



11821  
21 1

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE AGUAS RESIDUALES DE LA  
ACTIVIDAD DE TENERÍA UTILIZADAS PARA RIEGO EN EL MUNICIPIO  
DE LEÓN, GUANAJUATO**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO AGRÍCOLA**

**PRESENTA:**

**DANIEL PALAFOX MATA**

**ASESOR: ING. OSCAR HORACIO GUILLÉN AYALA**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.**

**2003**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

2

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Evaluación genotóxica de aguas residuales de la actividad de tenería  
utilizadas para riego en el municipio de León, Guanajuato.

que presenta el pasante: Daniel Palafox Mata  
 con número de cuenta: 9460820-9 para obtener el título de :  
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**AT E N T A M E N T E**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de agosto de 2003

PRESIDENTE Ing. Adolfo José Manuel Ochoa Ibarra

VOCAL M.C. Edvino Josafat Vega Rojas

SECRETARIO Ing. Oscar Horacio Guillén Ayala

PRIMER SUPLENTE Ing. Salvador Clemente del Castillo Rabadán

SEGUNDO SUPLENTE Ing. Juan Roberto Guerrero Agama

**TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN**

## DEDICATORIA

*A mis Padres, Hermanos y Sobrinos*

Porque no habrá forma de agradecer una vida de amor, esfuerzo y sacrificio, los amo.

A mis *amigos* de la Carrera de *Ingeniero Agrícola*, en especial a los de la Generación 19, gracias por su amistad y por todos los momentos que pasamos juntos.

A los cuates de la(s) *chamba(s)* gracias por todo el apoyo.

Para mis *maestros* y todos aquellos que han participado en mi formación personal y profesional.

Agradezco a el Ing. Adolfo José M. Ochoa Ibarra, el M:C: Edvino Josafat Vega Rojas, al Ing. Salvador Clemente del Castillo Rabadan y a el Ing. Roberto Guerrero Agama por su valiosa participación en la elaboración de este trabajo.

De forma especial agradezco al Ing. *Oscar Horacio Guillén Ayala* por su apoyo, tiempo, paciencia y por compartir sus conocimientos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

	Página
Índice de tablas.....	I
Índice de figuras.....	II
Resumen.....	III
1.- Introducción.....	1
2.- Objetivos.....	4
Hipótesis.....	4
3.- Revisión de literatura.....	5
3.1.- Definición de aguas contaminadas.....	5
3.2.- Características físicas de las aguas contaminadas.....	7
3.3.- Características químicas de las aguas contaminadas.....	10
3.4.- Características biológicas de las aguas contaminadas.....	14
3.5.- Actividad agrícola como factor de contaminación del agua.....	14
3.5.1.- Salinidad del agua como factor de contaminación.....	17
3.6.- Contaminación del agua por metales pesados.....	18
3.6.1.Efectos tóxicos de los metales pesados en las plantas.....	20
3.7.- Ciclo celular en células meristemáticas.....	24
3.8.- División celular en células meristemáticas.....	26
3.9.- Importancia de la evaluación genotóxica.....	29
3.10.- Definición e importancia de la prueba de micronúcleos.....	30
3.11.- El haba ( <i>Vicia faba</i> L) como material biológico.....	32

	Página
4.-Materiales y métodos.....	33
4.1.- Sitio de muestreo.....	33
4.2.- Sitio de la experimentación.....	33
4.3.- Material biológico.....	33
4.4.- Materiales y reactivos.....	33
4.5.- Metodología.....	35
4.6.- Diseño experimental.....	36
4.7.- Análisis estadístico.....	36
4.8.- Análisis citogenético.....	36
4.9.- Criterios para seleccionar células micronucleadas.....	37
5.- Resultados.....	38
6.- Discusión de resultados.....	45
7.- Conclusiones.....	48
8.- Recomendaciones.....	49
9.- Bibliografía.....	50

## ÍNDICE DE TABLAS.

	Página
Tabla 1. Actividades que originan aguas contaminadas.....	6
Tabla 2. Características físicas de las aguas contaminadas.....	7
Tabla 3. Características químicas de las aguas contaminadas.....	10
Tabla 4. Características biológicas de las aguas contaminadas.....	14
Tabla 5. Efectos de las actividades agrícolas en la calidad del agua.....	15
Tabla 6. Efecto de la salinidad en las plantas.....	17
Tabla 7. Límites máximos permisibles para metales pesados.....	19
Tabla 8. Efecto de los metales pesados en las plantas.....	20
Tabla 9. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos.....	38
Tabla 10. Análisis de varianza para la frecuencia de índice mitótico.....	38
Tabla 11. Frecuencia de micronúcleos en los diferentes tratamientos evaluados.....	40
Tabla 12. Frecuencia del índice mitótico en los diferentes tratamientos evaluados.....	41

**ÍNDICE DE FIGURAS.**

	Página
Figura 1. Ciclo celular.....	25
Figura 2. Fases de la mitosis en células vegetales.....	28
Figura 3. Frecuencia de micronúcleos.....	40
Figura 4. Frecuencia del índice mitótico.....	41
Figura 5. Células de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) con presencia de micronúcleos.....	42
Figura 6. Célula de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en profase.....	43
Figura 7. Célula de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en metafase.....	43
Figura 8. Célula de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en anafase.....	44
Figura 9. Célula de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en telofase.....	44

### RESUMEN.

La actividad agrícola es la principal usuaria de agua dulce, ya que utiliza un promedio mundial del 70 por ciento de todos los suministros hídricos superficiales (FAO, 2000).

En la República Mexicana la escasez de agua apropiada para el riego en la agricultura, genera la necesidad de usar fuentes alternas de este elemento, ello ha provocado que varias zonas agrícolas estén siendo afectadas por la contaminación de aguas de riego, entre las que se encuentra al Valle de León, que se ve afectado por la descarga de desechos y sustancias contaminantes provenientes de la industria de tenería. Por lo que este trabajo tiene por objeto evaluar mediante la prueba de micronúcleos el efecto genotóxico de aguas contaminadas en células meristemáticas apicales de raíz de haba, mediante la evaluación de la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico. Para lo anterior se probó con 4 diferentes concentraciones de muestras de agua contaminada del Valle de León; que fueron al 10, 25, 50 y al 100% incluyendo un control negativo. Los resultados mostraron que existe una proporción dosis-efecto, es decir, conforme aumenta la concentración de contaminantes en el agua crece el número de micronúcleos en las células meristemáticas de raíz de haba, de igual forma pasa con el índice mitótico al incrementarse la concentración de contaminantes va aumentando la alteración sobre la división mitótica de las células de haba.

Por la importancia de los resultados obtenidos es necesario que este tipo de aguas reciban algún tipo de tratamiento, para su uso agrícola, ya que de lo contrario representan un riesgo genotóxico potencial para las plantas cultivadas.

