	4,2	4,8

^{a,b,c} p < 0,05 respecto al control (sólo en las cuencas media).

II = índice interfásico, IM = índice metafásico, IP = índice profásico, IMe = índice metafásico,

IA = índice anafásico, IT = índice telofásico.

Los índices se expresan en porcentajes.

Se contaron 2000 células de *V. faba* L. en cada cuenca de cada tratamiento.



Figura 1. Aguas del río Moche en su cuenca media (puente Tim Tim, Samne) en período de estiaje, las que indujeron el mayor nivel de citotoxicidad y genotoxicidad.

Las aguas de la cuenca media del río Moche (T7) vemos que no solo generan la mayor reducción del IM como ya se ha analizado, sino que también induce el mayor valor de IP (87,2%), lo cual significa que una mayor cantidad de células, en comparación al control de 78,1%, se hallan retenidas en profase. Esto sugiere que las sustancias presentes en el agua están evitando la disgregación de la envoltura nuclear o la fosforilación de la lámina nuclear, hechos que caracterizan al paso de profase a metafase (Alberts *et al.*, 2014; Lodish *et al.*, 2012).

A diferencia del incremento del valor IP inducida por las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche, los valores de índice metafásico (IMe), índice anafásico (IA) e índice telofásico (IT) están reducidos en los tratamientos de T1 a T6. En el caso del IMe, las reducciones del valor se deberían a los compuestos contaminantes presentes en las aguas de los ríos afectarían a las proteínas del mantenimiento estructural cromosómico (SMC) o condensinas, quienes realizan la polimerización de microtúbulos para la formación del huso acromático que posibilita la transición normal de las células desde la profase hacia la metafase y anafase (Lodish *et al.*, 2012; López y Valentine, 2015; Vicente y Wordeman, 2015).

En cuanto a IA e IT, la disminución más notoria ocurre también en T7 con las aguas de la cuenca media del río Moche con valores de 3,3% y 4,4% (Tabla 1). El resultado es de esperarse debido a que el río Moche en su cuenca media comprendido entre las localidades de Otuzco y Samne (Figura 2) soporta actualmente la mayor contaminación por los relaves mineros procedentes de las empresas Barrick y Southern así como por los mineros “informales” que actualmente vienen extrayendo oro y plata en ciertos lugares como Milluachaqui y Salpo en condiciones rústicas y usando sustancias de gran efecto citotóxico.

Los tratamientos T2, T3 y T4 en donde se evaluaron las aguas de la cuenca alta, media y baja del río Jequetepeque (tabla 1) muestran índices de fases cercanos al IM control de 10,8%, lo cual evidencia que las aguas del río Jequetepeque muestran un nivel citotóxico menor que el río Moche, pues como se manifestó anteriormente, el río Jequetepeque evaluado es el que se forma a partir de la represa de Gallito Ciego; por tanto, las aguas del río no soportan un alto impacto como el río Moche.

En los últimos años, se está promoviendo el aprovechamiento sostenible, conservación de la calidad, uso eficiente del agua y la recuperación de zonas afectadas por pasivos ambientales procedentes de la actividad agrícola e industrial (ANA, 2005). La construcción del reservorio Gallito Ciego en 1988 ha permitido regular e incrementar la disponibilidad de agua del río Jequetepeque al almacenar los excedentes de agua y evitar el exceso de contaminación (UNI, 2000). En el futuro, debe encararse el problema del gasto de agua en el cultivo de *Oryza sativa* L. “arroz” en la cuenca del Jequetepeque. Según el Ministerio de Agricultura y Riego (Minagri) cada hectárea de cultivo de arroz necesita en promedio 14000 metros cúbicos (m³) de agua más que el cultivo de una hectárea de quinua, siendo más rentable la reconversión de cultivos.

En la Tabla 2 se observa la genotoxicidad inducida por las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche, en sus tres cuencas, en forma de aberraciones cromosómicas (AC) clastogénicas y aneugénicas; las clastogénicas indican que la sustancia en estudio ha roto el ADN o ha evitado una normal replicación o reparación del mismo, las aneugénicas señalan que la sustancia ha modificado la segregación de los cromosomas (Mohammed y Ghassan, 2014; Restrepo *et al.*, 2012).

