

00377
43



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

ANÁLISIS DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS E
INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS EN
Vicia faba POR EFECTO DE CONTAMINANTES EN
SEDIMENTOS DEL CURSO ALTO DE LA CUENCA
ALTA DEL RÍO LERMA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

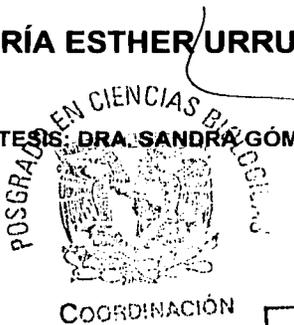
P R E S E N T A

MARÍA ESTHER URRUTIA AGUILAR

DIRECTORA DE TESIS: **DRA. SANDRA GÓMEZ ARROYO**

MÉXICO, D.F.

ENERO 2003



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

PAGINACION

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN

Envío a la Dirección General de Bibliotecas
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso
contenido de mi trabajo recepcional

NOMBRE: Maria Esther Guzmán Rincón

FECHA: 23/1/2003

FIRMA: [Firma manuscrita]

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 18 de noviembre de 2002, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental) del alumno(a) Urrutia Aguilar María Esther, con número de cuenta 75409380, y número de expediente 51580, con la tesis titulada: "Análisis de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas en *Vicia faba* por efecto de contaminantes en sedimentos del Curso alto de la Cuenca alta del río Lerma.", bajo la dirección de la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo.

- Presidente: Dr. Rafael Villalobos Pietrini
- Vocal: Dr. Efrén Raúl Ponce Rosas
- Secretario: Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo
- Suplente: Dra. Anne Margrethe Hansen Hansen
- Suplente: Dra. Judith Isabel Guzmán Rincón

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 23 de enero de 2003

[Firma manuscrita]

Dra. Tila María Pérez Ortiz
Coordinadora del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL
LABORATORIO DE CITOGENÉTICA DEL CENTRO DE
CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL

DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO (TUTORA)

DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI

DRA. ANNE MARGRETHE HANSEN HANSEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

*A LA MEMORIA DE MIS QUERIDOS
PADRES, ÁNGEL Y CRISTINA.*

*A MI ESPOSO ALEJANDRO POR SU
AMOR, APOYO Y CONFIANZA.*

*A LO MAS PRECIADO QUE LA VIDA
ME HA PROPORCIONADO MIS
HIJOS ALEJANDRO, PABLO
DANTEL Y CRISTINA.*

*A LA MEMORIA DE MI HERMANA
CRISTINA, EJEMPLO DE
FORTALEZA.*

*A MIS HERMANOS RENATO,
VÍCTOR, BETY, IRMA Y MARTHA,
POR SU APOYO INCONDICIONAL Y
SUS PALABRAS DE ALIENTO.*

*A TODOS MIS AMIGOS QUE ME
HAN ACOMPAÑADO E
IMPULSADO, DE MANERA
ESPECIAL A CLAUDIA, ARACELI Y
NOÉ.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A LA DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO POR COMPARTIR CONMIGO SUS CONOCIMIENTOS Y POR LA DIRECCIÓN DE ESTA INVESTIGACIÓN.

AL DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI Y DRA. ANNE MARGRETHE HANSEN HANSEN, MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL, POR SUS ACERTADAS CONTRIBUCIONES Y VALIOSAS RECOMENDACIONES QUE ENRIQUECIERON ESTE TRABAJO.

AL DR. EFRÉN RAÚL PONCE ROSAS POR SU DESINTERESADA Y VALIOSA COLABORACIÓN EN LA ESTADÍSTICA DE ESTA TESIS.

A LA M. EN C. ANA ROSA FLORES MÁRQUEZ POR SU COLABORACIÓN EN LA TÉCNICA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.

A LA DRA. JOSEFINA CORTÉS ESLAVA POR SU AYUDA EN LA TÉCNICA DE INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS.

POR SU ESPECIAL APOYO, DESTACO UN SINCERO AGRADECIMIENTO AL DR. ADRIÁN MARTÍNEZ GONZÁLEZ.

A MIS COMPAÑEROS DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO POR SU AMISTAD, AYUDA Y APOYO.

A TODO EL PERSONAL QUE LABORA EN LOS LABORATORIOS DE CITOGENÉTICA Y MUTAGÉNESIS DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVO GENERAL.....	2
III. ANTECEDENTES.....	3
3.1 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.....	3
3.2 INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS.....	5
3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA CUENCA ALTA DEL RÍO LERMA...	6
3.4 CONTAMINACIÓN DEL CURSO ALTO.....	8
3.5 CONTAMINACIÓN DE LOS SEDIMENTOS.....	11
IV. METODOLOGÍA.....	15
4.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	15
4.2 ALTERACIONES CROMOSÓMICAS.....	16
4.3 INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS.....	19
V. RESULTADOS.....	21
5.1 SITIO 1.....	21
5.2 SITIO 2.....	22
5.3 COMPARACIONES ENTRE LOS SITIOS 1 y 2.....	23
VI. DISCUSIÓN.....	25
VII. CONCLUSIONES.....	34
VIII. REFERENCIAS.....	36
IX. TABLAS Y FIGURAS.....	42

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IX. TABLAS Y FIGURAS.....	42
TABLA 1. DESCARGA DE AGUAS RESIDUALES DIARIA Y ANUAL POR ACTIVIDAD.	7
TABLA 2. GRADO DE DETERIORO EN RÍOS Y ARROYO DE LA CUENCA ALTA.	9
TABLA 3. CONCENTRACIONES TOTALES DE METALES PESADOS (ppm) EN LOS SEDIMENTOS DE LA CUENCA ALTA DEL CURSO ALTO DEL RÍO LERMA.	43
TABLA 4. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ANAFASE INDUCIDAS POR SEDIMENTOS (SITIO 1).	44
TABLA 5. ÍNDICE MITÓTICO Y CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN LOS TRATAMIENTOS DE 2 Y 3 HORAS CON SEDIMENTOS (SITIO 1).	45
TABLA 6. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN METAFASE INDUCIDAS POR SEDIMENTOS EN TRATAMIENTO DE 4 HORAS CON DIVERSAS HORAS DE RECUPERACIÓN (SITIO 1).	46
TABLA 7. ÍNDICE MITÓTICO Y CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN LOS TRATAMIENTOS DE 4 HORAS Y DIVERSAS HORAS DE RECUPERACIÓN (SITIO 1).	47
TABLA 8. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ANAFASE INDUCIDAS POR SEDIMENTOS (SITIO 2).	48
TABLA 9. ÍNDICE MITÓTICO Y CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN LOS TRATAMIENTOS CON SEDIMENTOS (SITIO 2).	49
TABLA 10. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN METAFASE INDUCIDAS POR SEDIMENTOS EN TRATAMIENTOS DE 4 HORAS CON DIFERENTES TIEMPOS DE RECUPERACIÓN (SITIO 2).	50
TABLA 11. ÍNDICE MITÓTICO Y CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN LOS TRATAMIENTOS DE 4 HORAS CON SEDIMENTOS Y DIVERSAS HORAS DE RECUPERACIÓN (SITO 2).	51
TABLA 12. RESULTADOS DE LOS INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS INDUCIDAS POR SEDIMENTOS CON 4 HORAS DE EXPOSICIÓN.	52
TABLA 13. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS.	52

G

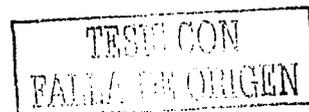


TABLA 14. COMPARACIÓN DE NEWMAN KEULS DE LOS INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS INDUCIDAS POR SEDIMENTOS CON 4 HORAS DE EXPOSICIÓN.	53
FIGURA 1. FOTOGRAFÍA DEL DETERIORO DEL RÍO LERMA.	8
FIGURA 2. MAPA DE LOS SITIOS.	54
FIGURA 3. PORCENTAJE DE ANAFASES ANORMALES INDUCIDAS POR SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	55
FIGURA 4. CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS TRATADAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	56
FIGURA 5. ÍNDICE MITÓTICO EN LOS MERISTEMOS RADICULARES TRATADOS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	57
FIGURA 6. PORCENTAJE DE METAFASES ANORMALES INDUCIDAS POR LA EXPOSICIÓN POR 4 HORAS A SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	58
FIGURA 7 CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN TRATAMIENTOS DE 4 HORAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	59
FIGURA 8 ÍNDICE MITÓTICO EN MERISTEMOS TRATADOS 4 HORAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2).	60

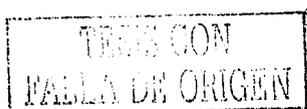
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

El incremento de los desperdicios que se vierten en la cuenca alta del curso alto del río Lerma de origen doméstico, industrial y agropecuario ha producido el aumento de la contaminación de ese sistema acuático y como consecuencia se pueden estar provocando efectos genotóxicos en plantas y animales y posiblemente de manera indirecta en humanos.

Para determinar los efectos genotóxicos en las plantas, en esta investigación se expusieron las puntas de las raíces primarias de *Vicia faba* a los sedimentos colectados del río Lerma en dos sitios estratégicamente escogidos, mientras que los testigos respectivos se mantuvieron en agua destilada. Las pruebas utilizadas para determinar el daño genotóxico permitieron la observación de alteraciones cromosómicas en anafase y en metafase; en interfase se evaluó la presencia de micronúcleos. También se determinaron el índice mitótico (IM) y el intercambio de cromátidas hermanas (ICH). Las ventajas como biomonitor de dicha planta están basadas en su sensibilidad a tratamientos cortos y de bajo costo pues no requiere equipos sofisticados.

En los porcentajes de anafases anormales con respecto a los testigos se presentaron diferencias significativas tanto en el sitio 1 como en el 2, siendo las más frecuentes los cromosomas con fragmentos, puentes y centrómeros inactivados. La presencia de micronúcleos se observa en los dos sitios de estudio encontrando diferencias significativas con respecto a los testigos. En el caso del IM solamente en el sitio 1 hubo diferencias significativas, en la exposición a los sedimentos con y sin recuperación. El porcentaje de metafases anormales no fue significativo con respecto al testigo en el sitio 2 y el intercambio de cromátidas hermanas el punto 1 únicamente



arrojó significancia con respecto al testigo. En general se consideró que los contaminantes que están en los sedimentos del río Lerma provocan daño genotóxico en *Vicia faba*.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento inmoderado de los desperdicios vertidos en la cuenca del río Lerma de origen doméstico y principalmente por las industrias, ha producido aumento en la contaminación del sistema acuático y como consecuencia se pueden estar provocando efectos genotóxicos en plantas, animales y posiblemente en humanos, hasta el momento no estudiados.

Una de las pruebas más eficientes para demostrar daño cromosómico, son los meristemas de *Vicia faba* (Shelby 1976). Las ventajas de esta planta como biomonitor, están basadas en su sensibilidad a tratamientos cortos (Grant 1982, Grant *et al.* 1992), su uso es fácil ya que la técnica es sencilla y de bajo costo pues no requiere de equipos sofisticados (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995).

La utilidad de *Vicia faba* para la detección de daño cromosómico radica en que tiene pocos cromosomas ($2n=12$) y muy grandes. Su cariotipo normal consiste de 5 pares de cromosomas subacrocéntricos de tamaño similar y un par metacéntrico con largos satélites separados del resto del cromosoma por constricciones secundarias que corresponden al organizador nucleolar. El promedio de la duración del ciclo celular de la raíz de *Vicia faba* es de 19.3 h a 19°C y sus períodos presintético (G1) de 4.9 h, sintético (S) de 7.5 h, postsintético (G2) de 4.9 h y la mitosis de 2 h (Evans y Scott 1964). La parte meristemática de la raíz de esta planta contiene muchas células en diferentes estados de la mitosis, asimismo, se ha establecido sobre el principio de que los agentes solubles en agua pueden ser fácilmente absorbidos por los tejidos

meristemáticos. *Vicia faba* ha sido propuesta por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América, como una prueba citogenética para mutágenos ambientales (Ma 1982).

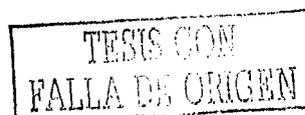
Las aberraciones son comúnmente analizadas en metafase y/o en anafase y el tipo y las frecuencias de éstas dependen del período del ciclo en el cual las células han sido afectadas por la exposición a los agentes químicos o físicos.

II. OBJETIVO GENERAL

Analizar los daños genotóxicos y citotóxicos en *Vicia faba* producido por los contaminantes que se encuentran en los sedimentos del Curso Alto de la Cuenca Alta del Río Lerma.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las alteraciones cromosómicas en anafase y metafase con el fin de evaluar efecto genotóxico.
- Estimar la frecuencia de micronúcleos.
- Cuantificar el intercambio de cromátidas hermanas.
- Realizar estudios de citotoxicidad, mediante la determinación del índice mitótico



III. ANTECEDENTES

3.1 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS

Cuando se diseña un experimento sobre la inducción de aberraciones es importante establecer la sensibilidad de las diversas etapas del ciclo celular y determinar el comportamiento de los agentes físicos y químicos, ya que de acuerdo con Kihlman (1966) se les ha clasificado, considerando el momento en que éstas aparecen, como:

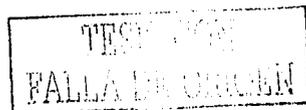
1. de efecto no retardado cuando se presentan 3 horas después de iniciado el tratamiento y su frecuencia máxima está entre las 4 y las 10 horas, su expresión es independiente de la síntesis de ADN y a los agentes que producen este tipo de efecto se les conoce como S-independientes, ya que si la aberración se provoca en profase es subcromátidica y la unidad de rompimiento es la media cromátida. En S y en G2 es cromatídica siendo su origen la cromátida y en G1 cromosómica, cuando el comosoma es la unidad. A este grupo pertenecen los rayos X, antibióticos como bleomicina, pleomicina, estreptonigrina y oxipurinas metiladas (Kihlman *et al.* 1978).
2. cuando las aberraciones surgen 8 horas después del tratamiento y su mayor frecuencia se evidencia entre las 24 y las 48 horas se consideran de efecto retardado ya que las lesiones sobre los cromosomas pueden suceder en cualquier período del ciclo celular, pero su manifestación requiere de la

síntesis de ADN y siempre son de tipo cromatídico; a los agentes que actúan de esta manera se les considera como S-dependientes y son los alquilantes, la radiación ultravioleta, etc. (Kihlman *et al.* 1978).