## 1.- INTRODUCCIÓN

El aumento demográfico, la urbanización y la industrialización, están creando múltiples problemas en relación con el medio ambiente. Dichos problemas son particularmente graves en la contaminación del agua.

El desarrollo industrial y tecnológico característico de las sociedades actuales, ha generado de forma descontrolada una gran cantidad de desechos que se vierten en el agua y que la naturaleza es incapaz de asimilar.

Las alteraciones que sufre el agua después de un cierto uso y su retorno a las fuentes originales, puede provocar alteraciones irreversibles sobre la flora y fauna nativa del lugar, y sobre el humano mismo.

En la República Mexicana, la escasez de agua apropiada para el riego en la agricultura, genera la necesidad de usar fuentes alternas de este elemento, que en ciertos casos están afectadas por desechos industriales, domésticos y de minería. Con frecuencia, esta agua contiene contaminantes que pueden ser de muy diversa índole como residuos químicos sólidos, líquidos o gaseosos, materia tóxica, microorganismos infecciosos, desechos radioactivos y metales. Estas sustancias dan al agua propiedades indeseables, como corrosión, incrustabilidad, toxicidad, mal olor, mal sabor y mala apariencia. Las aguas que contienen estas sustancias en altas concentraciones, tienen un impacto negativo en las plantas cultivadas afectando su crecimiento, desarrollo y rendimiento (Guerrero, 1991).

México presenta una zona agrícola, entre otras regiones, que se ve afectada por la contaminación de aguas de riego, este lugar es una región agrícola del Bajío que recibe los afluentes de agua de la industria de tenería, ubicada principalmente en la ciudad de León, Guanajuato, en donde existen más de 500 tenerías que constituyen la principal actividad económica y que en conjunto incorporan una importante carga de desechos y sustancias contaminantes que se dispersan en el Valle de León (Trujillo, 2002; Armienta, et al., 2001).

La escasez de agua de riego, aunado a un contenido relativo de materia orgánica que presentan las aguas contaminadas, son factores que han llevado a que se reutilicen este tipo de aguas en el riego de cultivos como maíz, trigo y alfalfa; pero existen estudios que indican que este tipo de aguas dan lugar a condiciones fuertemente restrictivas a los cultivos agrícolas, y además generan diversos problemas sanitarios en la población humana y severas limitaciones para sus distintos usos (Trujillo, 2002; BGS, 1994; Morales, 2000).

El daño genético que ocasionan los contaminantes del agua en las plantas cultivadas, se puede evaluar mediante la realización de estudios genotóxicos que permiten hacer una evaluación temprana de un contaminante, el cual, generalmente, causa una toxicidad a un nivel genético, manifestación que se detecta antes de que se presente a un nivel fisiológico y morfológico en el vegetal ya establecido y con el consiguiente gasto económico (Grover y Satwinderjeet, 1991; Guillén, 2000; Grant, 1994; Ma, et al 1997).

Para identificar el potencial genotóxico de sustancias presentes en el agua, existen muchos estudios que se han realizado con bacterias, cultivos celulares de humanos y de otros organismos (López, 1999; Moretton, 1999; Mahata, et al, 2003; Magliola, et al, 1997; Cerna, et al, 1997; Bekaert, et al, 1997), pero existe una escasez de este tipo de estudios en células vegetales, por lo que se realizó este trabajo.

La prueba seleccionada para el presente estudio y que se utilizó para observar el daño citogenético, de estos contaminantes, es la prueba de micronúcleos que se encuentra entre los bioensayos que detectan alteraciones a nivel de estructura de cromosoma, y es considerada una prueba sencilla, confiable y de alta sensibilidad, para determinar el efecto genotóxico de una sustancia química en agua, suelo y aire utilizando como bioindicador a las plantas (Grover y Satwinderjeet, 1999; Guillén, 2000).

Entre las metodologías existentes, la aplicación de bioensayos de toxicidad en plantas vasculares está siendo considerada de manera creciente en grupos de ensayo para el

diagnóstico genotóxico. Un sistema de prueba vegetal muy útil para la detección de la actividad genotóxica de contaminantes en agua, lo constituyen las células meristemáticas de la raíz de haba (*Vicia faba* L.) que ofrecen un amplio rango de posibilidades para efectuar análisis citogenéticos (Grover y Satwinderjeet, 1999; Grant, 1994; Ma, et al., 1997).

## **2.-OBJETIVO GENERAL:**

- Evaluar, mediante la prueba de micronúcleos, el efecto genotóxico de aguas contaminadas en células meristemáticas ápicales de raíz de haba (*Vicia faba* L.).

## **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- Determinar la frecuencia de micronúcleos en células del meristemo apical de raíz de haba (*Vicia faba* L.).
- Valorar si las aguas contaminadas ocasionan modificaciones en la proliferación de células meristemáticas ápicales de la raíz de haba (*Vicia faba* L.).

## **HIPÓTESIS**

- Si las sustancias químicas presentes en las aguas contaminadas actúan como agentes genotóxicos induciendo alteraciones cromosómicas en las células meristemáticas de raíz de haba (*Vicia faba* L.) se observará un aumento en la frecuencia de micronúcleos.

### **3.- REVISIÓN DE LITERATURA.**

#### **3.1.- Definición de aguas contaminadas.**

El agua se puede contaminar al acumularse en ella sustancias químicas a niveles tales que repercuten negativamente en las propiedades fisicoquímicas del agua. Las sustancias a esos niveles de concentración se vuelven tóxicas para los organismos que viven en el agua o que necesitan de ella, por lo tanto se trata de una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del agua (Pescod, 1992).

Las aguas contaminadas resultan de la combinación de los residuos líquidos, o aguas portadoras de residuos, procedentes tanto de residencias como de instituciones públicas, establecimientos industriales incluidos los agrícolas y comerciales, a los que pueden agregarse, eventualmente, aguas subterráneas, superficiales y pluviales (Metcalf, 1996).

La Comisión Nacional del Agua (1990), define como aguas contaminadas a las aguas provenientes de actividades domésticas, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias o de cualquier otra actividad humana y que por el uso recibido se le hallan incorporado contaminantes en detrimento de su calidad original.

También se propone que las aguas contaminadas son las que provienen de diferentes actividades que pueden originar este tipo de aguas. Son muchos los residuos tóxicos que se presentan en estas aguas, entre ellos destacan los siguientes:

Tabla 1. Actividades que originan aguas contaminadas.

ACTIVIDAD	CONTAMINANTES
Industria química	Ácidos, bases, metales, disolventes y fenoles.
Industria petroquímica	Hidrocarburos, fenoles, ácidos, bases y asbestos.
Industria metalúrgica	Metales especialmente: fierro, cobre, níquel, cromo, mercurio, zinc, cadmio, plomo, estaño, además de sulfatos, amoníaco y cianuros.
Industria energética	Combustibles, fenoles, cianuros y asbestos.
Tenería	Metales: fierro, cobre, níquel, cromo, mercurio, zinc, cadmio, plomo, ácidos, grasas y aceites, nitrógeno, cloruro de sodio.
Agrícola	Fertilizantes, plaguicidas.
Industria automotriz	Grasas y aceites, cromo, fósforo, cianuros, cobre, níquel, fierro, zinc, fenoles, cloruros, nitratos, amoníaco, sulfatos, estaño, plomo, cadmio.