Las aguas del río Jequetepeque no inducen AC en *V. faba* L., en cambio, las aguas del río Moche correspondientes a los tratamientos T5, T6 y T7 si lo hacen, siendo las aguas de la cuenca media del Moche (T7) las que generan el mayor número y tipos de AC. En efecto, en la Tabla 2 se muestra que las AC clastogénicas más frecuentes

han sido el puente cromosómico (Figura 2, B) y el cromosoma aislado (Figura 2, D), en ambos casos los cromosomas han sufrido un rompimiento de su estructura dúplex o han presentado alteraciones en su proceso replicativo o reparativo por las sustancias químicas presentes en el agua del río Moche. La otra explicación de la presencia de estas dos AC clastogénicas se debería a que las sustancias presentes en el agua generan agentes de vida corta de poder mutagénico (Alberts *et al.*, 2014; Mohammed y Ghassan, 2014). Al realizar un análisis químico de las aguas de la cuenca media del río Moche se hallaron 0,211 ppm de plomo y 0,003 de cadmio, los cuales serían los responsables de dichas AC junto a otras moléculas no identificadas en el trabajo.

Tabla 2

Niveles de genotoxicidad, de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche, de sus tres cuencas, expresados en porcentajes de aberraciones cromosómicas, inducidas en *Vicia faba* L.

Rios	Tratamientos	Cuencas	Aberraciones cromosómicas					
			Clastogénicas			Aneugénicas		
			P	CA	CE	CM	CP	YM
Control	T1		-	-	-	-	-	-
Jequetepeque	T 2	Alta	-	-	-	-	-	-
		Media	-	-	-	-	-	-
		Baja	-	-	-	-	-	-
Jequetepeque	T 3	Alta	-	-	-	-	-	-
		Media	-	-	-	-	-	-
		Baja	-	-	-	-	-	-
Jequetepeque	T 4	Alta	-	-	-	-	-	-
		Media	-	-	-	-	-	-
		Baja	-	-	-	-	-	-
Moche	T 5	Alta	1	-	-	-	-	-
		Media	-	-	-	2	-	-
		Baja	1	-	-	-	1	-
Moche	T 6	Alta	2	1	-	1	1	-
		Media	2	1	2	3	1	-
		Baja	1	2	-	2	3	1
Moche	T 7	Alta	3	2	3	3	2	2
		Media	6	2	3	4	2	3
		Baja	1	3	2	3	2	1

P = puente cromosómico, CA = cromosoma aislado, CE = cromosoma espiralado, CM = c-metafase, CP = cromosoma pegajoso, YM = yema nuclear. Se contaron 2000 células de *V. faba* L. en cada cuenca de cada tratamiento.