Vicia faba ha sido propuesta como una prueba citogenética para evaluar daño cromosómico por la acción de productos ambientales (Grant 1982), metales pesados (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1983, Gómez-Arroyo *et al.* 1987), disolventes (Gómez-Arroyo *et al.* 1986), pesticidas (Gómez-Arroyo *et al.* 1985, 1992), antibióticos (Andersson 1983), agentes alquilantes (Nicoloff *et al.* 1988, Samborska-Ciania 1992), compuestos de azufre (Abraham y Nair 1989, Amer *et al.* 1989). Asimismo, ha sido recomendada y aceptada en estudios *in situ* (Grant *et al.* 1992).

Las investigaciones llevadas a cabo para observar aberraciones cromosómicas provocadas por efectos de contaminantes en aguas son relativamente recientes. Grant *et al.* (1992) demostraron que *Vicia faba* es un buen biomonitor de aberraciones cromosómicas *in situ*, observan que las alteraciones cromosómicas provocadas en esta planta por efecto de los afluentes que conducen desperdicios de las fábricas de papel, muestran niveles significativos de alteraciones con respecto al testigo.

Villalobos-Pietrini *et al.* (1994) observan que tres de los nueve sitios del Sistema Hidrológico Atoyac-Zahuapan (Tlaxcala) donde se colectaron agua superficial y sedimento, producen efectos cromosómicos a niveles significativos ($P < 0.001$) en las células meristemáticas de *Vicia faba* tratadas con sedimentos. Concluyendo que los experimentos con plantas aportan una respuesta satisfactoria para detectar la



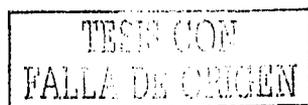
presencia de agentes genotóxicos contenidos en las mezclas de los cuerpos de agua contaminada y en los sedimentos.

3.2 INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS

Por otro lado, el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) ha resultado también una prueba rápida y sensible, puesto que se induce con concentraciones hasta diez veces menores que las requeridas para producir aberraciones cromosómicas (Wolff 1974) y ofrece un procedimiento adecuado para la detección de mutágenos ambientales (Perry y Evans 1975). Desde los primeros estudios sobre la existencia de intercambios de cromátidas hermanas en plantas se emplea *Vicia faba* (Taylor *et al.* 1957).

El ICH es un fenómeno considerado como indicador de daño en el ADN, por ello la prueba ha sido utilizada para evaluar el efecto de mutágenos (Perry y Evans 1975). En plantas se han desarrollado diferentes procedimientos para distinguir las cromátidas hermanas, sin emplear isótopos radiactivos y autorradiografía, como es el caso de la fucsina leucobásica (Tempelaar *et al.* 1982).

Esta técnica consiste en la exposición de las células a 5-bromodesoxiuridina (BrdU), un análogo de la timina, de tal forma que los cromosomas de la segunda mitosis poseen una cromátida sustituida por BrdU en una cadena de ADN, mientras que su cromátida hermana es sustituida en sus dos cadenas, para posteriormente ser teñidas diferencialmente con el reactivo de Schiff (Tempelaar *et al.* 1982).

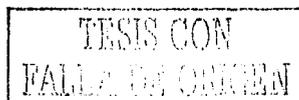


Existen evidencias con numerosos agentes químicos, el análisis de ICH proporciona el índice más sensible para detectar daño genético, debido a que se han establecido correlaciones entre las frecuencias de ICH y la concentración del mutágeno y en plantas representa un criterio adecuado para evaluarlo (Gómez-Arroyo *et al.* 1988, 1997).

3.3 CARACTERÍSTICAS DE LA CUENCA ALTA DEL RÍO LERMA

Dentro de la problemática ambiental, el Gobierno Federal de México a través de la Comisión Nacional de Ecología en 1988, consideró a la Cuenca Lerma-Chapala como la más contaminada del país. Al respecto, los Gobiernos Federal y Estatal han tomado medidas para limpiar y sanear las aguas del Río Lerma, pero poco se ha hecho por investigar el papel que juegan este río y sus afluentes en el ecosistema (Gobierno del Estado de México 1993).

El río Lerma tiene su origen en la Laguna de Almoloya del Río que es alimentada con los afluentes que bajan de la ladera noroeste y norte del Nevado de Toluca, principalmente. Aguas abajo son recibidos los afluentes de las Sierras de las Cruces y de San Andrés; hace 40 años su caudal tenía como origen las aguas de nueve grupos de manantiales de las zonas de Almoloya, Texcaliacac y Jalatlaco. Actualmente su caudal está formado por el agua producto de la lluvia y por aguas residuales de origen industrial y municipal. El río Lerma cuenta con poca pendiente, por lo que está agotada su capacidad de asimilación de materia orgánica. En la época de estiaje se incrementa notablemente la concentración de contaminantes, por lo que no se presentan signos de vida acuática en el lugar pues al mismo tiempo es receptor de



aguas municipales e industriales, aproximadamente 540 millones de m³/año, de los cuales 33 % corresponden a las descargas urbanas y el 67 % restante a las industriales, lo que equivale aproximadamente a 350,000 ton/año de contaminantes. En la Cuenca Alta del río Lerma se descargan cerca de 75 millones m³/año de aguas municipales e industriales (Gobierno del Estado de México 2000).

En la Tabla 1 se muestran datos del año de 1998 de cómo las diferentes actividades de la zona contribuyen con su descarga de aguas residuales, siendo mayor las de origen doméstico e industrial.

Tabla 1. Descarga de aguas residuales diaria y anual por actividad

ACTIVIDAD	DESCARGA DIARIA (M3/DIARIA)	DESCARGA ANUAL (MILLONES DE M ³ /AÑO)
Industria	17644	6.44
Doméstico	32576	11.89
Servicios	797	0.29
Agroindustria	85	0.031
Total	51102	18.65

Fuente: Comisión Nacional del Agua 1998.

Esta diversidad de circunstancias se refleja en la contaminación superficial y subterránea del agua, misma que es aumentada por la insuficiente planeación en los servicios de saneamiento y el descontrolado cambio en el uso del suelo. Por otro lado, el marco legal sobre descarga de aguas residuales no parece ser observado por todos los involucrados en el uso del agua y el control de la contaminación, ya que una de las

características, sobre todo en el curso alto, es la red de descargas de carácter clandestino (Gobierno del Estado de México 2000)

3.4 CONTAMINACIÓN DEL CURSO ALTO

De acuerdo con la información oficial, los diferentes ríos y arroyos que integran la red de drenaje natural de la cuenca muestran cierto grado de deterioro en función del nivel de contaminación que presentan y de los cambios que ha sufrido el paisaje original. Este incremento en la contaminación incluye el contenido de metales pesados, DBO, DBQ, alcalinidad y sólidos suspendidos. Por otra parte, las condiciones de cambio de uso de suelo en la ribera, como del mismo río y las condiciones de vegetación natural se consideran como principales indicadores de deterioro (Gobierno de Estado de México 2000) (figura 1).



Figura 1 Río Lerma

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Grado de deterioro en ríos y arroyo de la cuenca alta

GRADO DE DETERIORO	CURSO ALTO %	CURSO MEDIO %	CURSO BAJO %
Alto	14	50	17
Medio	18	14	0
Bajo	14	22	33
No determinado	54	14	50

Fuente: Gobierno de Estado de México 2000.

Como se puede observar en la tabla 2, el curso medio presenta el mayor deterioro en sus ríos y arroyos, debido a que en esta parte se reciben los afluentes que han sido contaminados en la sección del curso alto. Tal contaminación se asienta en el curso alto debido a que las zonas urbanas son las principales fuentes de contaminación, por lo tanto es aquí donde se generan cantidades significativas de cargas que de manera natural el río no puede depurar (Gobierno del Estado de México 2000).

La industria tiene crecimiento explosivo en esta zona y fuerza económica importante. Comenzó históricamente con la extractora (oro, plata, fluorita) siguiendo la de transformación con desarrollo de la alimenticia (empacadoras de frutas y legumbres), la curtiduría y el calzado, la petrolera y la petroquímica, la química, la textil y la papelera, la de autopartes y la artesanal (Sobrino 1992).

En la cuenca hay un subsector de alimentos, bebidas y tabaco con la mayor cantidad de establecimientos industriales; en segundo lugar las industrias de productos

metálicos, maquinaria y equipo. Estos subsectores constituyen alrededor del 60 % de los centros productores en toda la cuenca alta. Las participaciones menores están representadas por las empresas del giro de madera, papel, imprentas y editoriales; productos químicos y otras industrias manufactureras (Gobierno del Estado de México 2000).

De las 22,616 empresas manufactureras en el Estado de México, cerca de 3000 se encuentran ubicadas en los municipios de Almoloya de Juárez, Almoloya del Río, Atizapan, Atlacomulco, Capulhuac, Chapultepec, Ixtlahuaca, Jocotitlan, Lerma, Metepec, Oztolotepec, Rayón, San Mateo Atenco, Temoaya, Texacaliacac, Tianguistengo, Toluca y Zinacatepec (INEGI 1995) y el 10 % aproximadamente descarga sus aguas residuales directamente a un cuerpo receptor de jurisdicción federal (río y arroyo) (Comisión Nacional del Agua 1998).

De acuerdo con los datos obtenidos en un estudio realizado por SEDUE en 1988, el 77 % de los residuos industriales peligrosos producidos en el D.F. y en el Edo. de México (EDOMEX) son líquidos. Esto implica que normalmente son descargados a través de los sistemas de drenaje de las industrias yendo directamente a los cuerpos de agua más cercanos, que es el río Lerma. En el caso específico del corredor Lerma Toluca, gran porcentaje de las industrias descarga a un colector que transporta aguas a la planta de tratamiento conocida como E P C C A (Empresa Para el Control de la Contaminación del Agua), actualmente RECICLAGUA. Por diversas razones esta planta no logra una purificación total, lo que ocasiona que el agua tratada sea descargada al río Lerma, no totalmente depurada. Por otra parte, la zona se encuentra

circundada por diversos canales, que son utilizados por las industrias para descargar residuos, que de una u otra manera llegan al río Lerma (Gobierno del Estado de México 2000).

3.5 CONTAMINACIÓN DE LOS SEDIMENTOS

Los problemas de contaminación en los diferentes cuerpos de agua y como consecuencia en los sedimentos tiene su origen por ejemplo, en los residuos sólidos, ya sea de:

- Naturaleza urbana, que son originados por los vehículos de motor, la degradación de los recubrimientos de las calles, la basura, los desechos de los drenajes, etc.
- Naturaleza industrial, como la de tipo metal-mecánica, hidrometalúrgica, textil, etc.
- Naturaleza agrícola, como los diferentes fertilizantes y plaguicidas de diversa índole (Barceló, 2000).

Durante las últimas décadas, se han llevado a cabo numerosas investigaciones referentes al estudio de toxicidad y de acumulación de los metales pesados en suelos, sedimentos y organismos que al ser bioacumulados provocan daños a la salud. Su origen puede ser geológico o antropogénico (Coker 1983). La fuente de elementos tóxicos de tipo antropogénico se da principalmente en zonas industriales donde sus afluentes con contaminantes van a depositarse en aguas y suelos lo que da lugar a la contaminación ambiental (Alloway 1990). Los nutrientes y los metales pueden

removerse de aguas contaminadas y ser retenidos en los sedimentos siguiendo varias rutas: pueden ser tomadas por las plantas, inmovilizarse en los sedimentos, ligarse a la materia orgánica, precipitarse en compuestos insolubles o incorporarse en estructuras cristalinas (Tam *et al.* 1994).

Los principales contaminantes que modifican la calidad natural de las corrientes de agua son: la materia orgánica, que ocasiona la disminución del oxígeno disuelto; los nutrientes que provocan eutroficcaciones; las grasas y los aceites, que ocluyen las agallas de los peces y disminuyen la transferencia de oxígeno; los organismos patógenos, los metales pesados, los detergentes y los plaguicidas que afectan a la flora y a la fauna acuáticas (Barceló 2000).

Cuando los metales pesados son adicionados a suelos y sedimentos, experimentan una complejación con ligandos, que pueden ser constituyentes químicos orgánicos que se combinan con ellos. La materia orgánica desempeña un papel importante en la unión con los metales pesados (Mc Laren *et al.* 1986).

Los metales pesados se consideran entre los contaminantes más problemáticos en el medio acuático, siendo una de las razones la capacidad que tienen para formar complejos con la materia orgánica presente tanto en el agua como en los sedimentos y por su fácil ingreso en las cadenas alimenticias donde pueden ocurrir procesos de biocumulación, bioconcentración y biotransformación, ya que la tendencia de estos elementos metálicos es la de fijarse en los tejidos de los organismos expuestos (Ávila-Pérez y Zarazúa 1993).

