

## Evaluación del efecto citotóxico y genotóxico de las aguas de ríos urbanos mediante test biológicos

D. Kuczynski

Instituto de Ecología y Contaminación Ambiental (IECA) - Universidad de Morón

E-mail: dkuczynski@unimoron.edu.ar

### Resumen

Muchos tipos de ensayos de genotoxicidad y mutagenicidad empleando microorganismos y células de mamíferos se han utilizado para monitorear muestras de ambientes complejos como es el caso de las aguas de un río. Sin embargo, los ensayos utilizando plantas presentan ciertas ventajas por sobre los test microbiológicos y sobre el empleo de células de mamíferos para monitoreo ambiental. En este sentido, la evaluación de las alteraciones en tejidos meristemáticos de *Allium cepa* es considerada a nivel internacional como una prueba muy útil para la estimación de la toxicidad causada por aguas contaminadas, demostrando una rápida respuesta de su material genético además de presentar alta correlación con ensayos en animales superiores. El río Reconquista, directamente asociado con millones de personas y miles de industrias al atravesar gran parte del populoso Conurbano Bonaerense, es referenciado como uno de los cursos más deteriorados de la Argentina ante la conjunción de numerosos factores y el aporte incesante de una compleja mezcla de efluentes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial efecto citotóxico y genotóxico de sus aguas mediante el *A. cepa test*, en muestras provenientes de los distintos sectores del curso, en sitios detectados como sensibles y representativos de la problemática ambiental de la región, monitoreados en otoño y en primavera de 2016. Se determinó el índice mitótico y el índice de fases, así como la presencia y proporción de alteraciones cromosómicas. El índice mitótico resultó afectado en todos los casos, siendo su disminución estadísticamente significativa en

comparación con los controles negativos ( $p < 0,05$ ) para los tramos medio e inferior del cauce. Similarmente, los resultados confirman un incremento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, especialmente en el curso medio del río. Se observó correlación positiva entre la inhibición del crecimiento y la frecuencia de células anormales. El procedimiento demostró ser confiable, de bajo costo y factible de implementar sin equipamiento o instalaciones complejas. Considerando el origen multicausal de la contaminación de las aguas, se destaca la utilidad de profundizar sus estudios ecotoxicológicos para comprender mejor la dinámica del curso y poder desarrollar tareas de remediación del ecosistema acuático.

**Palabras clave:** contaminación hídrica, citotoxicidad, genotoxicidad, ríos urbanos.

### Introducción

Muchos tipos de ensayos de genotoxicidad y mutagenicidad empleando microorganismos y células de mamíferos se han utilizado para monitorear muestras de ambientes complejos como es el caso de las aguas de un río. Sin embargo, los ensayos utilizando plantas presentan ciertas ventajas por sobre los test microbiológicos y sobre el empleo de células de mamíferos para monitoreo ambiental (Fiskesjo 1988; Matsumoto et al. 2006; Zegura et al. 2009). Los diferentes sistemas de plantas vasculares, incluyendo los bioensayos con raíces, han provisto un método alternativo más económico, sensitivo, efectivo y confiable para la determinación de los efectos adversos de los contaminantes

ambientales que los ensayos llevados a cabo por los experimentos en animales. Al presentar cromosomas de gran tamaño, las plantas vasculares son adecuadas para realizar análisis citológicos y las respuestas observadas en los test de plantas se encuentran altamente correlacionadas con otros sistemas biológicos, determinando que las plantas son buenos candidatos para evaluar la genotoxicidad de muestras ambientales. Numerosos estudios indican una correlación excelente entre las anormalidades cromosómicas y la actividad mutagénica encontrada en la evaluación *in vivo* del sistema de raíz y las encontradas en los ensayos *in vitro* de células de mamíferos, considerando que la observación de la raíz constituye un método rápido y sensitivo de evaluación ambiental. Se destaca la evaluación de las alteraciones en tejidos meristemáticos de *Allium cepa*, que es considerada una prueba muy útil a nivel internacional para la estimación de la toxicidad causada por aguas contaminadas (Khanna y Sharma 2013).