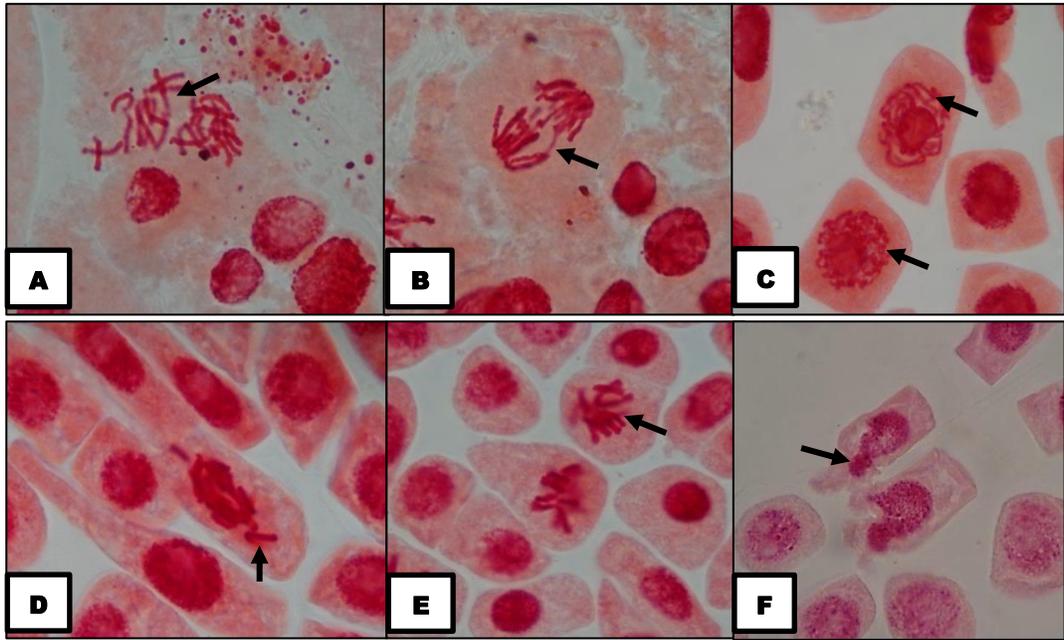


Figura 2. Aberraciones cromosómicas de *Vicia faba* L., señaladas con las flechas, inducidas por las aguas de las cuencas alta, media y baja del río Moche en T5, T6 y T7. A) c-metáfase. B) puente cromosómico. C) cromosoma en espiral. D) cromosoma aislado. E) cromosomas pegajosos. F) yema nuclear. Aumento: 1000X.

Respecto a las AC aneugénicas frecuentemente observadas en el estudio han sido el cromosoma en espiral (Figura 2C), la c-metáfase (Figura 2A) y el cromosoma pegajoso (Figura 2E); en menor proporción la yema nuclear (Figura 2F). Como se afirmó anteriormente, estas AC se originan cuando en la célula se afectan las estructuras y moléculas relacionadas con la disposición espacial de los cromosomas en la división. En el caso de la c-metáfase (Figura 2A) y el cromosoma pegajoso (Figura 2E) ambas ocurren durante metafase, en que los cromosomas se deberían haber dispuesto ordenadamente en el plano ecuatorial de la célula; sin embargo, como puede verse en las figuras los cromosomas se observan dispersos (Figura 2A) o groseramente reunidos (Figura 2E). La explicación se debería a que un componente del citoesqueleto eucariota denominado microtúbulo, el cual actúa en metafase y anafase permitiendo el arreglo de los cromosomas para una cariocinesis normal ha sido desorganizado. Ahora, el microtúbulo actúa en sinergia con otras proteínas denominadas quine-

sinas las cuales se encargan de “arrastrar” con precisión a los cromosomas sobre el microtúbulo que actúa como “riel” (Lodish *et al.*, 2012; Lopez y Valentine, 2015; Vicente y Wordeman, 2015). Por tanto, las sustancias existentes en el río Moche ha desorganizado el aparato mitótico de la célula.

Por otro lado, el cromosoma en espiral (Figura 2C) y la denominada yema nuclear (Figura 2F) tienen otro origen. En el primer caso, vemos que la célula se halla al término de la profase pues no se observa envoltura nuclear, pero los cromosomas en lugar de condensarse homogéneamente para “entrar” a metafase, lo hacen aparentemente en forma de espirales al interactuar con compuestos oxidativos presentes en el agua problema, haciendo posible la formación de estas figuras cromosómicas anómalas (Alberts *et al.*, 2014; Lodish *et al.*, 2012).

En cuanto a la formación de la yema nuclear, esta formación no es propiamente una AC, sino una estructura que se visualiza en las células de *V. faba* L. que han finalizado la división celular y que se

hallan en la siguiente interfase. Vemos que las células presentan un núcleo interfásico deforme y la yema que emerge en la superficie del núcleo. La formación de la yema nuclear tiene muchas controversias. Aparentemente las células están muertas por la deformidad que presenta también el citoplasma. Esta malformación celular indicaría un grado severo de aberración cromosómica que la célula sufrió ante un agente existente en las aguas del río Moche y que le fue imposible repararlo llevándolo hasta el próximo ciclo celular. En investigaciones recientes, la yema nuclear se ha observado también en núcleos normales no expuestos a sustancias tóxicas, por lo que se afirma sería una “forma” en que la célula traslapa sustancias de alta complejidad desde el núcleo hacia la célula, sin usar los poros nucleares (Fradkin y Budnik, 2016). La yema nuclear junto con el micronúcleo, no observado en el trabajo, serían los extremos indicadores de daño genético de las células por agentes químicos.