La toxicidad para los organismos acuáticos, en particular de una especie metálica disuelta, está relacionada con su capacidad de reaccionar con una membrana biológica (Allen *et al.* 1980). El transporte de O₂, Na, K y Cl es afectado por cambios morfológicos en las agallas de los peces debido a la acción de los metales. La penetración a la membrana por un ion metálico para reaccionar con los componentes celulares depende de su liposubilidad o de su capacidad para reaccionar con una proteína de transporte (Barceló 2000), en plantas como el lirio acuático, la absorción de los metales es mayor en la raíz y menor en partes aéreas, esto se puede deber a la falta de vasos de conducción bien constituidos (Rosas *et al.* 1984, Ávila-Pérez 1995). Por lo anterior son importantes los estudios de especiación de metales y sus reacciones en las cadenas tróficas.

La contaminación sobre los contaminantes en los sedimentos en la Cuenca Alta del Río Lerma, se inició a principios de la década pasada. La cantidad de trabajos realizados en esta región es pequeña en comparación con los hechos en las zonas costeras del Golfo y del Caribe. Alvarado y Valdez (1991) reportan en suelos de la llanura baja de inundación concentraciones de cadmio, cromo, mercurio y plomo excesivamente elevadas al compararlas con cualquiera de las indicadas en todos los reportes, nacionales e internacionales, los trabajos de Ávila-Pérez (1995) en la presa Alzate describen concentraciones de cadmio, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc en agua, lirio y sedimentos, encontrando que las concentraciones detectadas son similares a las de otras regiones contaminadas de México (Amescua 1996).

En la cuenca alta ya se han determinado y cuantificado algunos parámetros físicos y químicos, así como concentraciones de metales pesados en varios sitios (tabla 3) (Lugo-de la Fuente *et al.* 1997).

En la Cuenca Alta también se han encontrado en el agua otros contaminantes de origen agrícola como disolventes (Ávila 1995 y Barceló 2000) pero hasta el momento no se han efectuado en la zona, estudios sobre los efectos genotóxicos que pueden estar ocasionando los contaminantes de los sedimentos.

IV. METODOLOGÍA

4.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La cuenca alta del río Lerma cubre un área de 5,366 km² aproximadamente con una longitud del río de 175 kilómetros y va desde la Laguna de Almoloya del Río en el Estado de México, hasta la presa Sólis en el estado de Guanajuato y se divide en tres porciones; cursos, alto, medio y bajo, cubriendo a toda la parte norte del Estado de México en el paso del río, el curso alto termina en la presa Antonio Alzate, lugar donde se realiza este estudio, mientras que la cuenca media abarca buena parte de Guanajuato incluyendo porciones de Michoacán y Querétaro por los que atraviesa el Lerma (Gobierno del Estado de México 1993).

El clima de la región es templado (Cw) y subhúmedo semicálido (BS) (García 1982). Con respecto a la geología, la cuenca alta se encuentra localizada dentro de una zona de actividad volcánica mostrando un paisaje con montañas volcánicas, planicies de aluvión, cerros, etc. La vegetación es de tipo bosque templado, feozem y vertisoles que dominan buena parte del valle con adecuada producción agrícola (Instituto de Geología 1971, INEGI 1983).

En esta investigación se seleccionaron dos sitios de estudio que en lo sucesivo se nombrará sitio 1 que se refiere al lugar donde es vertida el agua de la planta tratadora E P P C A (carretera México- Toluca) y sitio 2 que se ubica en la salida de la zona industrial de Lerma (Carretera Naucalpan-Toluca), ambos sitios son localizados en el mapa de la figura 2.

4.2. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

El procedimiento para analizar las alteraciones cromosómicas en las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* por efecto de los contaminantes en los sedimentos del Curso alto de la Cuenca del río Lerma, se hizo conforme la metodología establecida por Villalobos Pietrini *et al.* (1994).

Se utilizaron semillas de haba (*Vicia faba*, variedad minor) que no habían sido tratadas con plaguicidas en el campo. Para mayor seguridad a cada lote de semillas se hizo una prueba preliminar para verificar que no tuvieran frecuencias elevadas de alteraciones cromosómicas espontáneas.

- a) Se lavaron en agua corriente durante 2 horas.
- b) Se sumergieron en agua por 24 h a 21°C en la obscuridad (con el fin de acelerar la germinación) y se volvieron a lavar por 10 min.
- c) Se colocaron entre dos capas de algodón humedecido y se mantuvieron en la obscuridad a 21°C hasta que aparecieron las radículas, entonces se removieron las testas para evitar la contaminación por hongos.
- d) Cuando las raíces alcanzaron de 4 a 5 cm de longitud, se hicieron lotes de 10 plántulas.

4.2.1 TRATAMIENTO

Los sedimentos se colectaron en los dos sitios establecidos, un día antes del tratamiento.

- A. A los lotes de 10 plántulas por experimento, se les dieron tratamientos de 2 y 3 h con la raíz sumergida en los sedimentos y después se enjuagaron las raíces en agua corriente, para realizar las observaciones en anafase.

- B. Otros lotes de 10 plántulas se sumergieron en los sedimentos durante 4 horas, se les dio un período corto de 2 h y períodos largos de 20 y 44 h de recuperación para determinar la etapa más sensible del ciclo celular y poder detectar el comportamiento de los agentes presentes en la muestra. Este paso se realizó dentro de una cámara con aireación constante. Tres horas antes de finalizar la etapa de recuperación a la mitad de las raíces de cada grupo se les aplicó colchicina (0.05%) para hacer observaciones en metafase.

- C. En todos los casos hubo plántulas testigo con las raíces sumergidas en agua destilada.

4.2.2 FIJACIÓN Y TINCIÓN

- A. Se colocaron los meristemos en etanol al 70 % a 28° C durante 15 min, se hizo hidrólisis con HCl 1N a 60° C por 10 min, se tiñeron por 45 minutos con el reactivo de Schiff y se maceraron en pectinasa al 5 % por 3 h.

B. Se realizó el aplastamiento en monocapa "squash" en portaobjetos etiquetados en ácido acético al 45 %.

4.2.3 PREPARACIONES PERMANENTES

El aplastamiento en monocapa se hizo usando ácido acético al 45 % y se hicieron permanentes mediante hielo seco (Conger y Fairchild 1953), se deshidrataron en dos cambios de butanol absoluto y se montaron en bálsamo de Canadá.

4.2.4 REGISTRO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En cada experimento y testigo correspondiente, se observaron un mínimo de 200 células, si las aberraciones se presentaban en 30 de 100 células; pero si estaban en menor cantidad entonces se observaron 300 células para metafases; mientras que para anafases se examinaron todos los campos al microscopio y se cuantificaron todas las células observables en dicha fase.

Además en campos al azar se analizaron 1000 células para la determinación del índice mitótico (IM) y 1000 en interfase par micronúcleos.

Se aplicó la ji cuadrada en tablas de 2X2 para aberraciones tanto en anafase como en metafase, IM y micronúcleos, aceptándose como significativos aquellos valores de $p < 0.001$

4.3. INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS

- A. Después de la germinación, cuando las raíces alcanzaron de 2 a 3 cm de longitud se pusieron en una solución conteniendo 100 mM de 5 bromodesoxiuridina (BrdU), 0.1mM de 5-7 fluorodesoxiuridina (FdU) y 5mM de uridina (U) en un ciclo de replicación (20 h), en la obscuridad a 21° C.
- B. Las puntas de las raíces se pusieron en los cristalizadores con los sedimentos por 3 h y en la obscuridad; los testigos se trataron en agua destilada.
- C. Las soluciones de BrdU, FdU y U se aplicaron en el segundo ciclo de replicación (20 h)
- D. Después los meristemas se cortaron y se trataron con 0.05 % de colchicina por 3 h y se sometieron a la técnica de tinción diferenciada de Feulgen descrita por Tempelaar *et al.* (1982) y modificada por Gómez-Arroyo *et al.* (1988) como sigue: los cortes se fijaron con ácido acético glacial por 1 h, se pusieron en ácido acético-etanol (3:1) por dos días a 20° C, después en etanol al 70 % por 15 min y se hidrolizaron en HCl 5N por 80 min a 28° C. Se lavaron 3 veces en agua destilada y se tiñeron con el reactivo de Schiff por 12 min en la obscuridad. Los cortes se trataron con 2 % de pectinasa disuelta en 0.01M de amortiguador de citrato (ph=4.7) por 15 min a 28° C, seguidos por ácido acético al 45 % por 15 min y se transfirieron a etanol frío al 70 % por 30 min.

- E. El aplastamiento en monocapa se hizo usando ácido acético al 45 % y se hicieron permanentes por la técnica de hielo seco (Conger y Fairchild 1953), se deshidrataron en dos cambios de butanol absoluto y se montaron en bálsamo de Canadá.

- F. Se realizó el conteo de ICH en 50 cromosomas metacéntricos y 250 cromosomas submetacéntricos, que corresponden a 25 células en metafase, por cada experimento y su testigo, más la repetición de cada una de ellas.

- G. Las frecuencias de ICH de cada experimento se compararon mediante el análisis de varianza (ANOVA) y si los valores de p fueron < 0.001 , entonces se aplicó la prueba de comparación múltiple de Newman-Keuls.

V. RESULTADOS

5.1 SITIO 1

En el sitio 1 se presentaron aberraciones en anafase con mayor frecuencia en los tratamientos de 3 horas y los tipos de aberraciones que más se observaron fueron fragmentos y puentes, no se encontraron anafases multipolares. Las diferencias entre tratados y testigos arrojaron diferencias significativas ($p < 0.05$ y $p < 0.001$) en los dos tiempos de tratamiento (Tabla 3).

En la tabla 4 aparecen los valores del índice mitótico, los resultados muestran que no existen diferencias significativas entre los tratados y los testigos en ambos tiempos de tratamiento. En la misma tabla se presentan los valores de micronúcleos en interfase, donde se nota la mayor frecuencia en el expuesto durante 3 horas y en los dos tiempos fueron significativos ($p < 0.001$) con respecto al testigo.

En la tabla 5 se registran las frecuencias de las aberraciones en metafase, los valores significativos fueron en los tres tiempos de recuperación; siendo los tipos de aberraciones que más se manifestaron los rompimientos cromatídicos y los anillos.

El porcentaje de micronúcleos (Tabla 6) en los tratamientos de 4 horas con 20 horas de recuperación tuvo diferencias significativas ($p < .003$) con respecto al testigo, no así en 3 y 44 horas de recuperación; se nota además, a través del índice mitótico un aumento en la división celular en los tres tiempos de recuperación que fueron significativos.

En la tabla 12 se muestran los resultados de los intercambios de cromátidas hermanas de este sitio, se encuentra una media de 64.6 y su error estándar de 2.405, el análisis de varianza (Tabla 13) dio una diferencia entre las muestras de $p < 0.001$ y la prueba de Newman Keuls (Tabla 14) demostró que este sitio tuvo diferencias significativas de $p < 0.001$ con respecto al testigo y al sitio 2

5.2 SITIO 2

En este sitio el mayor porcentaje de aberraciones cromosómicas en anafase se presentó en el tratado de 3 horas y los tipos que más aparecieron fueron fragmentos, puentes y cromosomas con centrómero inactivado (Tabla 7). Las diferencias en las frecuencias de aberraciones entre testigo y tratado fueron significativas para los dos tiempos de tratamiento.

En la tabla 8 se registran los valores de los índices mitóticos y se puede apreciar en el tratado que la prueba de ji cuadrada no arrojó valores significativos en los dos tiempos de tratamiento con respecto al testigo.

La presencia de micronúcleos en interfase se encontró en los dos tiempos de tratamiento, siendo el mayor porcentaje en el de 3 horas (Tabla 9). En los dos tiempos las diferencias fueron significativas entre los tratados y los testigos ($p < 0.001$).

Las aberraciones en metafase presentaron diferencias significativas en 3 y 44 h de recuperación (Tabla 10).

Los micronúcleos observados en los tratamientos de 4 horas entre la muestra tratada y el testigo no fueron significativos en ninguno de los tiempos de recuperación, al igual que el índice mitótico (Tabla 11).

En la tabla 12 se muestran los resultados de los intercambios de cromátidas hermanas de este sitio, se encuentra una media de 37.44 y su error estándar de 0.86, el análisis de varianza (Tabla 13) nos dio una diferencia entre las muestras de $p < 0.001$ y la prueba de Newman Keuls (Tabla 14) nos demostró que este sitio no tuvo diferencias significativas con respecto al testigo, pero si con el sitio 1 ($p < 0.001$).

5.3 COMPARACIONES ENTRE LOS SITIOS 1 y 2

Al graficar las anafase anormales se puede observar (Fig. 3) que los sedimentos del sitio 1 y el sitio 2 no fueron significativas, cabe mencionar que en los dos casos el mayor porcentaje de aberraciones cromosómicas en anafase ocurrió en la exposición de 3 horas de tratamiento; en lo concerniente a la presencia de células con micronúcleos (Fig. 4), el mayor valor se obtuvo en el sitio 1 con respecto al 2, tanto en dos como en tres horas de tratamiento; las diferencias entre ambos sitios fueron significativas ($p < 0.001$). El índice mitótico entre ambos sitios no fue significativo (Fig. 5).