FUENTES: Bekaert, *et al.*, 1997; Castro de Esparza y Flórez, 1993; Guerrero, 1991; Pescod, 1992; Morales, 2000.

El grado de contaminación del agua puede ser estimado considerando la biodisponibilidad, movilidad y persistencia de los contaminantes presentes. Por biodisponibilidad se entiende la asimilación del contaminante por los organismos y en consecuencia la posibilidad de causar algún efecto negativo o positivo. La movilidad regula la distribución del contaminante y por tanto, su posible transporte a otros sistemas. La persistencia regula el periodo de actividad de la sustancia tanto en el agua como en los organismos (García y Dorransoro, 1999).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.2.- Características físicas de las aguas contaminadas.

En la Tabla 2 se mencionan las principales características físicas que presentan las aguas contaminadas.

Tabla 2. Características físicas de las aguas contaminadas.

Características Físicas	Descripción
Sólidos	Incluye la materia en suspensión, sedimentable, coloidal y la materia disuelta. Los sólidos son útiles para determinar la clase de proceso u operación más apropiada para el tratamiento de las aguas contaminadas, y estimar el potencial de reutilización.
Olor	El agua pura debe ser inodora sin embargo, esto se ve alterado en la mayoría de las ocasiones. La aparición de olores en un agua puede ser debida básicamente a dos factores. En primer lugar puede ser motivo de la presencia de determinadas sustancias y compuestos químicos que tienen olores característicos, como puede ser el cloro, el amoníaco o la mayoría de los compuestos orgánicos. En segundo lugar, otra fuente importante de olores es la materia orgánica en proceso de descomposición.
Turbiedad	La turbiedad como medida de las propiedades de transmisión de la luz de un agua, es otro parámetro que se emplea para indicar la calidad de las aguas vertidas o de las aguas naturales en relación con la materia coloidal y residual en suspensión. Las partículas en suspensión pueden ser de naturaleza muy variada, como arcillas, limos, granos de sílice, materia orgánica, etc. Por tanto, la determinación del grado de turbidez del agua nos puede dar información, sino acerca de los elementos contaminantes específicos presentes, sí sobre el grado de contaminación general.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Continuación Tabla 2.

Características Físicas	Descripción
Color	<p>El color azul que presentan los grandes volúmenes de agua pura se puede ver alterado por la presencia de determinadas sustancias en disolución.</p> <p>El agua contaminada reciente suele tener un color grisáceo, sin embargo, al aumentar el tiempo de transporte y al desarrollarse condiciones más próximas a las anaerobias, el color del agua contaminada cambia gradualmente de gris a gris oscuro, para finalmente adquirir color negro. Algunas aguas residuales industriales pueden añadir más color. En la mayoría de los casos, el color gris, gris oscuro o negro del agua es debido a la formación de sulfuros metálicos por reacción del sulfuro liberado en condiciones anaerobias con los metales presentes en las aguas contaminadas.</p>
Conductividad.	<p>La conductividad eléctrica del agua se refiere a la mayor o menor resistencia del agua a permitir el paso de la electricidad..</p> <p>El agua en estado puro no presenta prácticamente carácter conductor, debido al bajo grado de disolución iónica que presenta. Por tanto, para que su conductividad aumente es preciso que haya compuestos disueltos en el agua y disociados en sus iones. Estos compuestos los constituyen en su mayoría las sales minerales. Una medida de la conductividad en un agua nos dará por tanto una estimación acerca de la concentración aproximada de las sales minerales presentes, no aportará información acerca de la contaminación orgánica de un agua en el caso de que ésta exista, pues la materia orgánica del agua apenas modifica la conductividad de ésta.</p>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Continuación Tabla 2.

Características Físicas	Descripción
Densidad	Se define la densidad de un agua contaminada como su masa por unidad de volumen, de ella depende la potencial formación de corrientes de densidad en fangos de sedimentación, humedales y otras instalaciones de tratamiento.
Temperatura	Es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto en el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción, así como en la aptitud del agua para ciertos usos útiles. De igual manera la conductividad eléctrica de un agua varía con la temperatura. Ello es debido a que dependiendo de la temperatura aumenta o disminuye la solubilidad de las sales y en especial la de los gases, modificándose por tanto la concentración de los compuestos iónicos presentes. Por razones análogas se explica la variación del pH con la temperatura. Otro parámetro que está en función de la temperatura es la densidad del agua, lo que es importante, pues una alteración de la densidad modifica los movimientos de mezcla de diferentes masas de agua. La temperatura media anual de las aguas contaminadas varía entre 10 y 21 °C, pudiéndose tomar como valor promedio 15.6°C.

FUENTES: Cajuste y Carrillo, 1992; Ramalho, 1996; Metcalf, 1996; Seoáñez y Angulo, 1999; Seoáñez y Gutiérrez, 1999; Crites y Tchobanoglous, 2000; Jiménez, 2002.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.3.- Características químicas de las aguas contaminadas.

Son varios los componentes químicos de las aguas contaminadas que tienen importancia para la determinación y el control de la calidad de éstas y se mencionan en la Tabla 3.

Tabla 3. Características químicas de las aguas contaminadas.

Características Químicas	Descripción
Materia Orgánica	<p>Son sólidos que provienen de los reinos animal y vegetal, así como de las actividades humanas relacionadas con la síntesis de compuestos orgánicos, los cuales están formados normalmente por combinaciones de carbono, hidrógeno y oxígeno, con la presencia, en determinados casos, de nitrógeno. También pueden estar presentes otros elementos como azufre, fósforo o hierro. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en las aguas contaminadas son las proteínas, carbohidratos, grasas y aceites.</p> <p>El agua contaminada también contiene pequeñas cantidades de gran número de moléculas orgánicas sintéticas cuya estructura puede ser muy simple a extremadamente compleja, como los compuestos orgánicos volátiles y los pesticidas de uso agrícola.</p>
Proteínas	<p>Las proteínas son los principales componentes del organismo animal, mientras que su presencia es menos relevante en el caso de organismos vegetales. Están presentes en todos los alimentos de origen animal o vegetal cuando éstos están crudos. La composición química de las proteínas es muy compleja e inestable, pudiendo adoptar muchos mecanismos de descomposición diferentes. Algunas son solubles en agua, mientras que otras no lo son. La urea y las proteínas son los principales responsables de la presencia de nitrógeno en las aguas contaminadas.</p>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Continuación de la Tabla 3.