La contaminación de los recursos hídricos constituye un tema preocupante a nivel mundial, especialmente en los ríos asociados con centros urbanos. En el caso de los ríos relacionados con el populoso Conurbano Bonaerense, diversas investigaciones vienen evidenciando su alto grado de deterioro. Ante la complejidad de la relación del recurso con las actividades antrópicas, la contaminación de sus aguas se ha referenciado como multicausal. La posibilidad

de evaluar el efecto tóxico de las mismas en pruebas con organismos vivos conforma una posibilidad interesante para caracterizar el potencial estado de sus aguas.

## Material y métodos

### 1. Toma de muestras

El río Reconquista constituye un curso de llanura de escasa pendiente que atraviesa el Conurbano Bonaerense por sus porciones oeste y norte. Recibe el aporte de numerosos efluentes domiciliarios e industriales de todo tipo, insuficientemente controlados, que lo han transformado en un caso emblemático de deterioro por actividades antrópicas, con inaceptables niveles en sus parámetros fisicoquímicos y biológicos (García-Reiriz et al. 2011; Nader et al. 2013; Rovedatti et al. 2001; Castañé et al. 2006; Topalián et al. 1999; Kuczynski 2016 a, 2016 b).

En base a la representatividad de las estaciones referenciadas en la bibliografía (Nader et al 2013; Kuczynski 2016 a, entre otros), se seleccionaron los siguientes sitios: 1. Junto a las nacientes de curso principal, aguas abajo de la represa Roggero, 2. Luego de recibir el aporte del arroyo Morón, en el tramo medio. 3. Tramo inferior en el comienzo del río Tigre (Fig. 1). Se extrajeron muestras de agua superficial en los meses de mayo y septiembre de 2016, con condiciones climáticas correspondientes a otoño y primavera.

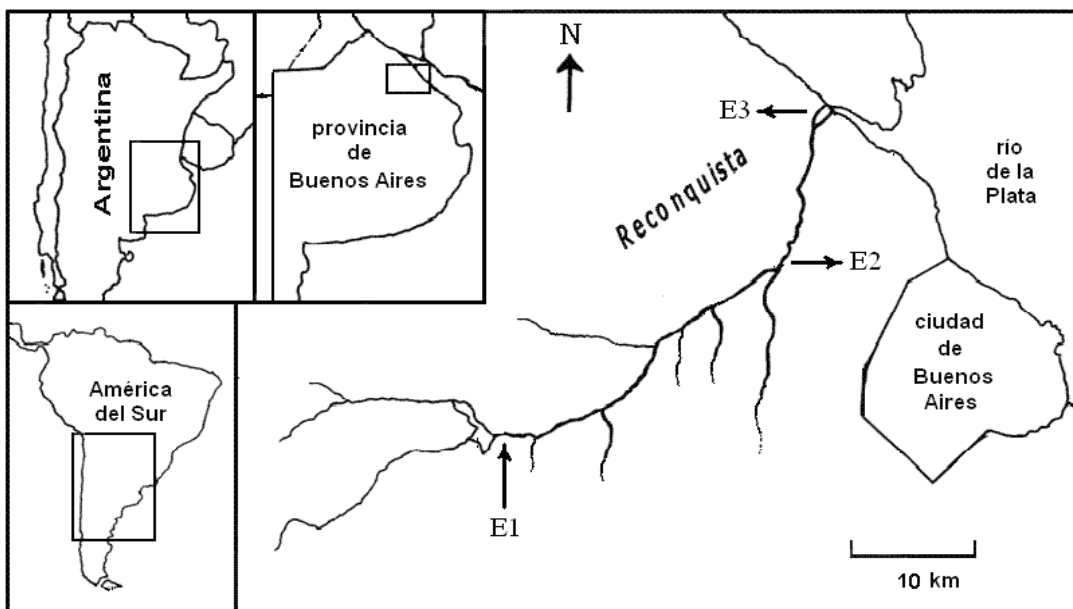


Figura 1. Mapa de la cuenca del río Reconquista indicando la ubicación de las estaciones de muestreo.

## 2. Procedimiento

Se trabajó con bulbos de *Allium cepa* ( $2n = 16$ ) de similar tamaño (4-5 cm) y procedencia, con series de 8 bulbos por muestra, que se mantuvieron en oscuridad a 25°C durante 72 horas, junto con el control negativo (agua mineral comercial) y el control positivo (dicromato de potasio 5 ppm). Las raíces se prepararon para su observación según el método estandarizado por Fiskesjo (1985). Para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de las muestras se determinó el índice mitótico, el índice de fases y la frecuencia y tipo de aberraciones cromosómicas.