Con referencia a las metafases (Fig. 6) al realizar la comparación entre los sitios 1 y 2, el mayor porcentaje de metafases anormales se observó en el sitio 1 en los tres tiempos de recuperación, siendo únicamente significativo ($p < 0.002$) el de recuperación de 3 horas.

Las células con micronúcleos (Fig. 7) son más elevadas en el sitio 1 a las 20 horas y en el dos a las 44 horas de recuperación, presentando una diferencia significativa de $p < 0.05$ entre los dos sitios en este último tiempo. En contraste el índice mitótico (Fig. 8) en los tres tiempos de recuperación fue mayor en el sitio 1 con respecto al 2 y sus diferencias fueron significativas en los tres tiempos de experimentación ($p < 0.001$ y $p < 0.05$)

En los resultados de los intercambios de cromátidas hermanas mostrados en la tabla 12, se observa que la media del sitio 1 (64.6) es mayor que el 2 (37.44). El análisis de varianza dio una $p > 0.001$ (Tabla 13) por lo cual se prosiguió con la prueba de Neuman Keuls y la diferencia significativa entre estos dos sitios fue $p < 0.001$ (Tabla 14).

VI. DISCUSIÓN

Es ampliamente reconocido que los productos que son vertidos por las industrias a la Cuenca Alta del Río Lerma han provocado un fuerte problema de contaminación (Gobierno del Estado de México 2000) y aunque en los últimos años se han realizado diversas investigaciones sobre el tema, no se han cuantificado los daños en biomonitores causados por los sedimentos de este río.

Para determinar el potencial genotóxico de algunos compuestos, ha sido recomendado utilizar sistemas biológicos de prueba, que sean de manejo sencillo y cuyas técnicas aporten datos fáciles de interpretar y que además sean confiables (Dabney 1981).

La universalidad del DNA como material genético, proporciona una justificación en el uso de *Vicia faba* como sistema de prueba para predecir la clastogenicidad de diversos compuestos en los sedimentos, a pesar de las diferencias de metabolismo, de procesos fisiológicos y de los mecanismos de reparación entre las especies (E.P.A 1986). Las plantas superiores ofrecen ventajas para evaluar la genotoxicidad causada por agentes químicos o físicos (Grant 1978, 1982) ya que estos experimentos son poco costosos y de fácil manejo, *Vicia faba* ha sido más empleada que cualquier otra especie. En un reporte de Shelby (1976) se presentan estudios realizados en células de raíces de diversas especies donde se evalúan las aberraciones cromosómicas provocadas por distintos agentes químicos y físicos, se hace referencia de *Vicia faba* en casi el 40 % de las investigaciones (Grant 1982).

Las observaciones llevadas a cabo en este estudio, demuestran que después de tratamientos cortos con sedimentos (Tablas 4 y 8), se inducen aberraciones en anafase en los sitios uno y dos las cuales fueron significativas con respecto al testigo y las aberraciones más encontradas son fragmentos y puentes así como cromosomas con centrómero inactivado, estos últimos que se producen al afectarse la región centromérica (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995), la observación de anafases multipolares fue mínima, lo que indica que los sedimentos no alteran el huso mitótico.

La producción de aberraciones en anafase en este estudio se puede deber entre otros factores, posiblemente a la acción de metales. Gómez-Arroyo *et al.* (1983) demuestran que las sales de cromo provocan aberraciones de tipo cromatídico en tiempos cortos y en tiempos largos de recuperación de tipo cromosómico por lo cual son agentes de efecto s- independiente, estos efectos se pueden deber a la unión directa del cromo a los ácidos nucleicos y nucleoproteínas o porque alteran la membrana lisosómica, resultado del daño producido por el cromo, daño similar al provocado por disolventes que por ser sustancias liposolubles pueden alterar los lisosomas de las células meristemáticas de *Vicia faba* y liberar DNAasas que causan daño al DNA (Gómez-Arroyo *et al.* 1986).

Las aberraciones que aparecen en anafase suelen ser más fácilmente registradas que aquellas en metafase (Nicoloff y Gecheff 1976) y proveen de un medio rápido para estimar daño cromosómico. El análisis en metafase proporciona mayor información sobre los tipos de aberraciones que un agente químico puede producir

(Grant 1982), en este estudio con ambas metodologías se obtuvieron resultados similares (Tablas 4, 6, 8 y 10).

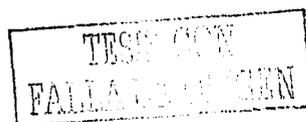
El hecho de que las aberraciones surjan a partir de las 2 horas de tratamiento (Tablas 4 y 8), así como en 4 horas de tratamiento y 3 de recuperación (Tablas 6 Y 10), indica de acuerdo con Kihlman (1966), que los agentes contenidos en los sedimentos del Curso Alto del Río Lerma muestran efecto no retardado en cuanto a la aparición de las aberraciones, esto sugiere que los sedimentos provocan efecto en la fase G2 del ciclo celular. Sin embargo, en 20 y 44 horas de recuperación, considerando el criterio antes mencionado, deben manifestarse aberraciones de tipo cromosómico, pero en este trabajo solamente se observaron las de tipo cromatídico (Tablas 6 y 10). Estos resultados posiblemente se deben a que hubo un alargamiento en el ciclo celular, Gómez Arroyo *et al.* (1986) describen un comportamiento similar en *Vicia faba* con disolventes orgánicos que provocan un retardo celular ya que en las primeras horas de tratamiento observan un daño de tipo cromatídico y en los tratamientos largos no se observan aberraciones de tipo cromosómico.

Los agentes físicos y químicos, dependiendo del período del ciclo celular que es afectado; provocan dos tipos de daño, uno que induce aberraciones subcromatídicas, cromatídicas y cromosómicas que son considerados agentes s-independientes y su frecuencia máxima está entre las 4 y 10 horas del tratamiento y el otro únicamente origina aberraciones cromatídicas no importando la etapa del ciclo celular en la cual se encuentran las células al momento de la exposición y que son consideradas s-dependientes (Kihlman 1966, Kihlman *et al.* 1978), las cuales se observan entre las

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

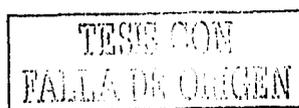
24 y 48 horas después del tratamiento y su expresión depende de la replicación del DNA. En esta investigación se encontró daño cromatídico en anafase y en metafase en tratamientos cortos, aunque en tiempos largos la observación de tipo cromatídico y su valor significativo posiblemente se debe a que los sedimentos están provocando retraso celular. El comportamiento de sustancias que interactúan directamente con el DNA algunas veces, depende de la síntesis del DNA. Sin embargo la existencia de otros factores que muestran acción indirecta en los componentes de los cromosomas hacen extremadamente difícil determinar el origen de las aberraciones observadas y pueden conducir a errores en clasificar a los agentes usados (Gómez- Arroyo et al. 1986). En este estudio se demuestra que la acción de los sedimentos es de acción indirecta y s-independientes ya su expresión es independiente de la síntesis de DNA, las aberraciones más encontradas fueron rompimientos cromatídicos, anillos e intercambios cromatídicos.

Otra prueba para estimar daño genético provocado por agentes físicos y químicos es la presencia de micronúcleos en las células meristemáticas de *Vicia faba* observados en interfase, la cual es aceptada como un indicador de daño cromosómico producido por mutágenos ambientales (Ma 1982) que pueden inducir aneuploidías por la no disyunción cromosómica durante la división celular (Rolandi et al. 1984). La formación de micronúcleos generalmente es por fragmentos acéntricos, los cuales no son transportados por el huso a los polos durante la anafase y no se incorporan a los núcleos hijos quedando en el citoplasma (Schmid 1975). Otra forma en que los cromosomas pueden quedar fuera de la cinética normal de la anafase, es por la



formación de cromosomas con centrómero inactivado y los isocromosomas, debido a disturbios en el centrómero (Nicoloff y Gecheff 1976).

En esta investigación la presencia de micronúcleos en interfase en las células meristemáticas de *Vicia faba*, mostraron diferencias significativas entre los tratados con sedimentos de 2 y 3 horas y los testigos en los dos sitios de estudio (Tablas 5 y 9), no así en los tratados de 4 horas con tiempos de recuperación donde los resultados no fueron significativos (Tablas 7 y 11). Lo anterior confirma que el análisis de micronúcleos son una adecuada prueba para medir genotoxicidad en sedimentos, ya que la inducción de micronúcleos ha sido observada en *Tradescantia* cuando se incrementan las concentraciones de metales en diferentes suelos del mismo lugar (Majer *et al.* 2002). Esta inducción de micronúcleos ha sido usada para evaluar genotoxicidad provocada por aguas contaminadas y por sedimentos en la India, en raíces de *Allium* (Grover *et al.* 1999), estos investigadores describen que hay diferencias significativas al tratar las raíces con sedimentos contaminados de desechos fecales y descargas industriales. Otro grupo de investigadores de la Republica de China (Qing *et al.* 1999) emplearon raíces de *Vicia faba* para demostrar genotoxicidad al observar aberraciones cromosómicas en anafase y formación de micronúcleos en interfase causados por aguas de ríos contaminados, en este caso encontraron que la prueba de micronúcleos arrojó resultados significativos con respecto al testigo resaltando el hecho de que la mayor diferencia se da en lugares relacionados con asentamientos humanos e industriales, concluyendo que las dos pruebas son buenos bioindicadores para evaluar contaminación en sistemas acuíferos.



De los metales encontrados en los análisis de los sitios estudiados en este trabajo, las sales de cadmio y cromo han mostrado ser inductores de micronúcleos en fibroblastos humanos (Seoane y Dulout 2001), mientras que las sales de níquel no los provocan, cabe denotar que estos mismos autores hacen una comparación entre los micronúcleos con cinetocoros positivo y negativo, siendo el primero el que se encontró con mayor frecuencia, se ha demostrado que el positivo se refiere al que quedó incluido en el fragmento de cromosoma y da como resultado aneuploidías debido a que es excluido de la cinética celular; el negativo únicamente es el fragmento de cromosoma y estos no causan aneuploidías ya que no migran. También se ha observado arresto mitótico y daño en el huso en células de criceto chino tratadas con dosis de 0.1 a 1.0 μM de cloruro de cadmio (Warr et al. 1993), debido posiblemente a la polimerización de la tubulina. Un claro incremento en la frecuencia de células embrionarias aneuploides de criceto chino se obtuvo cuando fueron tratadas con 0.5 a 3.0 $\mu\text{g/ml}$ de cloruro de cadmio (Natarajan *et al.* 1993).

El índice mitótico constituye un criterio para evaluar el daño fisiológico que provocan los diversos agentes. Se ha descrito que las alteraciones cromosómicas causan directamente muerte celular (Heddle y Salome 1981), por lo que los cambios en dicho índice pueden ser considerados como indicadores de daño citotóxico. Generalmente el estado afectado de la célula es la interfase y en ocasiones la profase temprana, cuando esto último sucede es posible la reversión de las células a interfase. Edmunds (1964), ha demostrado que al impedirse la síntesis de DNA no hay división celular dando como resultado un índice mitótico bajo. Hay agentes químicos como los etilantes que inducen aductos que son reparados efectivamente, disminuyendo su

efecto mutagénico (Singer 1985). Tanto la formación como la persistencia de las lesiones del DNA, son el resultado de varios procesos sobrelapados tales como activación y degradación de las moléculas del mutágeno, su transferencia a los blancos biológicos, las propiedades fisicoquímicas (influencias por la temperatura, el pH, etc.), así como la pérdida espontánea o enzimática de lesiones por los procesos de reparación (Brendel y Ruhland 1982). En este estudio se observa que el índice mitótico con tiempos de recuperación (Tabla 7), en respuesta a los sedimentos del sitio 1 tienen un efecto estimulante significativo con respecto al testigo y ese mismo comportamiento ha sido observado en investigaciones con diferentes concentraciones de tiner y de acetato de etilo, esta inducción esta basada en las propiedades físicas de los disolventes (Gómez- Arroyo *et al.* 1986).

Con referencia al intercambio de cromátidas hermanas se encuentran diferencias significativas con respecto al testigo del sitio 1 de $p < 0.001$, del sitio 2 de $p < 0.05$ (Tabla 13) y la comparación entre ambos sitios $p < 0.001$, estos resultados muestran que existe enorme diversidad de agentes físicos o químicos en los sedimentos que están dañando al DNA en *Vicia faba*. Se ha observado que la frecuencia de ICH en plantas está muy incrementada al realizar tratamientos con agentes físicos y químicos usados también en células animales *in vitro* e *in vivo* (Takehisa *et al.* 1982). Las raíces de *Vicia faba* han demostrado alta sensibilidad a nivel cromosómico por agentes físicos y químicos, esto queda demostrado por la gran cantidad de trabajos realizados en esta planta (Gómez-Arroyo y Villalobos-Pietrini 1995). Aunque se conoce muy poco acerca del mecanismo de formación del ICH, los estudios sugieren que esta prueba en plantas puede proveer una herramienta poderosa

para detectar una gran variedad de agentes químicos o físicos dañinos al DNA (Xing y Zhang 1990, Zhang *et al.* 1991). Es importante mencionar que *Vicia faba* tiene una fracción metabólica S-10 que convierte promutágenos en mutágenos (Takehisa y Kanaya 1983, Takehisa *et al.* 1988, Gómez- Arroyo *et al.* 1995, Calderón-Segura *et al.* 1999). Este aspecto es significativo porque muchos agentes químicos no son mutagénicos por si mismos, pero se activan por medio de la transformación metabólica vegetal. Así, un promutágeno o mutágeno indirecto es convertido en un mutágeno a través de la activación metabólica animal o vegetal (Plewa y Gentile 1976, 1982).