Características Químicas	Descripción
Carbohidratos.	<p>Los carbohidratos incluyen azúcares, almidones, celulosa y fibra de madera, compuestos todos ellos presentes en el agua contaminada. Algunos carbohidratos son solubles en agua, principalmente los azúcares tienen tendencia a descomponerse. Los almidones, por otro lado, son más estables, pero se convierten en azúcares por la actividad bacteriana así como por la acción de ácidos minerales diluidos. Desde el punto de vista del volumen y la resistencia a la descomposición, la celulosa es el carbohidrato cuya presencia en el agua contaminada es más importante, ya que es el más abundante.</p>
Grasas y Aceites	<p>El término grasa, de uso extendido, engloba las grasas animales, aceites, ceras y otros constituyentes presentes en las aguas contaminadas.</p> <p>Las grasas y aceites animales alcanzan las aguas en forma de mantequilla, manteca de cerdo, margarina. Las grasas vegetales provienen habitualmente de gérmenes de cereales, semillas, nueces y ciertas frutas.</p> <p>El keroseno, los aceites lubricantes y los procedentes de materiales bituminosos son derivados del petróleo y del alquitrán, y sus componentes principales son carbono e hidrógeno. La mayor parte de estos aceites flotan en el agua contaminada. Los aceites minerales tienden a recubrir las superficies en mayor medida que las grasas, los aceites y los jabones. Las partículas de estos compuestos interfieren en el normal desarrollo de la actividad biológica.</p>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Continuación de la Tabla 3.

Características Químicas	Descripción
Agentes Tensoactivos	Están formados por moléculas de gran tamaño, ligeramente solubles en agua, y que son responsables de la aparición de espumas en las plantas de tratamiento y en la superficie de los cuerpos de agua receptores de los vertidos de aguas contaminadas. Son capaces de disminuir la tensión superficial del agua, como es el caso de los detergentes. Tienden a concentrarse en la interfase aire-agua. Durante el proceso de aireación del agua contaminada se concentran en la superficie de las burbujas de aire creando una espuma muy estable. Debido a que en su composición se encuentran constituyentes a base de fosfato, provocan el aceleramiento de los procesos de eutroficación natural en los cuerpos de agua.
Potencial de Hidrógeno (pH)	Indica la concentración de iones hidrógeno de una muestra de agua. El intervalo de concentraciones adecuado para la adecuada proliferación y desarrollo de la mayor parte de la vida biológica es bastante estrecho y crítico. El ámbito de pH adecuado para la vida acuática es de 6 y de forma general puede estimarse que las aguas de pH superior a 7 (alcalinas) son de origen municipal, y aquellas cuyo valor de pH es inferior a 7 (ácidas) son de origen industrial.
Cloruros	Los cloruros que se encuentran en el agua natural proceden de la disolución de suelos y rocas que los contengan y que están en contacto con el agua. En el caso de las aguas costeras, su presencia también es debida a la intrusión de aguas saladas. Otra fuente de cloruros es la descarga de aguas contaminadas domésticas, agrícolas e industriales a aguas superficiales.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Continuación de la Tabla 3.

Características Químicas	Descripción
Demanda Bioquímica de oxígeno	Se define como la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia orgánica.
Demanda Química de Oxígeno	Se emplea para medir el contenido de materia orgánica tanto de las aguas naturales como de las contaminadas, y la cantidad de oxígeno que se necesita para oxidar los materiales contenidos en el agua.
Metales Pesados	El cadmio, níquel, manganeso, plomo, cromo, zinc, cobre, hierro y mercurio, en ciertas cantidades son necesarios para el crecimiento de organismos, pero rebasando algunos límites, pueden ser tóxicos para la vida en general.

FUENTES: Cajuste y Carrillo, 1992; Ramalho, 1996; Metcalf, 1996; Seoáñez y Angulo, 1999; Crites y Tchobanoglous, 2000; Jiménez, 2002; Seoáñez y Gutiérrez, 1999.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.4.- Características biológicas de las aguas contaminadas.

Los principales grupos de organismos presentes en aguas contaminadas y superficiales se presentan en la Tabla siguiente:

**Tabla 4. Características biológicas de las aguas contaminadas.**

Características Biológicas	Descripción
Organismos coliformes, bacterias, protozoos, virus.	Son de los principales microorganismos que se encuentran en las aguas superficiales y contaminadas, es útil para estimar la presencia de microorganismos patógenos y determinar el proceso de desinfección, así como evaluar la eficiencia del proceso de operación de la planta de tratamiento y reutilización del agua.

FUENTES: 1996; Metcalf, 1996; Seoáñez y Angulo, 1999; Crites y Tchobanoglous, 2000; Jiménez 2002.

### 3.5.- La actividad agrícola como factor de contaminación del agua.

La agricultura es el principal usuario de recursos de agua dulce, ya que utiliza un promedio mundial del 70 por ciento de todos los suministros hídricos superficiales (FAO, 2000). Si se exceptúa el agua perdida mediante evapotranspiración, el agua utilizada en la agricultura se recicla de nuevo en forma de agua superficial y/o subterránea. No obstante, la agricultura es al mismo tiempo causa y víctima de la contaminación de los recursos hídricos. Es causa por la descarga de contaminantes y sedimentos en las aguas superficiales y/o subterráneas, y por la pérdida neta de suelo como resultado de prácticas agrícolas desacertadas y por la salinización y anegamiento de las tierras de regadío. Es víctima, por el uso de aguas superficiales y subterráneas contaminadas, que a su vez contaminan a los cultivos y transmiten enfermedades a los consumidores y trabajadores agrícolas (FAO, 2000).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Además de los problemas de anegamiento, desertificación, salinización, erosión, etc., que repercuten en las superficies regadas, otro efecto ambiental grave es la degradación de la calidad de los recursos hídricos, por efecto de las sales, productos agroquímicos y lixiviados tóxicos. Sólo recientemente se ha reconocido que la salinización de los recursos hídricos es un fenómeno importante y de gran alcance, con efectos quizá todavía más graves para la sostenibilidad del riego que la misma salinización de los suelos. De hecho, sólo en los últimos años se ha hecho patente que los oligoelementos tóxicos, como el Selenio, Molibdeno y Arsénico en las aguas procedentes del drenaje agrícola pueden provocar problemas de contaminación que representan una amenaza para la supervivencia del riego en algunos proyectos. En la Tabla 5, se presentan los principales efectos que ocasiona la actividad agrícola en la calidad del agua para riego (FAO, 2000; Guerrero, 1991).