## Resultados e interpretación

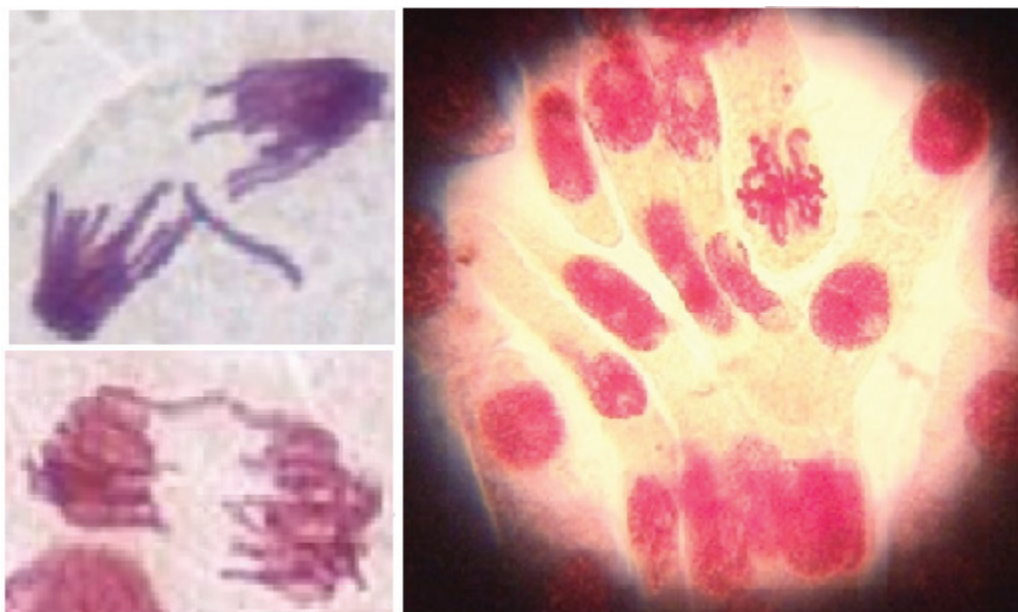
Los análisis estadísticos mostraron que no hay diferencias significativas entre las muestras de otoño y de primavera, por lo cual los datos de las observaciones microscópicas se agrupan en la **Tabla 1**. En todos los casos las aguas del curso producen disminución del índice mitótico, que en los sitios 2 y 3 resultan estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ). En el tramo medio del río la inhibición se aproxima a los datos del control positivo.

**Tabla 1.** Alteraciones en células meristemáticas de raíces de *Allium cepa* tratadas con agua del río Reconquista. Pro: profase; Me: metafase; A: anafase; T: telofase. FAC: frecuencia de aberraciones cromosómicas. Los valores con el símbolo (#) presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

	Índice mitótico	Índice de fases (%)			FAC (%)
		Pro	Me	A + T	
<b>Estación 1</b>	11,6 ± 1,83	32,4	22,8	44,8	2,2 ± 0,36
<b>Estación 2</b>	6,4 ± 1,16 #	36,2 #	25,3	38,5 #	7,6 ± 0,88
<b>Estación 3</b>	7,8 ± 1,08 #	33,0	21,7	45,3	4,0 ± 0,74
<b>Control positivo</b>	3,3 ± 0,92 #	38,4 #	27,3 #	34,3 #	8,8 ± 1,06
<b>Control negativo</b>	12,1 ± 1,46	31,6	23,2	45,2	0,74 ± 0,22

Se observó una correlación positiva entre la inhibición del crecimiento y la frecuencia de células anormales. Los resultados confirman un incremento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, especialmente en el curso medio del río. Las anomalías cromosómicas, que en el control negativo apenas aparecieron, fueron frecuentes en las demás muestras (**Fig. 2**). Las aberraciones más

frecuentes resultaron los puentes cromosómicos y los micronúcleos, seguidos por rupturas, fragmentación y esporádicamente aparición de cromosomas en anillo. En general aparecen las mismas aberraciones que en el control positivo. La inducción de micronúcleos en particular es considerada como un indicador confiable de genotoxicidad (Dash et al 1988, Grover y Kaur 1999).