Los resultados hallados en el trabajo demuestran el alto grado de contaminación química de las aguas del río Moche, por tanto, la ejecución de un programa de recuperación ambiental del mismo es prioritaria para la región La Libertad. Así mismo, los resultados hallados en las células somáticas de *V. faba* L. podrían extrapolarse a organismos animales y tener una visión del grado en que vienen siendo afectados la flora y fauna asociadas al río en la perspectiva de conservar los recursos naturales y mejorar la calidad de vida del poblador de la zona.

4. Conclusiones

El método de la evaluación de la toxicidad de las aguas de los ríos mediante el bioindicador ambiental *V. faba* L. responde a la Política Nacional Ambiental de lograr una información integral de la calidad del agua de una forma rápida, sencilla, de bajo costo y alta sensibilidad.

Las aguas de la cuenca media del río Moche del tratamiento T7 presentan el mayor efecto citotóxico en *V. faba* L. al

inducir un índice mitótico de 5,4 %, un aumento del índice profásico de 87,2 % y reducciones de los índice metafásico (5,1%), anafásico (3,3 %) y telofásico (4,4 %) y un alto efecto genotóxico por la presencia de aberraciones cromosómicas clastogénicas y aneugénicas; las aguas del río Jequetepeque no evidencian efecto citotóxico ni genotóxico de importancia.

La evaluación de la toxicidad de las aguas de los ríos mediante bioindicadores como método complementario al análisis físico, químico y biológico proporcionará una base teórica y metodológica para el desarrollo de futuras investigaciones en los cuerpos de agua lóticos y lénticos de Perú que hoy se hallan sometidos a una intensa presión por residuos de la actividad minera, petrolera e industrial esencialmente.

Referencias bibliográficas

- Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2014. Molecular Biology of the Cell (6^o ed.). New York: Garland Science. 1616 p.
- Amin, A.W.; Sherif, F.K.; El-Atar, H.; Ez-Eldin, H. 2009. Effect of residual and accumulative sewage sludge on heavy metals bioaccumulation: gene action and parameters of *Vicia faba*. Research Journal of Environmental Toxicology 3(2):60-75.
- Autoridad Nacional del Agua (ANA). 2005. Política y estrategia nacional de los recursos hídricos. Disponible en: <https://gestionsostenibledelagua.files.wordpress.com/2015/05/ds-006-2015-minagri-penrh.pdf>
- Bath, T.A.; Sharma, M.; Anis, M. 2007. Comparative analysis of mitotic aberrations induced by sodium azide in *Vicia faba* L. Journal of Biological Sciences 10(5): 783-787.
- Beltrán, D.F.; Palomino, R.P.; Moreno, E.G.; Peralta, C.G.; Montesinos, D.B. 2015. Calidad de agua de la bahía interior de Puno, lago Titicaca durante el verano del 2011 22(3):335-340.
- Beltrán, R.A. 2009. Perfiles ecotoxicológicos de solventes de la industria del calzado y de plaguicidas agroquímicos mediante los biomonitores *Vicia faba* y *Allium cepa* en la región La Libertad. Libro de resúmenes, Cong. Intern. de Ecología y Medio Ambiente: 152 pp.
- Beltrán, R.A. 2013. Acción genocontaminante del agroquímico metamidofos y del saborizante glutamato monosódico en el ciclo nucleolar de *Allium cepa* L. Conocimiento para el desarrollo 4(2):109-116.
- Beltrán, R.A.; Beltrán, P.M. 2016. Regulación del ciclo celular (CC) de *Vicia faba* L por el extracto alcohólico de *Annona cherimola* Mill “chirimoya”. Scientia Agropecuaria 7(3): 245 – 251.
- Chalupnik, T.; Wysocka, M.; Janson, E.; Chmielewska, I.; Wiesner, M. 2017. Long term changes in the concentration of radium in discharge waters of coal