**Tabla 5. Efectos de las actividades agrícolas en la calidad del agua.**

Actividad Agrícola	Efectos	
	Aguas superficiales	Aguas subterráneas
Labranza/ Arado	Sedimentos/turbidez: los sedimentos transportan fósforos y plaguicidas adsorbidos a las partículas de los sedimentos; entarquinamiento de los lechos de los ríos y pérdida de hábitat, desovaderos, etc.	
Silvicultura	Gran variedad de efectos; escorrentía de sedimentos y contaminación del agua superficial y de los peces; problemas de erosión y sedimentación.	
Aplicación de fertilizantes	Escorrentía de nutrientes, especialmente fósforo y nitrógeno asimilado por las plantas como nitrato que da lugar a la eutrofización y produce mal gusto y olor en el abastecimiento público de agua, crecimiento excesivo de las algas que da lugar a desoxigenación del agua y mortandad de peces	Lixiviación del nitrato hacia las aguas subterráneas; los niveles excesivos representan una amenaza para la salud pública.
Granjas de engorda	Contaminación del agua superficial con numerosos agentes patógenos (bacterias, virus, etc.), lo que da lugar a problemas crónicos de salud pública. Contaminación por metales contenidos en la orina y las heces.	Posible lixiviación de nitrógeno, metales, etc. hacia las aguas subterráneas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Continuación de la Tabla 5.

Actividad Agrícola	Efectos	
	Aguas superficiales	Aguas subterráneas
Aplicación de estiércol	Esta actividad se realiza como medio de aplicación de fertilizantes; si se extiende sobre un terreno congelado provoca en las aguas receptoras elevados niveles de contaminación por agentes patógenos, metales, fósforo y nitrógeno, lo que da lugar a la eutrofización y a una posible contaminación.	Contaminación de las aguas subterráneas, especialmente por el nitrógeno.
Plaguicidas	La escorrentía de plaguicidas da lugar a la contaminación del agua superficial y la biota; disfunción del sistema ecológico en las aguas superficiales por pérdida de los depredadores superiores debido a la inhibición del crecimiento y a los problemas reproductivos; consecuencias negativas en la salud pública debido al consumo de pescado contaminado. Los efectos de los plaguicidas en la calidad del agua y su movimiento a través del suelo están asociados a los siguientes factores: naturaleza del producto, del suelo y al clima. Los plaguicidas también pueden ser trasladados en forma de polvo por el viento hasta distancias muy lejanas.	Algunos plaguicidas pueden lixiviarse en las aguas subterráneas, provocando problemas para la salud humana a través de los pozos contaminados.
Riego	Escorrentía de sales, que da lugar a la salinización de las aguas superficiales; escorrentía de fertilizantes y plaguicidas hacia las aguas superficiales, con efectos ecológicos negativos, bioacumulación en especies ícticas comestibles, etc. Pueden registrarse niveles elevados de oligoelementos, como el selenio, con graves daños ecológicos y posibles efectos en la salud humana.	Enriquecimiento del agua subterránea con sales, nutrientes (especialmente nitrato).
Talas	Erosión de la tierra, lo que da lugar a elevados niveles de turbidez en los ríos, entarquinamiento del hábitat de aguas profundas, etc. Perturbación y cambio del régimen hidrológico, muchas veces con pérdida de cursos de agua perennes; el resultado son problemas de salud pública debido a la pérdida de agua potable.	Perturbación del régimen hidrológico, muchas veces con incremento de la escorrentía superficial y disminución de la alimentación de los acuíferos; influye negativamente en el agua superficial, ya que reduce el caudal durante los periodos secos y concentra los nutrientes y contaminantes en el agua superficial.
Acuicultura	Descarga de plaguicidas (por ejemplo, TBT <sup>1</sup> ) y altos niveles de nutrientes en el agua superficial y subterránea a través de los piensos y las heces, lo que da lugar a fenómenos graves de eutrofización.	

<sup>1</sup> TBT = Tributilestano

FUENTE: FAO, 2000; Guerrero, 1991.

### 3.5.1.- Salinidad del agua como factor de contaminación.

Desde tiempos remotos los agricultores han sabido que las aguas con gran contenido de sales son inadecuadas para las plantas. La salinidad afecta el rendimiento de las cosechas, cada tipo de plantas tiene un grado de tolerancia que puede ser de hasta  $5000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  como se muestra en la Tabla 6.

Tabla. 6. Efecto de la salinidad en las plantas.

SALINIDAD ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ )	EFFECTO DE LA SALINIDAD EN LAS PLANTAS
$<500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	Ningún efecto apreciable.
500-1000	Efectos adversos en cultivos sensibles.
1000-2000	Efectos adversos en la mayoría de los cultivos.
2000-5000	Solo puede utilizarse en plantas tolerantes.

FUENTE Guerrero, 1991.

La salinidad del agua es más agresiva en las regiones áridas y semiáridas que en las húmedas, pues en estas no suele haber acumulación de sales y los efectos nocivos normalmente desaparecen.

Existen dos compuestos que deben tomarse en cuenta, el sodio y los cloruros. El primero puede ser un elemento perjudicial sobre todo en terrenos arcillosos, ya que reduce su permeabilidad; aguas con poca salinidad pero ricas en bicarbonatos pueden acarrear este problema. Los cloruros son particularmente perjudiciales para los plántulos de frutales, aunque inocuos para las demás cosechas (Guerrero, 1991).

Frecuentemente en los suelos regados con aguas contaminadas se encuentran sales de Ca, Mg, Na, K, Cl, S, C y con menor frecuencia, N, I y B (Durán y Hernández, 1992).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Pero desde el punto de vista de la salinización de los suelos, los compuestos que lo salinizan son:  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$  (Cajuste y Carrillo, 1992; Durán y Hernández, 1992).

Las sales más nocivas sobre las plantas, son las que tienen elevada solubilidad, ya que dan lugar a soluciones salinas muy concentradas (Seoánez y Gutiérrez, 1999).

Los efectos directos de las sales sobre las plantas son:

- Aumenta la Presión Osmótica en la solución del suelo por lo que reduce el abastecimiento de agua.
- Reduce la absorción de agua y por lo tanto de nutrientes.
- Retardan o nulifican la germinación.
- Crean antagonismos y toxicidad.
- Alteración de la permeabilidad de la membrana celular (Durán y Hernández, 1992)..

### **3.6. Contaminación del agua por metales pesados.**

Cada vez es más común que las aguas utilizadas para riego presenten un incremento en la concentración de metales pesados, como consecuencia directa de las prácticas agrícolas (aplicación de fertilizantes químicos y orgánicos, plaguicidas, lodos residuales, mejoradores de suelo y el uso cada vez más generalizado de aguas contaminadas con baja o nula depuración), o a través de las deposiciones atmosféricas de contaminantes de origen industrial, combustiones de gasolina, etc. (Cajuste y Carrillo, 1992; Cruz, 1991; Cala, 1995; Avilés, 2000).

Las normas oficiales mexicanas contra la contaminación ambiental (publicadas en el Diario Oficial del 18 de octubre de 1993) consideran metales contaminantes del agua (en

orden de importancia por su abundancia) a: 1. Aluminio 2. Plata 3. Cadmio 4. Arsénico 5. Cobre 6. Fierro 7. Mercurio 8. Cobalto 9. Vanadio 10. Manganeso 11. Níquel 12. Zinc 13. Magnesio 14. Antimonio 15. Cromo 16. Selenio 17. Titanio 18. Berilio 19. Estaño 20. Boro 21. Molibdeno 22. Tungsteno 23. Germanio 24. Bismuto 25. Plomo 26. Telurio.