**Figura 2.** Algunas anomalías cromosómicas observadas en raíces tratadas con agua del río Reconquista.

El empleo como tal de una sal de cromo permite suponer la influencia de este metal, que ha sido señalado como un grave contaminante en el curso (Gil-Cardeza et al 2014). Por otra parte, la disminución en la proporción de A + T para el sitio 2 indica un posible efecto inhibitorio en las células una vez comenzada la mitosis (permaneciendo en Pro + Me, tendiendo al comportamiento del control positivo).

Los resultados coinciden con los antecedentes bibliográficos que indican que las sustancias como metales pesados, herbicidas y la generalidad de las descargas domésticas e industriales poseen un fuerte efecto inhibitorio en la mitosis (Liu et al 1992, Grisolia et al 2005, etc.).

### Conclusiones

Las aguas del río Reconquista manifiestan un alto efecto citotóxico y genotóxico, especialmente en el tramo medio. El estado de deterioro del curso confirma los antecedentes de diversos trabajos sobre la calidad del agua. Asimismo, refuerzan la conveniencia de profundizar los muestreos, y enfatizan la necesidad de contar con mapas de descargas (actualmente inexistentes). El procedimiento se manifestó como relativamente simple, de bajo costo y efectivo para evaluar el potencial efecto ecotóxico de los recursos hídricos superficiales.

Debe mencionarse que el presente trabajo está enmarcado en una línea de investigación que viene llevando adelante el Instituto de Ecología y Contaminación Ambiental-UM para evaluar el efecto tóxico de las aguas de la cuenca del Reconquista, con vistas a la detección de las principales fuentes contaminantes y contribuir a su remediación.

### Referencias bibliográficas

- Castañé, P.M., Rovedatti, M.G., Topalián, M.L. y Salibián, A. (2006). Spatial and temporal trends of physicochemical parameters in the water of the Reconquista River (Buenos Aires, Argentina). *Environmental Monitoring and Assessment*, 117, 135-144.
- Dash, S. Panda, K.K. y Panda, B.B. (1988). Biomonitoring of low levels of mercurial derivatives in water and soil by *Allium* micronucleus assay. *Mutation Research*, 203, 11-21.
- Fiskesjo. G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99-112.
- Fiskesjo. G. (1988). The *Allium* test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal

- ions. *Mutation Research*, 197, 243-260.
- García-Reiriz, J. Magallanes, M. Vracko, J. Zupan, S. y Cicerone, D. (2011). Multivariate chemometric analysis of a polluted river of a megalopolis. *Journal of Environmental Protection*, 2 (7), 903-914.
  - Gil-Cardesa, M.L., Ferri, A., Cornejo, P y Gómez. E. (2014). Distribution of chromium species in a Cr-polluted soil. *Science of the Total Environment*, 493, 828-833.
  - Grisolia, C.K., Oliveira, A.B. y Bonfim, H. (2005). Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. *Genetics and Molecular Biology*, 28, 334-338.
  - Grover, I.S. y Kaur, S. (1999). Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutation Research*, 426, 183-188.
  - Khanna, N. y Sharma, S. (2013) *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 1, 105-119.
  - Kuczynski, D. (2016 a). Occurrence of pathogenic bacteria in surface water of an urban river in Argentina (Reconquista River). *International Journal of Aquatic Science*, 7, 30-38.
  - Kuczynski, D. (2016 b). New records of pathogenic bacteria from urban rivers in Argentina. *Journal of Tropical Life Science*, 6, 151-154.
  - Liu, D., Jiang W. y Li, M. (1992). Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Hereditas*, 117, 23-29.
  - Matsumoto, S. T. Mantovani, M.S., Malagutti, M.I., et al. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 148-158.
  - Nader, G.M., Sanchez Proaño, P.V. y Cicerone, D.S. (2013). Water quality assessment of a polluted urban river. *International Journal of Environment and Health*, 6, 307-319.
  - Rovedatti, M.G., Castañé, P.M., Topalián, M.L. y Salibián, A. (2001). Monitoring of organochlorine and organophosphorus pesticides in the water of the Reconquista River (Buenos Aires, Argentina). *Water Research*, 35, 3457-3461.
  - Topalián, M.L., Rovedatti, M.G., Castañé, P.M. y Salibián, A. (1999). Pollution in a lowland river system. A case study: the Reconquista river (Buenos Aires, Argentina). *Water, Air and Soil Pollution*, 114, 287-302.
  - Zegura, B., Heath, E., Cernosa, A. y Filipic, M. (2009). Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. *Chemosphere*, 75, 1453-1460.