- mines and Upper Silesian rivers. *Journal of Environmental Radioactivity* 171: 117-123.
- Custodio, M.; Chanamé, F.C. 2016. Análisis de la biodiversidad de macroinvertebrados del río Cunas mediante bioindicadores ambientales, Junín, Perú. *Scientia Agropecuaria* 7(1): 33-44.
- Di Marzio, W.D.; Sáenz, M.E. 2013. *Ecotoxicología*. Buenos Aires: Eudeba. 366p.
- Dotica, K.; Anila, M. 2013. Assessment of cytotoxic and genotoxic potency of Cr(VI)-doped river water of nenshkodra lowland, Albania, On *Allium cepa* L. *Journal Environmental Research Development* 7 (4): 1322-1332.
- Fradkin, L.G.; Budnik, V. 2016. This bud's for you: mechanisms of cellular nucleocytoplasmic trafficking via nuclear envelope budding. *Current opinion in cell biology* 41: 125-131.
- Gadaleta, D.; Manganelli, S.; Manganaro, A.; Porta, N.; Benfenati, E. 2016. A knowledge-based expert rule system for predicting mutagenicity (Ames test) of aromatic amines and azo compounds. *Toxicology* 370: 20-30.
- Garrido, G.; Martín, V.; Esteller, R.; Vaca, J.; Lugo, J. 2005. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effect on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba* L.). *Water, Air & Soil Pollution* 166(1-4): 303-319 pp.
- Goswami, P.; Ohurac, T.; Gurugea, K.; Yoshioka, M.; Yamanaka, N.; Akiba, M.; Munuswamy, N. 2016. Spatio-temporal distribution, source, and genotoxic potential of polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine and riverine sediments from southern India. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 130: 113-123.
- Holland, A.; Wood, C.; Scott, D.; Correia, T.; Val, A.L. 2017. Nickel toxicity to cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) differs seasonally and among the black, white and clear river waters of the Amazon basin. *Water research* 123: 21-29.
- Huaman, F.D.; Toscano, E.M.; Acosta, O.; Rojas, D.E.; Inocente, M.A.; Garrido, D.; Guevara-Fujita, M.L. 2014. Estudio genotóxico de una bebida experimental de quinua, kiwicha y kañiwa. *Revista Peruana de Biología* 21(3): 25 -258.
- Huaranga M., F.; Méndez, E.; Quilcat, V.; Huaranga A., F. 2012. Contaminación por metales pesados en la Cuenca del Río Moche, 1980 – 2010, La Libertad – Perú. *Scientia Agropecuaria* 3: 235–247.
- Iannaccone, J.; Alvarino, L. 2007. Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada* 6(1-2):101-110.
- Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA). 1996. Diagnóstico de la calidad de agua de la vertiente del Pacífico. Ministerio de Agricultura. Lima- Perú; 170 pp.
- Jun, S.; Erpeng, Z.; Chun, L. 2011. The Environment Protection Strategy of Kiaochow Bay Rim in Qingdao, China. *Energy Procedia* 5:567–571.
- Kir, G.; Sarbay, B.C.; Gumus, E. 2016. Significance and outcome of nuclear anaplasia and mitotic index in prostatic adenocarcinomas. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 34(10): 430.e9–430.
- Lacaze, E.; Devaux, A.; Bruneau, A.; Bony, S.; Sherry, J.; Gagné, F. 2014. Genotoxic potential of several naphthenic acids and a synthetic oil sands process-affected water in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 152:291-299.
- Lodish, H.; Baltimore, D.; Berk, S.; Zipursky, S.L.; Matsudaira, P.; Darnell, J. 2012. *Molecular Cell Biology*. New York: Edit. Scientific American Books. INC.
- Lopez, B.J.; Valentine, M.T. 2015. Molecular control of stress transmission in the microtubule cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta* 1853:3015-3024.