En este trabajo las diferencias entre los sitios 1 y 2, siendo mayor en el 1 en la mayoría de las pruebas realizadas y a pesar que los resultados de los análisis de los sedimentos reportados por Lugo de la Fuente *et al.* (1997) donde encontraron (Tabla 3) que en el sitio 2 de 11 metales que se cuantificaron, seis de ellos se encuentran en mayor cantidad que en el sitio uno y son Cu (3 veces más), Fe (1.5 veces más), Cr (3 veces más), Ni (2 veces más), Co (2.5 veces más) y Cd (14 veces más), mientras que con el resto no hay diferencias; los resultados de la presente investigación indican probablemente un efecto antagónico en el sitio 2 en la inducción de aberraciones cromosómicas en tiempos cortos, así como en el índice mitótico en tratamientos con recuperación, similar a lo obtenido por Zhang y Xiao (1998), quienes demuestran que la combinación de algunos metales pueden tener efecto antagónico contrario al encontrado en los tratamientos con uno solo como el Cd ²⁺, en células meristemáticas de *Hordeum vulgare*, el orden de efecto antagónico fue Ca²⁺> Se⁴⁺>Zn²⁺, todos ellos compiten por los sitios de unión celulares con el Cd y tienen efectos protectores contra

él a concentraciones similares, estos resultados también han sido descritos por Niu (1995) en animales.

Sin embargo, en esta investigación con los sedimentos del río Lerma también pueden estar ocurriendo efectos sinérgicos causados por la mezcla de metales, funguicidas, disolventes orgánicos y herbicidas, como lo describen Vargas *et al.* (2001), quienes evaluaron la genotoxicidad inducida por contaminantes en *Salmonella* en presencia de enzimas microsómicas en los sedimentos en tres sitios del Río Grande en el Brasil (curso alto, medio y bajo) donde se encuentran asentados cerca de él, áreas urbanas, agrícolas e industrial (metalúrgica, textil, químicas y de comestibles), observando que algunos metales se presentan por arriba de lo permitido por la escala MS (escala marcada por Bowen en 1979), estos investigadores informaron que la citotoxicidad no está relacionada con las concentraciones de metales en los sitios ya que en algunos con concentraciones menores obtuvieron más respuesta citotóxica, posiblemente debido a la presencia de otros contaminantes fertilizantes, funguicidas etc. Al extraer fracciones muy polares, polar media y no polares, detectaron que las tres fracciones provocaron efectos de citotoxicidad, explicando que estos resultados pueden deberse a que en las tres fracciones existen disolventes orgánicos en diferentes concentraciones y que la mezcla de estos y los metales dan una respuesta genotóxica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

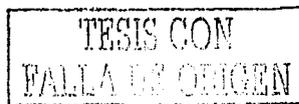
VII. CONCLUSIONES

Los contaminantes de los sedimentos de los dos sitios de estudio provocaron efectos genotóxicos en las células meristemáticas de *Vicia faba*.

Se demuestra que *Vicia faba* fue un buen biomonitor para analizar el daño genotóxico y citotóxico producido por los sedimentos del Río Lerma y su bajo costo representa una prueba biológica factible para monitoreo de sedimentos en los ríos a nivel nacional.

Al comparar los sitios de muestreo, se demostró que con los sedimentos del sitio 1 se produjeron mayores frecuencias de aberraciones cromosómicas tanto en anafase como en metafase, así como las células con micronúcleos en los tratamientos cortos sin recuperación y el índice mitótico en tratamientos de 4 horas en los tres tiempos de recuperación son más elevadas, también se evidencia una cantidad superior de intercambio de cromátidas hermanas.

Muchos de los resultados encontrados en esta investigación se pueden atribuir a los metales pesados, pero sin olvidar que los sedimentos son una mezcla de elementos en los que están incluidos además otros compuestos como pueden ser fertilizantes agrícolas, pesticidas, hidrocarburos, detergentes y poblaciones de microorganismos, que pueden dañar a las células para ocasionar un efecto antagónico al provocado por los metales.



Las respuestas genotóxicas no son directamente proporcionales a los niveles de contaminación por metales en los sitios de estudio, ya que en este trabajo no se da una relación dosis-respuesta; la contaminación por metales en el sitio 2 es mayor que en el 1, pero este último arrojó valores más altos en casi todas las pruebas de citotoxicidad.

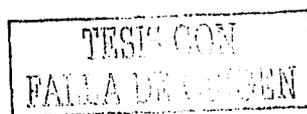
Gran parte de las aguas residuales industriales de la Ciudad de Toluca, son tratadas por la planta de E P P C A, que elimina un alto porcentaje de materia orgánica. Sin embargo, no excluye totalmente a compuestos muy peligrosos como metales pesados, hidrocarburos aromáticos y alifáticos, fenoles, detergentes, plaguicidas, etc, los que continúan su transporte a través del río Lerma (Gobierno del Estado de México 2000) y que al salir de dicha planta son adsorbidos por los sedimentos por la poca inclinación que presenta dicho río, lo que puede explicar el hecho de que en este sitio se produce mayor efecto genotóxico por lo que se requiere de más investigaciones sobre los posibles riesgos que se pueden estar originando.

Los sedimentos produjeron en las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* un aumento en el índice mitótico debido posiblemente a un retraso en el ciclo celular.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VIII. REFERENCIAS

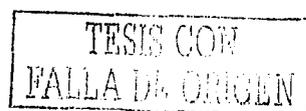
- Abraham S. y Nair R. 1989. Production of mitotic abnormalities by magnesium sulphate in *Vicia faba*. *Cytologia* **54**:559-563.
- Amer S.M., Mikhael E. y El-Ashry M. 1989. Cytogenetic effect of sulphur dioxide on *Vicia faba* plant. *Cytologia* **54**: 229-221.
- Amescua G.C. 1996. Biocumulación de cadmio, cromo, níquel y plomo en vegetales de suelos agrícolas irrigados con aguas residuales del río Lerma. Tesis de Maestría, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- Andersson H.C. 1983. Hydroxyurea induces sister chromatid exchanges in G2: implications for the formation of chromosomal aberrations. *Hereditas* **98**: 61-64.
- Allen H. E., Hall R.H. y Brisbin T.D 1980. Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. *Environ. Sci. Tech.* **14** : 441-443.
- Alloway B. J. 1990. Heavy metals in soil. Wiley, Nueva York.
- Alvarado L. G. y Valdez P. M. 1991. Concentración y distribución de metales pesados (cromo, cadmio, plomo y mercurio) en los suelos de la llanura baja de inundación del río Lerma, Estado de México. Tesis de Licenciatura, Escuela de Geografía, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- Ávila- Pérez P. 1995. Evaluación de los metales pesados Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb y Hg en agua, sedimento y lirio acuático (*Eichhonia crassipes*) de la presa José Antonio Alzate, Estado de México. Tesis de Maestría. Facultad de Química, U.A.E. Méx.
- Ávila- Pérez P. y Zarazúa O.G. 1993. Contaminación de metales pesados en ostión (*Crassostrea virginica*) de el canal el Chijol, Ver, Méx. *Inter. Environ. Pollut.* **92**: 53-64.
- Barceló Q. I. 2000. Estudio de la movilidad de Ca, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn en sedimentos de la presa José Antonio Alzate en el Estado de México. Tesis de Doctorado en Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Brendel M. y Ruhland A. 1982. Relationships between functionality and genetic toxicology of selected DNA- damaging agents. *Mutat. Res.* **133**: 51-85.
- Calderón- Segura M. E., Gómez- Arroyo S. Villalobos- Pietrini R. y Espinosa- Ramírez, M. 1999. *in vivo* and *in vitro* activation by *Vicia faba* of thiocarbamate herbicides molinate and butylate to products inducing sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* **438**: 81-88.



- Coker E. G. 1983. The use sewage sludge in agriculture. *Water Sci. Technol.* **15**: 105-108.
- Comisión Nacional del Agua, Gerencia Estatal Estado de México. 1998. Inventario de plantas de tratamiento de aguas residuales de la zona metropolitana de la Ciudad de Toluca, Metepec, México.
- Conger A.D. y Fairchild L.M. 1953. A quick-freeze method for making smear slides permanents. *Stain Technol.* **28**:281-283.
- Dabney B. 1981. The role of human genetic monitoring in the wokplace. *J. Occup. Med.* **23**: 626-631.
- Edmunds L. N. 1964. Replication of DNA and cell division in synchronously dividing cultures of *Euglena gracilis*. *Science* **145**: 266-268.
- E.P.A. United States Environmental Protection Agency 1986. Guidelines for mutagenicity risk assessment. Federal Register. Parte III, 1-22.
- Evans H.J. y Scott D. 1964. Influences of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-ray and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics* **49**:17-33.
- Gobierno del Estado de México. 1993. Atlas Ecológico de la Cuenca Hidrográfica del Río Lerma (Tomo I). Cartografía y anexos de documentos básicos.
- Gobierno del Estado de México. 2000. Atlas Ecológico de la Cuenca Hidrográfica del Río Lerma. Tomo V Comisión Coordinadora para la Recuperación Ecológica de la Cuenca del río Lerma.
- Gómez-Arroyo S. y Villalobos-Pietrini R. 1983. Chromosomal alterations induced by some chromium salts. *Cytologia* **48**:185-193.
- Gómez-Arroyo S., Baiza A.M., López G. y Villalobos-Pietrini R. 1985. A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion and methyl parathion in *Vicia faba*. *Contam. Ambient.* **1**:7-16.
- Gómez-Arroyo S., Castillo-Ruiz P. y Villalobos-Pietrini R. 1986. Chromosomal alterations induced in *Vicia faba* by different industrial solvents: thinner, toluene, benzene, n-hexane, n-heptane and ethyl actate. *Cytologia* **51**:133-142.
- Gómez-Arroyo S., Villagómez M.L. y Villalobos-Pietrini R. 1987. Effects induced by chromium trioxide on root tip chromosomes of *Vicia faba*. *Contam. Ambient.* **3**:55-61.
- Gómez-Arroyo S., Hernández-García A. y Villalobos-Pietrini R. 1988. Induction of sister chromatid exchanges in *Vicia faba* by arsenic-contaminated drinking water. *Mutat. Res.* **208**:219-224.

- Gómez-Arroyo S., Rodríguez-Madrid L. y Villalobos-Pietrini R. 1992. Chromosomal alterations induced by the thiocarbamate herbicide molinate (ordram) in *Vicia faba*. Rev. Int. Contam. Ambient. **8** (2): 77-80.
- Gómez-Arroyo S. y Villalobos-Pietrini R. 1995. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in *Vicia faba* as genetic monitors of environmental pollutants. **En: Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change**. F.M. Butterworth, Corkum L.D. y Guzmán-Rincón J. (Eds.). Plenum Press, Nueva York, pp. 95-113.
- Gómez-Arroyo S., Calderón-Segura M. E. y Villalobos-Pietrini R. 1995. Sister chromatid exchange in human lymphocytes induced by propoxur following plant activation by *Vicia faba*. Environ. Mol. Mutagen. **26**: 324-330.
- Gómez-Arroyo S., Armienta M.A., Cortés-Eslava J. y Villalobos-Pietrini R. 1997. Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* induced by arsenic-contaminated drinking water from Zimapan, Hidalgo, México. Mutat. Res. **394**:1-7.
- Grant W.F. 1978. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. Environ. Health Perspect. **27**: 37-43.
- Grant W.F. 1982. Plant mutagen assays based upon chromosome mutations. **En: Klekowsky E.J. (Ed.) Environmental Mutagenesis, Carcinogenesis and Plant Biology**. Vol. I Praeger, Nueva York, pp. 1-24.
- Grant W.F., Lee H.G., Logan D.M. y Salamone M.F. 1992. The use of Tradescantia and *Vicia faba* bioassays for the *in situ* detection of mutagens in an aquatic environmental. Mutat. Res. **270**: 53-64
- Grover I. S. y Kaur S. 1999. Genotoxicity wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. Mutat. Res. **426**: 183-188.
- Heddle J.A. y Salome H.F. 1981. Chromosomal aberration and bone marrow toxicity. Environ. Health Perspect. **39**: 23-27.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1983. Carta geológica. Esc 1:250000. Cd de México. E 14-2.S.P.P: México.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1995. Censo de Población y vivienda. Estado de México.
- Instituto de Geología. 1971. Carta Geológica del Estado de México y Distrito Federal. Esc. 1:500000. U.N.A.M.