En la siguiente tabla se mencionan los límites máximos permisibles para metales pesados

Tabla 7. Límites máximos permisibles para metales pesados.

ELEMENTOS PESADOS Medidos de manera total	RÍOS Uso en riego agrícola		EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES Uso en riego agrícola	
	P.M. $\text{mg l}^{-1}$	P.D. $\text{mg l}^{-1}$	P.M. $\text{mg l}^{-1}$	P.D. $\text{mg l}^{-1}$
Arsénico	0.2	0.4	0.2	0.4
Cadmio	0.2	0.4	0.2	0.4
Cobre	4.0	6.0	4.0	6.0
Cromo	1.0	1.5	1.0	0.5
Mercurio	0.01	0.02	0.01	0.02
Níquel	2.0	4.0	2.0	4.0
Plomo	0.5	1.0	0.5	1.0
Zinc	10.0	20.0	10.0	20.0
Cianuro	1.0	3.0	2.0	3.0

P.D.= Promedio Diario

P.M.= Promedio Mensual

FUENTE: Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.6.1- Efectos tóxicos de los metales pesados en las plantas.

A continuación se mencionan algunos de los efectos que provocan los metales pesados en las plantas. al formar parte de las aguas contaminadas, una vez que éstas aguas son empleadas como riego en áreas agrícolas.

Tabla 8. Efecto de los metales pesados en las plantas

ELEMENTO	EFECTOS
Plomo (Pb)	<p>El Pb está considerado como un agente contaminante, ya que no tiene ninguna función específica en los sistemas biológicos.</p> <p>La absorción de Pb por la planta se hace a través de su sistema radicular y de su follaje. Una vez asimilado por la planta el Pb es retenido por los cloroplastos y mitocondrias de la célula, llegando a interferir con el metabolismo del Hierro (Fe).</p>
Cadmio (Cd)	<p>El Cd es en la actualidad es uno de los elementos más tóxicos sobre las plantas, suelo y atmósfera, es muy persistente y tóxico aún en concentraciones muy pequeñas.</p> <p>Las plantas retienen el Cd en sus tejidos, presentándose, la mayor concentración en las raíces que en las partes aéreas de la planta. Los efectos perceptibles de fitotoxicidad del cadmio dependen de la especie de que se trate; algunos de las más comunes son la clorosis que incluye una reducción en el contenido de clorofila, marchitez y, en ocasiones necrosis. Este tipo de efectos se debe principalmente a que las altas concentraciones de Cd inhiben la fotosíntesis y la fijación del bióxido de carbono.</p>

Continuación Tabla 8.

ELEMENTO	EFECTOS
Mercurio (Hg)	<p>El Hg llega al suelo y a las plantas a través de las aguas de riego contaminadas o en forma de polvo del aire o como residuos de pesticidas. El Hg penetra en la planta mediante su sistema radicular o a través del follaje. Los principales síntomas son, impedimento severo en el desarrollo de semilleros y raíces, clorosis de la hoja y apariencia de puntos tostados en la hoja.</p>
Zinc (Zn)	<p>El Zn es absorbido por la planta en su forma catiónica <math>Zn^{++}</math>. En las plantas la falta de este elemento provoca una fuerte reducción del RNA en los vegetales y una acumulación de nitritos, con clorosis intervenal y enanismo.</p> <p>El exceso de Zn que pudiera ser aportado con las aguas contaminadas puede traducirse en desequilibrios nutricionales, provocando, entre otras cosas, bajas en el contenido de fósforo y de hierro en los vegetales y clorosis de tipo férrico. Otras funciones del Zn es la activación de enzimas como son las relacionadas con las síntesis de carbohidratos y también las responsables de las reacciones de deshidrogenación. El Zn es esencial en la síntesis del triptofano, precursor del ácido indolacético que es una importante hormona de crecimiento.</p>
Cromo (Cr)	<p>El Cr se encuentra en los suelos en un rango de 5 a 1000 ppm, bajo condiciones normales, es raro encontrar concentraciones altas de éste elemento tóxico. Por lo general, la contaminación de los suelos con este elemento es consecuencia de las actividades humanas. En las plantas, un exceso provoca clorosis en hojas nuevas y crecimiento deficiente de raíces.</p>

Continuación Tabla 8.

ELEMENTO	EFECTOS
Molibdono (Mo)	El Mo actúa de forma indirecta, pues provoca una inhibición en la absorción de cobre por parte de las plantas, ocasiona la disminución en el crecimiento de raíces, los síntomas más visibles de toxicidad por Mo son, hojas amarillentas a café oscuras, manchas necróticas de un rojo oscuro en hojas viejas, amarillamiento u oscurecimiento de raíces, en general un decaimiento del cultivo.
Arsénico (As)	<p>La mayor parte del As que existe en el agua y en el medio ambiente proviene de la actividad humana, a través de utilizar sus compuestos, arsénico metálico, arsenicales orgánicos, etc. como insecticidas o herbicidas, también se emplean como esterilizantes de suelo.</p> <p>Los síntomas de toxicidad son; manchas necróticas de un rojo oscuro en hojas viejas, amarillamiento u oscurecimiento de raíces, en general un decaimiento del cultivo.</p>
Cobre (Cu)	<p>La deficiencia de Cu se manifiesta con necrosis foliares ápicales o marginales y muerte de brotes. En el déficit de Cu influyen su falta en el suelo, su mala disponibilidad, la interacción con otros elementos y un pH elevado. El exceso de Cu puede manifestarse por una clorosis férrica inducida y por bajas en el crecimiento.</p> <p>Al aplicarse vertidos intensos de aguas contaminadas que puedan tener altas concentraciones de este elemento, el metal se fija y se acumula en los primeros 10 cm del suelo.</p>
Níquel (Ni)	Los síntomas de toxicidad causada por el Ni son clorosis intervenal en hojas jóvenes, hojas verde grisáceo y raíces café y cortas.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Continuación Tabla 8.