- Ma, X.; Wang, X.; Liu, Y. 2012. Cytotoxicity and genotoxicity evaluation of urban surface waters using freshwater luminescent bacteria *Vibrio-qinghaiensis* sp.-Q67 and *Vicia faba* root tip. *Journal of Environmental Sciences* 24(10): 1861–1866.
- Menone, M.L.; Pérez, D.J.; Lukaszewicz, G.; Camadro, E.L. 2015. Identification of freshwater hydrophytes for Genotoxicity assessment of aquatic pollutants. *Journal of Basic & Applied Genetics* 26: 9-17.
- Ministerio del Ambiente (MINAM), 2009. *Política Nacional del Ambiente*. Lima: Edit. Minam.
- Mohammed, A.A.; Ghassan, M.D. 2014. Mutagenic effects of glyphosate (IPA) herbicides using the *Vicia faba* L. Root tip. *World Journal of Biology and Biological Sciences* 2(2): 044-048.
- Moya, N.; Gibon, F.; Oberdoff, T.; Rosales, C.; Dominguez, E. 2009. Comparación de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos en ríos intermitentes y permanentes del altiplano boliviano: implicaciones para el futuro cambio climático. *Ecología Aplicada* 8(2): 106-114.
- Ortega, L.; Ordoñez, K.; Henao, B.; Guio, A.; Peláez, C. 2014. Efectos genotóxicos de los contaminantes ambientales, en peces de importancia comercial del río Magdalena, en el departamento del Tolima. *Revista Tumbaga* 1(9): 21-53.
- Osman, A.G. 2014. Genotoxicity Tests and Their Contributions in Aquatic Environmental Research. *Journal of Environmental Protection* 5: 1391-1399.
- Plasencia, V. 2004. Evaluación de algunos metales que afectan la calidad del agua del río Moche. Tesis Maestría Lima. Facultad de ciencias Forestales. UNALM; 65 pp.
- Puga, S.; Sosa, M.; Lebgue, T.; Quintana, C.; Campos, A. 2006. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera: Heavy metals pollution in soils damaged by mining industry. *Ecología Aplicada* 5(1-2): 150-155.
- Ramírez-Pérez, A.M.; Blas, E. 2017. Iron reactivity in anoxic sediments in the Ría de Vigo (NW Spain). *Chemosphere* 174: 8–19.
- Restrepo, R.; Reyes, D.; Ortiz, M.C.; Rojas, F.A.; Kouznetsov, V.V. 2012. Aberraciones cromosomales en bulbos de cebolla *Allium cepa* inducidas por moléculas híbridas 4 aminoquinolónicas. *Universitas Scientiarum* 17(3): 253-261.
- Silva, E.; Daam, M.A.; Cerejeira, M.J. 2015. Aquatic risk assessment of priority and other river basin specific pesticides in surface waters of Mediterranean river basins. *Chemosphere* 135: 394-402.
- Silva, N.M.; Resende, M.R.; Morales, D.A.; Umbuzeiro, G.; Gomes, M.F. 2016. In vitro mutagenicity assay (Ames test) and phytochemical characterization of seeds oil of *Helianthus annuus* Linné (sunflower). *Toxicology Reports* 3: 733-739.
- Taylor, S.D.; He, Y.; Hiscock, K.M. 2016. Modelling the impacts of agricultural management practices on river water quality in Eastern England. *Journal of Environmental Management* 180: 147-163.
- Universidad Nacional de Ingeniería (UNI). 2000. Estudio de Evaluación Ambiental Territorial y de Planeamiento para la reducción de la contaminación de origen minero en la cuenca del río Jequetepeque.

- Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica de la UNI. Octubre. Lima. Perú.
- Vaz H.R.; Marin-Morales, M.A. 2017. *In vitro* and *in vivo* investigation of the genotoxic potential of waters from rivers under the influence of a petroleum refinery (São Paulo State – Brazil). *Chemosphere* 174: 321-330.
- Vicente, J.J.; Wordeman, L. 2015. Mitosis, microtubule dynamics and the evolution of kinesins. *Experimental Cell Research* 334:61–69.
- Xu, H.; Guo, L. 2017. Molecular size-dependent abundance and composition of dissolved organic matter in river, lake and sea waters. *Water Research* 117: 115-126.