- Kihlman B.A. 1966. **Actions of chemicals on dividing cell**. Prentice Hall, Nueva Jersey, pp. 143-157.
- Kihlman B.A., Natarajan A.T. y Andersson H.C. 1978. Use of the 5-bromodeoxyuridine-labelling technique for exploring mechanisms involved in the formation of chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* **52**: 181-198.
- Lugo de la Fuente J., Hernández Silva G., García-Calderón N. y Marín-Sillman L.E. 1997. Concentración de metales pesados en sedimentos de la Cuenca Alta del río Lerma. México. II Convención sobre la evolución geológica de México y recursos asociados. 32.
- Ma T.H. 1982. *Vicia* cytogenetic test for environmental mutagens. A report of the US Environmental Protection Agency Gene-tox Program. *Mutat. Res.* **99**:257-271.
- Majer J. B., Tschерko D., Paschke A., Wennrich R., Kundi M., Kandeler E. y Knasmüller S. 2002. Effects of heavy metal contamination of soil on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutat. Res* **515**: 11-24.
- McLaren R.G., Lawson D. W. y Swift R.S. 1986. Sorption and desorption of cobalt by soils and soil components. *J. Soil Sci.* 37:44.
- Natarajan A., Duivenvoorden W., Meijers M. y Zwanenburg T. 1993. Induction on mitotic aneuploidy using Chinese hamster primary embryonic cells: test results of 10 chemicals. *Mutat. Res.* **287**: 47-56.
- Nicoloff H. y Gecheff K. 1976. Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res.* **34**: 233-244.
- Nicoloff H., Rieger R. y Michaelis A. 1988. Effects of novobiocin on heat shock protection against chromatid aberrations induction by triethylenemelamine (TEM) and maleic hidrazide (MH) in *Vicia faba*. *Mutat. Res.* **208**: 173-178.
- Niu J.P. 1995. Joint toxic action of 29 pairs metal compounds on isolated rat hepatocytes. *J. Environ. Health* **12**: 56-58.
- Perry P. y Evans H.J. 1975. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* **258**:121-125.
- Plewa M.J. y Gentile J.M. 1976. Mutagenicity of atrazine: a maize- microbe bioassay. *Mutat. Res.* **38**: 287-292.
- Plewa M.J. y Gentile J.M. 1982. The activation of chemicals into mutagen by green plants. **En: Chemicals Mutagens: Principles and Methods for their Detection. Vol. 7**, De Serres, F.J. and Hollaender, A. (Eds.). Plenum, Nueva York, pp. 401-420.



Porta C. J., López-Acevedo R., M. y Roquero de L. C. 1993. **Edafología. Para la Agricultura y el Medio Ambiente**. Ediciones Mundi-Prensa. España. 807 pp.

Qing J., Hui Y. y Xijan Z. 1999. *Vicia* root-micronuclei assays on the clastogenicity of water samples from the Kui River near Xunzhou city, People's Republic of China. *Mutat. Res.* **426**: 133-135.

Rolandi A., De Marinis E y De Caterina M. 1984. Dithiocarbamate pesticides: activity of propineb in the micronucleus test in mice. *Mutat. Res.* **135**: 193-197.

Rosas I., Carbajal M. E., Belmont R. y Villalobos-Pietrini R. 1984. Cytogenetic effects of cadmium accumulation on water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Environ. Res.* **33**: 386-395.

Samborska-Ciania A. 1992. Changes in genetic material of *Vicia faba* var minor caused by desiccants: cytogenetic effect of desiccants applied under field conditions. *Genetica Polonica* **33**:267-272.

Schmid W. 1975. The micronucleus test. *Mutat. Res.* **31**: 9-15.

Seoane I.A. y Dulout N.F. 2001. Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore staining in the cytokinesis-blocked micronucleus assay. *Mutat. Res.* **490**: 99-106

Shelby M.D. 1976. Chemical mutagenesis in plants and mutagenicity of plant related compounds. The Environmental Mutagen Information Center Staff. ONRL/EMIC-7, Oak Ridge, Tenn., Oak Ridge National Laboratory.

Singer B. 1985. *In vivo* formation and persistence of modified nucleosides resulting from alkylating agents. *Environ. Health Perspect.* **62**: 41-48.

Sobrinho F.L. 1992. Desempeño Industrial del Estado de México. Perspectivas para la década de los ochenta. **En: Blancarte R.** (Ed.) Estado de México. pp. 329-363. Instituto Mexiquense de Cultura.

Takehisa S., Kanaya N. y Rieger, R. 1982. Induction of SCEs en CHO cells by extracts from *Vicia faba* roots exposed to ethanol. *Mutat. Res.* **105**: 169-164.

Takehisa S. y Kanaya N. 1983. A comparison of *Vicia faba*-root S 10 and rat-liver S9 activation of ethanol, maleic hydrazide and cyclophosphamide as measured by sister chromatid exchanges en Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* **124**: 145-151.

Takehisa S., Kanaya N. y Rieger, R. 1988. Promutagen activation by *Vicia faba*: an assay based on the induction of sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* **197**: 195-205.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Tam N.F. y Wong S.Y. 1994. Nutrient and heavy retention in magrove sediment receiving waste water. *Water Sci. Teach.* **29**: 193-200.
- Taylor J.H., Woods P.S. y Hughes W.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed autoradiographic studies using tritium-labelling thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **43**:122-128.
- Tempelaar M.J., de Both M.T.J. y Versteegh J.E.G. 1982. Measurement of SCE frequencies in plants: a simple Feulgen-staining procedure for *Vicia faba*. *Mutat. Res.* **103**:321-326.
- Vargas M. V., Migliavacca B. S., De Melo C.A., Horn C R., Guidobono R. R., Sá Ferreira F. C. y Pestana D. M. 2001. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutat. Res.* **490**: 141-158.
- Villalobos-Pietrini R., Flores-Márquez A.R. y Gómez-Arroyo S. 1994. Cytogenetic effects in *Vicia faba* of the polluted water form rivers of Tlaxcala hydrological system, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **10**:83-88.
- Warr T., Parry E. y Parry J. 1993. A comparison of two *in vitro* mammalian cell cytogenetic for the detection for mitotic aneuploidy using 10 know or suspected aneugen. *Mutat. Res.* **27**: 29-46.
- Wolff S. 1974. Sister chromatid exchange: the most sensitive mammalian system for determining the effects of mutagenic carcinogenic. Expert Conference Oslo, Noruega, pp. 11-13.
- Xing W. y Zhang Z. 1990. A comparison of SCE test in human lymphocytes and *Vicia faba*: a hopeful technique using plants to detect mutagens and carcinogens. *Mutat. Res.* **241**: 109-113.
- Zhang Z., Yang J., Zhang Q. y Cao X. 1991. Studies on the utilization of a plant SCE test in detecting potencial mutagenic agentes. *Mutat. Res.* **261**: 69-73.
- Zhang Y y Xiao H. 1998. Antagonistic effect of calcium, zinc and selenium against cadmium induced chromosomal aberrations and micronuclei in root cells of *Hordeum vulgare*. *Mutat. Res.* **420**; 1-6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IX TABLAS Y FIGURAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3. Concentraciones totales de metales pesados (ppm) en los sedimentos de la Cuenca Alta del Curso Alto del Río Lerma (Lugo de la Fuente *et al.* 1997).

Sitio	Km	Cu	Mn	Zn	Fe	Cr	Pb	Ni	Co	Cd	As	Hg
Sitio 1	15.7	29.5	404.0	238.5	19510	14.4	62.3	29.5	3.9	0.2	0.26	34
Sitio 2	26.2	98.4	301.0	277.0	28410	42.5	63.3	64.0	9.8	2.8	0.32	32
MS		39	850	120	48000	90	23	68				

MS: Escala acordada por Bowen (1979)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4. Aberraciones cromosómicas en anafase inducidas por sedimentos
(sitio 1)

Tiempo de exposición	Grupo	Total de anafases	Anafases normales %	Anafases anormales %	Fragmen_ tos %	Puentes %	C.C.I. %	Isocromo somas %
2 horas	Testigo	165	97.6	2.4	0	0.6	1.2	0.6
	Tratado	1144	93.1	6.9*	2.4*	2.0	1.7	0.8
3 horas	Testigo	150	100	0	0	0	0	0
	Tratado	364	89.7	10.3**	3.5**	2.9	2.5	1.4

C.C.I. Cromosomas con el centrómero inactivado.

* $p < 0.05$

** $p < 0.001$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Índice mitótico y células con micronúcleos en los tratamientos de 2 y 3 horas con sedimentos (sitio 1)

Tiempo de exposición	Grupo	Índice mitótico	% de células con micronúcleos
2 horas	Testigo	10.0	0.9
	Tratado	12.4	7.4
3 horas	Testigo	9.9	0
	Tratado	11.6	8.7

* $p < 0.001$

NS No significativo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Aberraciones cromosómicas en metafase inducidas por sedimentos en tratamiento de 4 horas con diversas horas de recuperación (sitio 1)

Tiempo de recuperación	Grupo	Total de metafases	Metafases normales %	Metafases anormales %	Rompimiento cromatídico %	Anillos %	Intercambios cromatídicos %
3 horas	Testigo	300	99.6	0.4	0	0	0.4
	Tratado	300	89.5	10.5*	8.5*	2.0	0
20 horas	Testigo	300	99.6	0.4	0.4	0	0
	Tratado	300	96.3	3.7**	1.7	1.7	0.3
44 horas	Testigo	300	97.3	2.7	2.7	0	0
	Tratado	300	86.0	14*	1.7	3.0*	9.3*

* p<0.001

** p<0.003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 7: Índice mitótico y células con micronúcleos en los tratamientos de 4 horas con sedimentos y diversas horas de recuperación (sitio 1)

Tiempo de recuperación	Grupo	Índice mitótico	% de células con micronúcleos	
3 horas	Testigo	7.6	0.5	NS
	Tratado	16.1	0.5	
20 horas	Testigo	8.2	0.3	**
	Tratado	12.1	1.6	
44 horas	Testigo	8.3	0.7	NS
	Tratado	13.8	0.6	

* p<0.001

** p<0.003

NS No significativo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**Tabla 8. Aberraciones cromosómicas en anafase inducidas por sedimentos
(sitio 2)**

Tiempo de exposición	Grupo	Total de anafases	Anafases normales	Anafases anormales	Fragmentos	Puentes	C.C.I.	Isocromosomas	Anafases Multipolares
			%	%	%	%	%	%	%
2 horas	Testigo	906	99.7	0.2	0	0	0.3	0	0
	Tratado	1644	93.3	6.7*	2.4*	1.0*	2.4*	0.8**	0.1
3 horas	Testigo	994	98.7	1.2	0.1	0.5	0.4	0.2	0
	Tratado	1532	90.3	9.7*	2.6*	2.8*	3.7*	0.5	0.1

C.C.I. Cromosomas con el centrómero inactivado.

* $p < 0.001$

** $p < 0.005$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9. Índice mitótico y células con micronúcleos en los tratamientos con sedimentos (sitio 2)

Tiempo de exposición	Grupo	Índice	% de células con micronúcleos
2 horas	Testigo	10.0	0.4
	Tratado	12.4	2.4
3 horas	Testigo	10.3	0.5
	Tratado	12.7	3.5

* $p < 0.001$

NS No significativo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 10. Aberraciones cromosómicas en metafase inducidas por sedimentos en tratamientos de 4 horas con diferentes tiempos de recuperación (sitio 2)

Tiempo de recuperación	Grupo	Total de metafases	Metafases normales %	Metafases anormales %	Rompimiento cromatídico %	Anillos %	Intercambios cromatídicos %
3 horas	Testigo	300	99.6	0.4	0	0	0.4
	Tratado	205	96.1	3.9*	2.7**	0.4	0.8
20 horas	Testigo	300	99.6	0.4	0.4	0	0
	Tratado	256	97.6	2.4	1.9	0	0.5
44 horas	Testigo	300	97.3	2.7	2.7	0	0
	Tratado	241	87.5	12.5*	2.1	2.1**	8.3*

* p<0.001

* p<0.006

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 11. Índice mitótico y células con micronúcleos en los tratamientos de 4 horas con sedimentos y diversas horas de recuperación (sitio 2)

Tiempo de recuperación	Grupo	Índice mitótico	% de células con micronúcleos
3 horas	Testigo	7.6 NS	0.5 NS
	Tratado	10.9	0.5
20 horas	Testigo	8.2 NS	0.3 NS
	Tratado	9.1	1.4
44 horas	Testigo	8.3 NS	0.7 NS
	Tratado	10.6	1.3

NS No significativo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. Resultados de los intercambios de cromátidas hermanas inducidas por sedimentos con 4 horas de exposición (sitios 1 y 2)

GRUPO	$\bar{X} \pm EE$
Testigo	32.8 \pm 1.017
Sitio 1	64.6 \pm 2.405
Sitio 2	37.44 \pm 0.86

El tamaño de la muestra fue de 25 metafases.
EE: Error estándar.