ELEMENTO	EFECTOS
Cobalto (Co)	<p>El Co y el níquel son elementos cuyo comportamiento en la naturaleza es semejante. Los síntomas de toxicidad producidos por Co son clorosis intervenal en hojas nuevas, seguida por clorosis inducida por hierro y márgenes y ápices de la hoja blancos, daño en el ápice de la raíz.</p>
Hierro (Fe)	<p>El Fe es absorbido por las raíces de las plantas en forma iónica o como sales orgánicas complejas. Aunque el ion férrico puede ser absorbido por la planta, la forma activa metabólica es el ion ferroso (<math>Fe^{++}</math>).</p> <p>El hierro actúa como microelemento, con efectos normales de exceso o de carencia y como elemento importante en la fijación simbiótica del nitrógeno. Su falta genera inhibiciones de la respiración y problemas bioquímicos complejos en la fotosíntesis. La carencia se manifiesta por amarillo foliar, y suele ser provocada por interacción con otros factores, como el pH del suelo muy alto, el exceso de calcio, el bicarbonato en la solución del suelo o el exceso de aplicación de aguas contaminadas.</p> <p>Los síntomas de exceso son, follaje verde oscuro, limitado crecimiento de las partes aéreas y de raíz, en algunas plantas hojas de café oscuro a púrpura.</p>

FUENTES: Durán y Hernández, 1992; Aviléz, 2000; Cajuste y Carrillo, 1992; Seoáñez y Angulo, 1999; Cruz, 1991; García, 1992; Cala, 1995; Seoáñez y Gutiérrez, 1999.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.7.- Ciclo celular en células meristemáticas.

El ciclo celular comprende un conjunto de procesos que incluyen la síntesis de DNA, el crecimiento y la división celular. Se divide en dos etapas principales llamadas interfase y mitosis. La interfase es la etapa preparatoria para la división celular, en la que existen procesos de síntesis de DNA y crecimiento de la célula. La mitosis es la etapa en que se dan los fenómenos que separan y distribuyen a los cromosomas por igual en dos células hijas (Klug y Cummings, 1999; Gardner, et al. 1998; Griffiths, et al. 2000).

La interfase es la primera etapa del ciclo celular comprendida entre dos divisiones celulares; en ella el material genético está contenido dentro de la envoltura nuclear de una forma muy extendida y atenuada (Klug y Cummings, 1999; Griffiths, et al. 2000).

La interfase se divide en tres fases que son nombradas G1, S y G2 (Figura 1). En la fase G1, el núcleo contiene la cantidad somática normal de DNA y hay síntesis de proteínas y RNA. Esta fase es considerada como preparatoria para la fase S, por lo que en ella se deben sintetizar los nucleótidos para la duplicación de DNA, así como los aminoácidos para proteínas, principalmente para las histonas (Klug y Cummings, 1999; Gardner, et al. 1998).

Durante la fase S o de síntesis, se lleva a cabo la duplicación del DNA. También hay síntesis de proteínas nucleares que son las histonas, que se unen firmemente al DNA (Klug y Cummings, 1999; Gardner, et al. 1998; Griffiths, et al. 2000).

La fase G2 se inicia después de finalizar la duplicación; se caracteriza porque hay síntesis de proteínas necesarias para la formación del huso mitótico y, también, hay más síntesis de RNA (Klug y Cummings, 1999; Gardner, et al. 1998).

Después de terminada la interfase la célula inicia otra etapa del ciclo celular, la mitosis, que es el proceso por el cual se separan y distribuyen los cromosomas, previamente

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

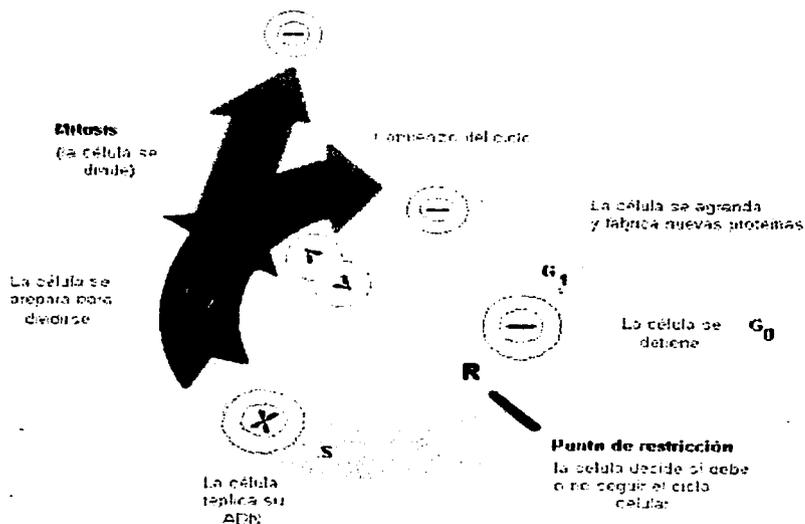


Figura 1. Ciclo Celular

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

replicados, por igual en dos células hijas, así como una reordenación de los organelos celulares (Klug y Cummings, 1999; Gardner, et al., 1998; Griffiths, et al., 2000).

La duración del ciclo celular es variable, se reporta que para células vegetales varía de 16 a 24 horas dependiendo, principalmente, de la temperatura y de la duración de la fase G1 (Curtis, 1986).

Muchas células no cumplen con todos los pasos anteriores, ya que de la fase G1 pueden pasar a otra fase llamada G0, en donde las células permanecen viables y activas metabólicamente, pero no se dividen y llevan a cabo la diferenciación celular (Klug y Cummings, 1999; Griffiths, et al., 2000).

### **3.8.- División celular en células meristemáticas.**

La mitosis es el proceso de división nuclear fundamental en el cual una célula se divide para dar origen a dos células hijas con información genética idéntica (Singer, 1993; Savin, 1993).

Para facilitar su estudio se ha dividido en cuatro fases que son nombradas profase, metafase, anafase y telofase.

La profase es la primera fase de la mitosis (Figura 2); en ella, la membrana nuclear y el nucléolo desaparecen progresivamente; la célula se redondea, si tiene prolongaciones las retrae. Pierde agua, por lo que el citoplasma se hace más viscoso simultáneamente; los filamentos de cromatina se condensan de manera que los cromosomas se hacen más cortos, gruesos y rígidos, notándose que están formados por dos unidades longitudinales llamadas cromátidas los cuales están unidas en un punto específico de su longitud, conocido como centrómero, paralelamente a estos fenómenos se forman las fibras del huso mitótico que van de polo a polo en la célula vegetal (Singer, 1993; Savin, 1993; Griffiths, et al., 2000).

La metafase (Figura 2) es una fase corta y rápida donde los cromosomas ya bien organizados se mueven al centro de la célula y se acomodan en la parte central del huso mitótico y cada uno de ellos se relaciona con una de las fibras del mismo. Esta relación se establece por medio del centrómero que posee cada cromosoma (Singer, 1993; Savin, 1993; Griffiths, et al, 2000).

La anafase (Figura 2) se caracteriza porque las cromátidas que forman cada cromosoma se separan dirigiéndose cada una a polos opuestos. Esta empieza bruscamente cuando se separan los cinetocoros apareados de cada cromosoma, permitiendo que cada cromátida sea arrastrada lentamente hacia un polo del huso. Todas las cromátidas se desplazan hacia el polo correspondiente a la misma velocidad; durante estos movimientos anafásicos, las fibras cinetocóricas se acortan a medida que los cromosomas se acercan a los polos. Casi al mismo momento, las fibras del huso se alargan y los polos del huso polar se separan aún más (Singer, 1993; Savin, 1993; Curtis, 1986; Griffiths, et al, 2000).