Tabla 13. Análisis de Varianza de los intercambios de cromátidas hermanas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias cuadráticas	F	p
Tratamientos	2	14754	7376.81	117.14	<0.001
Residuales	72	4534.2	62.974		

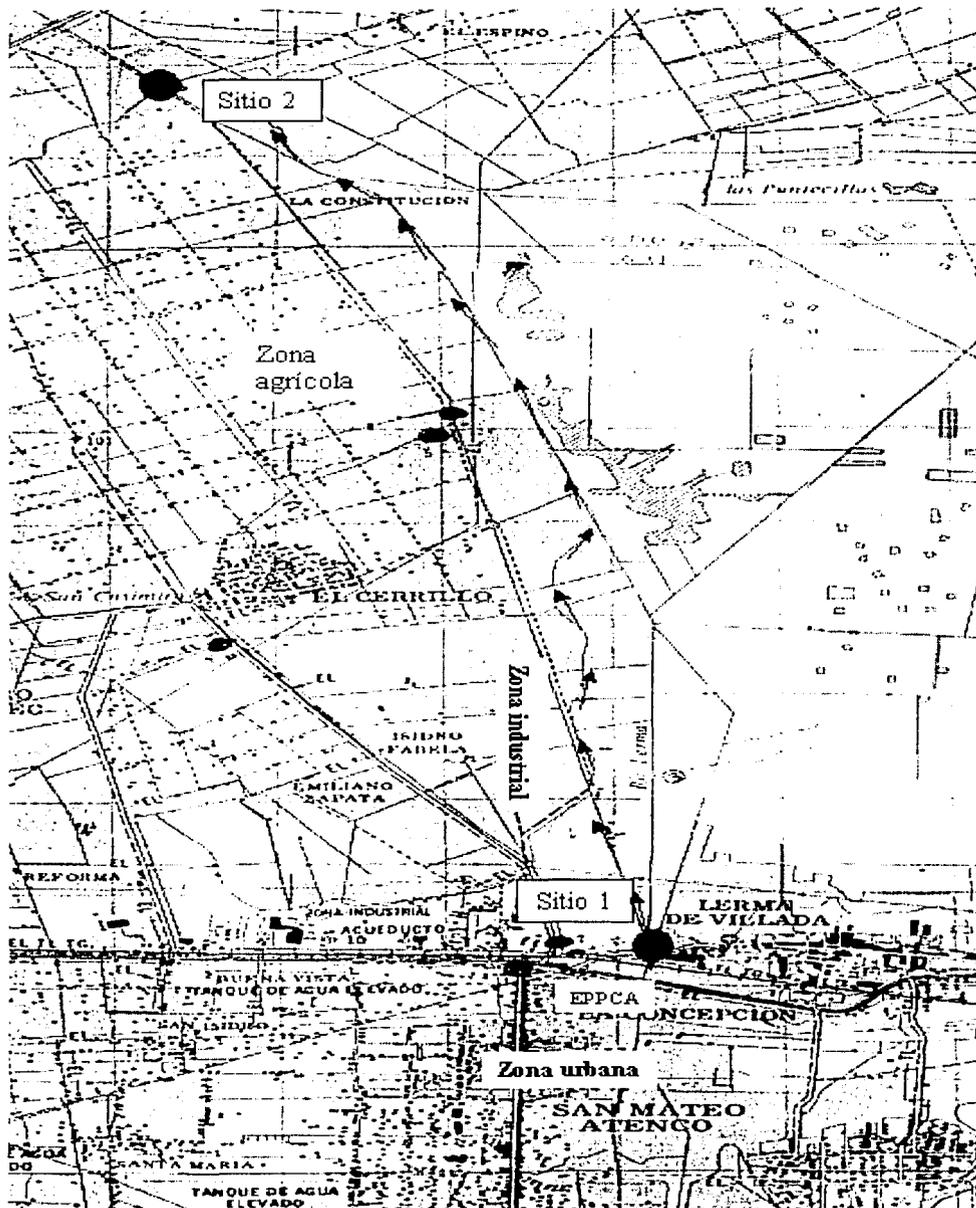
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 14. Comparación de Newman Keuls de los intercambios de cromátidas hermanas inducidas por sedimentos con 4 horas de exposición.

Comparación	Diferencia entre medias	t	p
Testigo vs sitio 2	-4.640	2.924	<0.05
Testigo vs sitio 1	-31.800	20.036	<0.001
Sitio 2 vs sitio 1	-27.160	17.113	<0.001

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

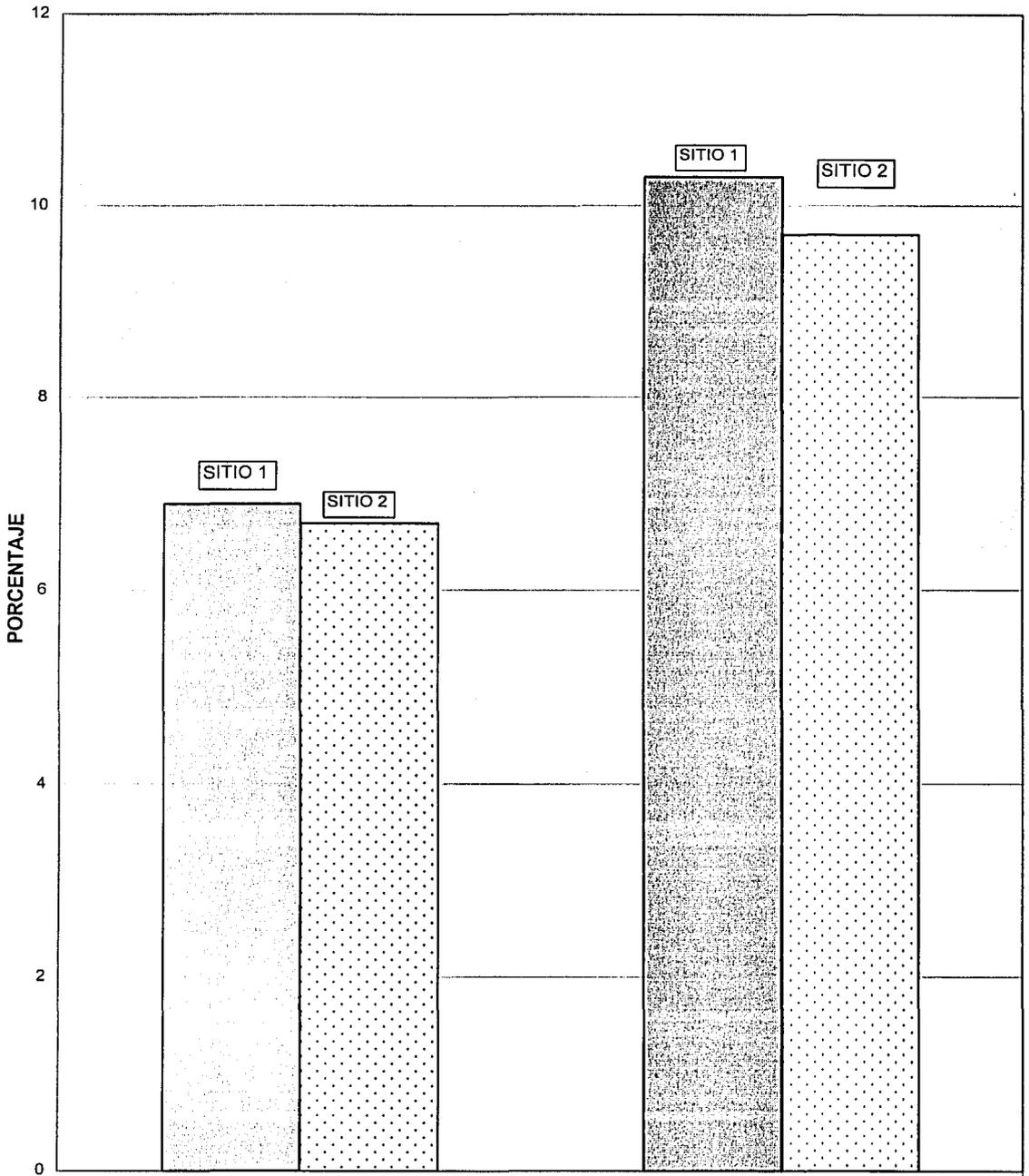
Figura 2. Mapa de los sitios de estudio



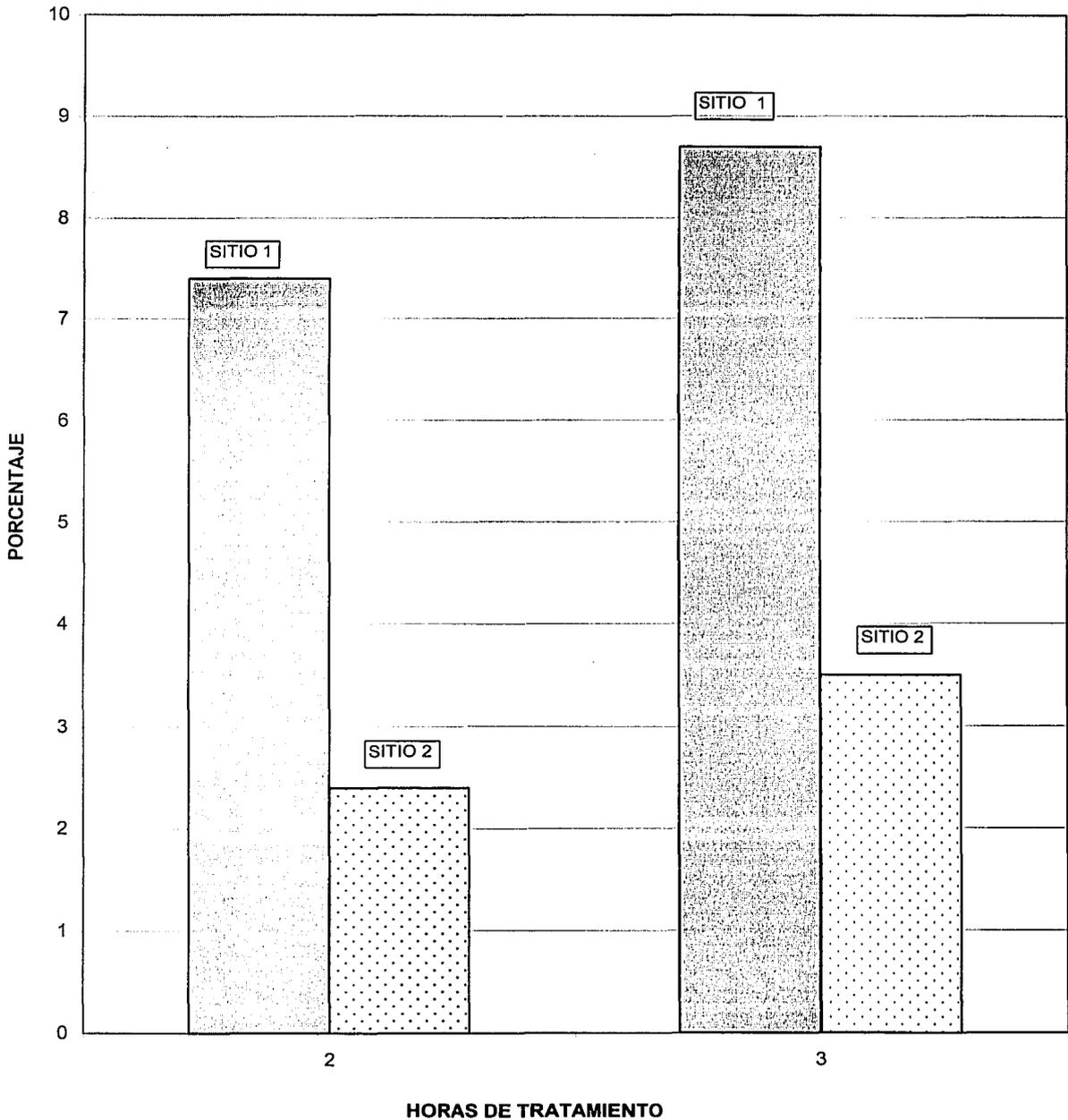
Comisión de Estudios Territoriales del Estado de México
 EPPCA Planta tratadora de agua del Estado de México

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

FIGURA 3. PORCENTAJE DE ANAFASES ANORMALES INDUCIDAS POR SEDIMENTOS (SITIO 1 Y 2)



TESIS CON HORAS DE TRATAMIENTO
 FALLA EL ORIGEN

FIGURA 4. CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS TRATADAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2)

TESIS CON
TALLA DE ORIGEN

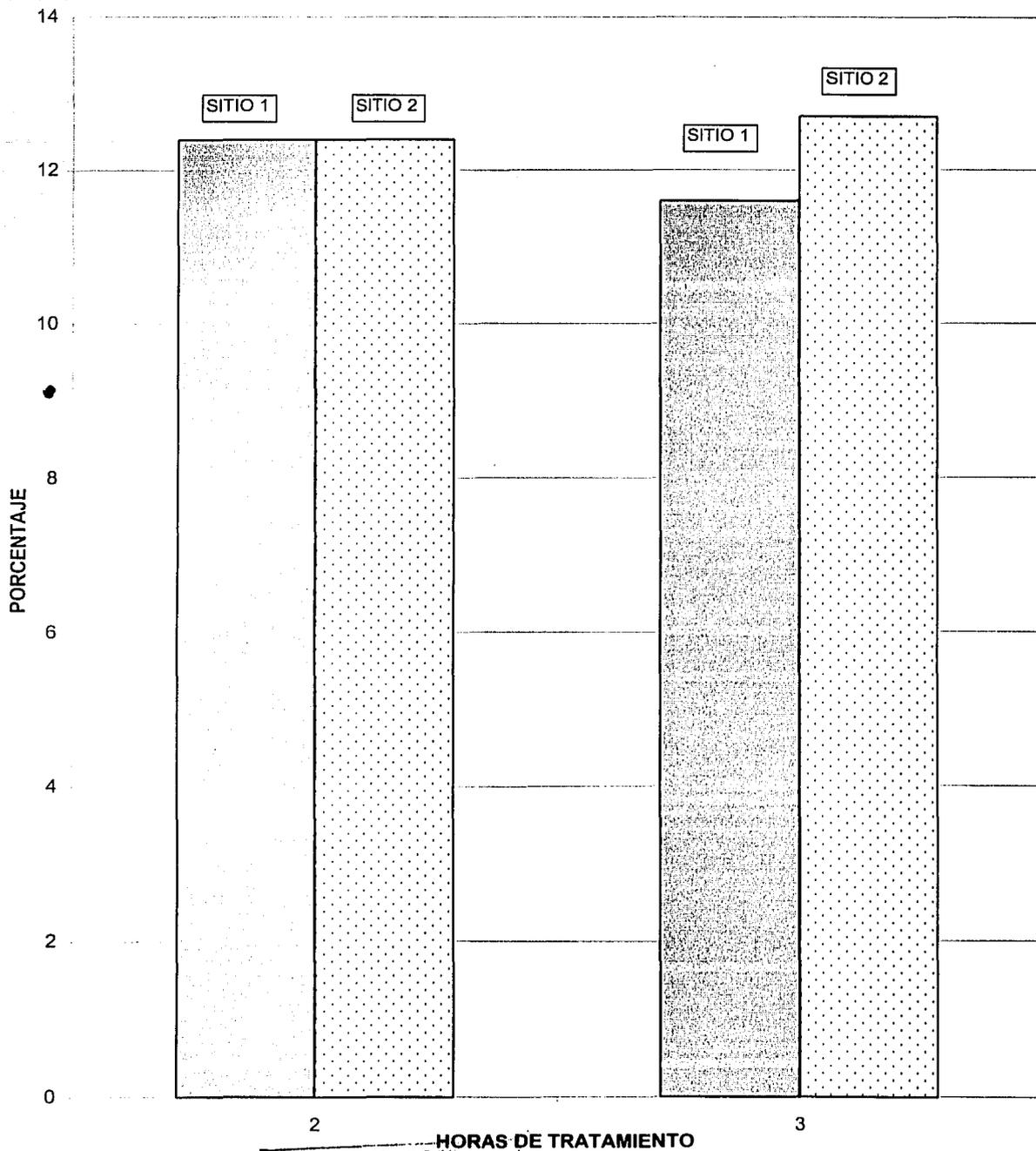
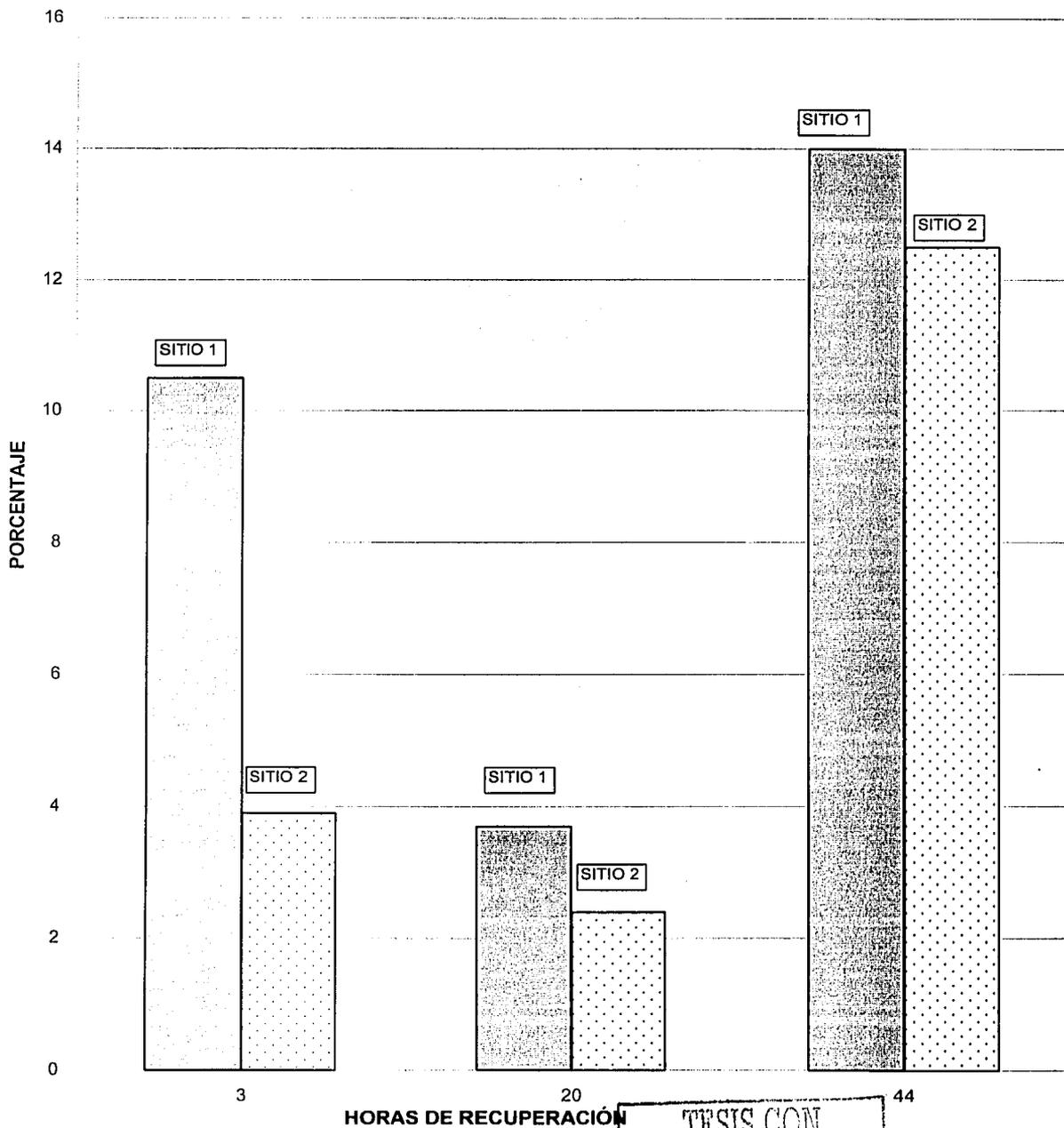
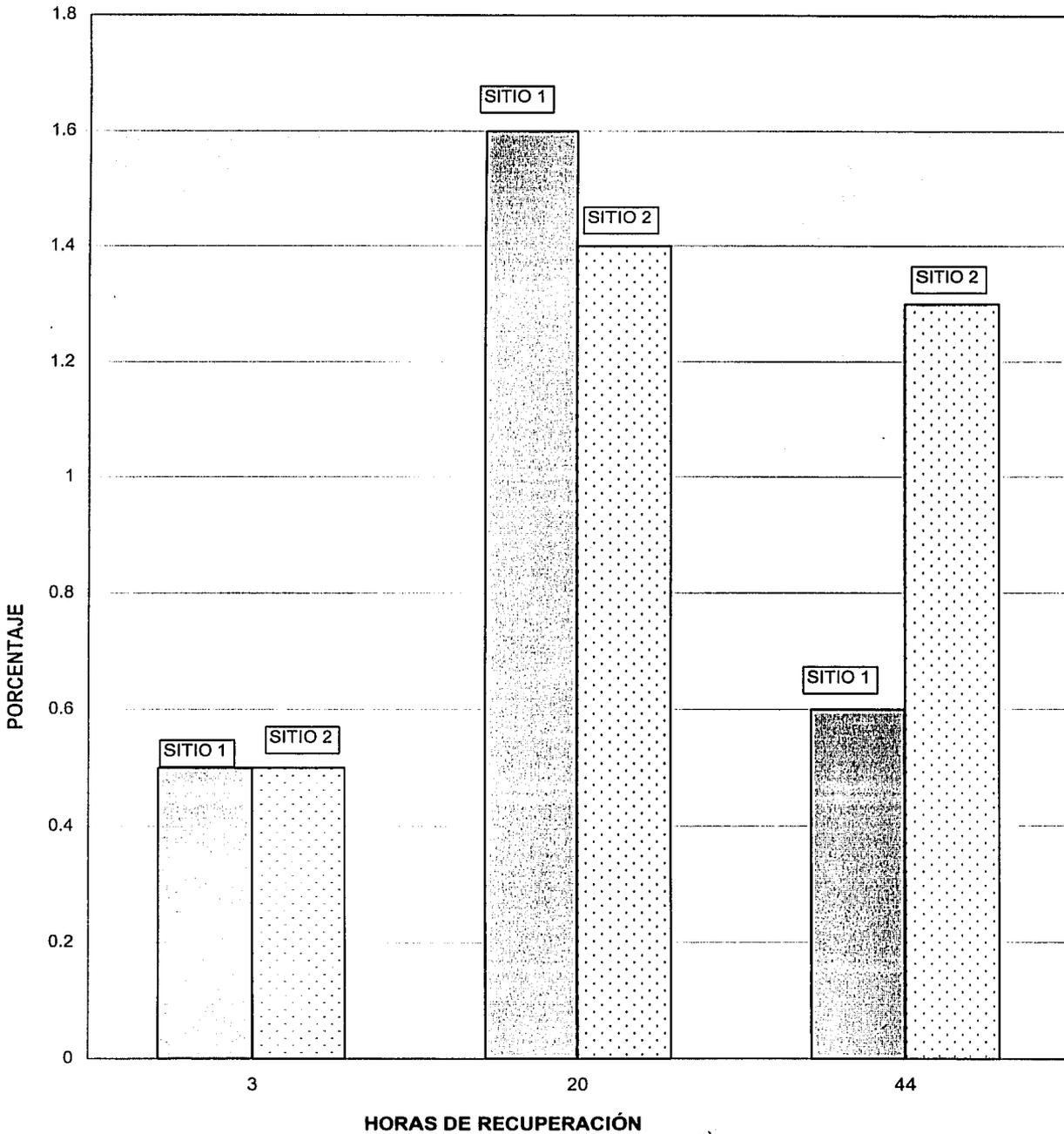
FIGURA 5. ÍNDICE MITÓTICO EN LOS MERISTEMOS RADICULARES TRATADOS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2)TESIS COM
FALLA DE CUBIERTA

FIGURA 6. PORCENTAJE DE METAFASES ANORMALES INDUCIDAS POR LA EXPOSICIÓN POR 4 HORAS A SEDIMENTOS (SITIOS 1 Y 2)



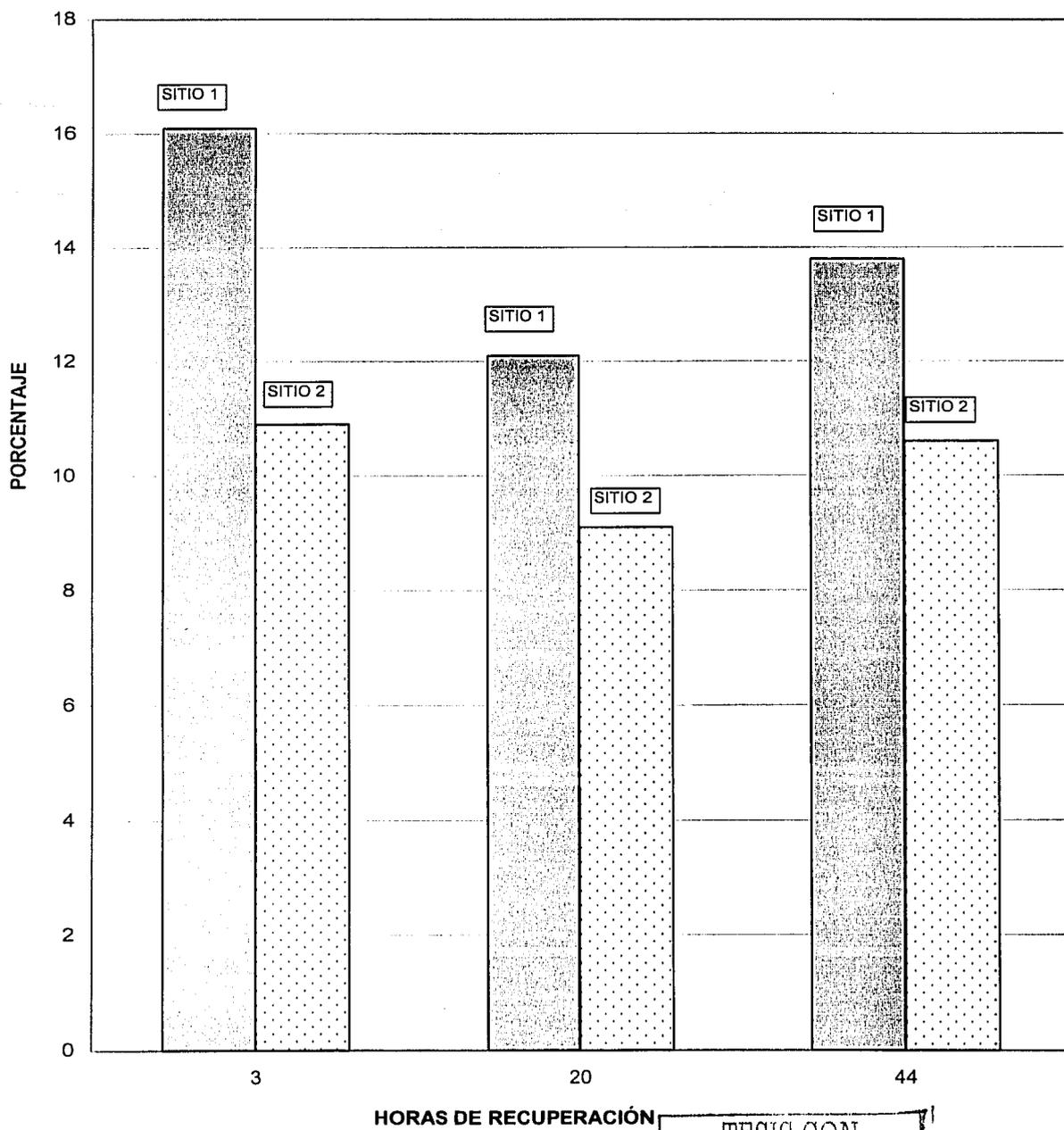
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

FIGURA 7. CÉLULAS CON MICRONÚCLEOS EN TRATAMIENTOS DE 4 HORAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 y 2)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

FIGURA 8. ÍNDICE MITÓTICO EN MERISTEMOS TRATADOS 4 HORAS CON SEDIMENTOS (SITIOS 1 y 2)TESIS CON
FALLA DE ORIGEN