En la telofase (Figura 2) ocurre el proceso inverso al que se efectúa en la profase; desaparecen las fibras del huso mitótico y cuando las cromátidas separadas llegan a los polos se regeneran los núcleos hijos con sus membranas nucleares y nucleolos, los cromosomas se alargan y vuelven a su forma de filamentos de cromatina. Simultáneamente la célula se divide formando una placa de celulosa en el centro o plano ecuatorial de ésta y en cuanto termina de formarse dicha pared, cada mitad se separa constituyéndose como una nueva célula (Singer, 1993; Savin, 1993; Griffiths, et al, 2000).

La duración de la mitosis así como de sus fases varía según las condiciones ambientales y de la célula vegetal que se trate. El tiempo total para que se complete la mitosis puede variar desde 5 a 10 minutos hasta varias horas. Los valores promedio oscilan entre 30 minutos y 2-3 horas a una temperatura de 26 °C. Por ejemplo en las células meristemáticas

del ápice de raíz de haba (*Vicia faba* L.) la profase dura aproximadamente 95 minutos, la metafase 35 minutos, la anafase 23 minutos y telofase 27 minutos (Curtis, 1986).

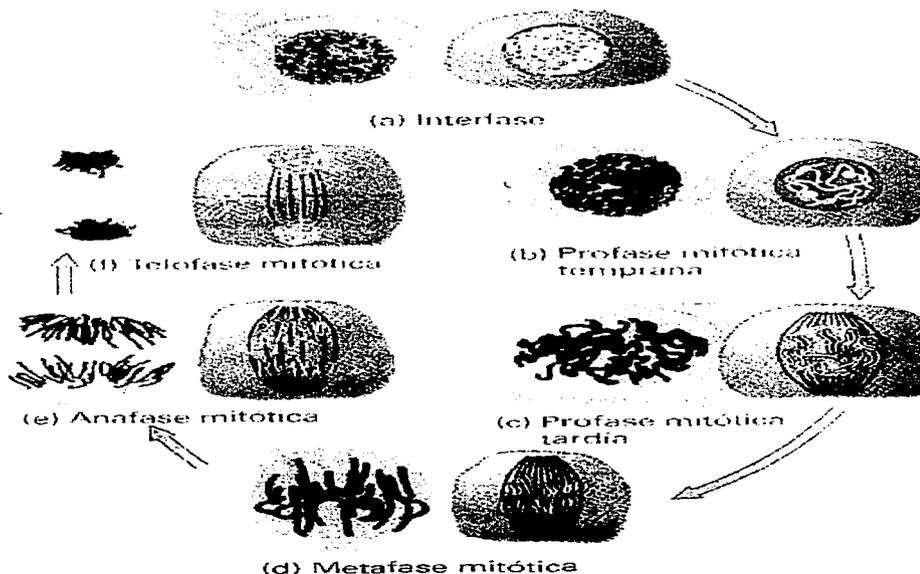


Figura 2. Fases de la mitosis en células vegetales.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.9. Importancia de la evaluación genotóxica.

El problema de la exposición de las plantas a aguas contaminadas de riego ha dado lugar a un interés creciente en el desarrollo de metodologías que permiten detectar los posibles efectos tóxicos de los compuestos químicos presentes en dichas aguas. Entre los impactos más frecuentes que pueden tener las aguas contaminadas es la de presentar sustancias de acción mutagénica en las plantas, para lo cual la toxicología genética permite comprender los mecanismos de acción de los agentes que inducen toxicidad y estimar el riesgo al que están expuestas las plantas y organismos vivos en general, cuando están en contacto con ellos (Grant, 1994; Ma, et al., 1997; Restrepo, 1992).

Las respuestas celulares a cualquier tipo de exposición pueden determinarse y ser evaluadas utilizando diferentes metodologías genotóxicas (Orozco, 1999).

Los agentes genotóxicos son sustancias que afectan principalmente el material genético de las células, con propiedades físicas y químicas que les permiten interactuar directa o indirectamente con los ácidos nucleicos y que poseen por lo tanto, actividad mutagénica (Guillén, 2000)

Los estudios para detectar el potencial genotóxico de una sustancia se pueden realizar tanto en células somáticas como germinales (Lu, 1992; Sawger, 1994). Se pueden utilizar como bioindicadores a las plantas que son excelentes para la detección de agentes contaminantes ambientales, entre las más utilizadas están la cebolla (*Allium cepa*), haba (*Vicia faba* L.) y la tradescantia (*Tradescantia* spp), ya que son muy sensibles a la presencia de los agentes contaminantes. Además estos estudios son simples, confiables y recomendables para un constante monitoreo ambiental, ya que constituyen una primera alerta a la presencia de agentes potenciales mutagénos en el agua, suelo y aire (Grover y Satwinderjeet, 1999; Gopalan, 1999; Grant, 1994; Ma, et al., 1997). Este tipo de pruebas

permiten determinar el daño a nivel de mutaciones génicas y cromosómicas en plantas superiores (Mohammed y Ma, 1999; Grant, 1994; Ma, et al., 1997).

En la actualidad se han desarrollado más de 200 pruebas de bioensayo para detectar y evaluar la genotoxicidad (Grover y Satwinderjeet, 1999).

La prueba seleccionada para el presente trabajo es de micronúcleos que permite detectar alteraciones a nivel de cromosoma. La formación de micronúcleos es uno de los procesos inducidos por la interacción de los agentes genotóxicos con las moléculas de DNA (Evans, 1997).

### **3.10- Definición e importancia de la prueba de micronúcleos.**

Para identificar el potencial genotóxico y cuantificar el daño que pueden ocasionar diversos agentes mutágenos se ha utilizado la prueba de micronúcleos, que es considerada como una técnica de alta resolución sencilla, rápida, confiable, económica y de gran sensibilidad a la presencia de mutágenos (Rizzoni, et al., 1987; Gustavino, et al., 1987; Evans, 1997).

Los micronúcleos son corpúsculos intracitoplasmáticos de cromatina separados del núcleo principal que se producen por la ruptura de fragmentos cromosómicos acéntricos o de cromosomas completos que sufren un rezago anafásico durante la división celular, originados de forma espontánea o inducida (Chauhan, et al., 1986; Gustavino, et al., 1987; Ma, et al., 1995; Ji, et al., 1999; Evans 1997).

Los micronúcleos son cuerpos redondos y su diámetro no debe exceder 1/3 del tamaño del núcleo principal, se deben localizar dentro de la membrana celular (en el citoplasma) y alrededor del núcleo principal (De Marco, et al., 1988).

La prueba se utiliza para evaluar el efecto mutagénico en diferentes tipos de células como linfocitos humanos, eritrocitos de ratones y hámster chino, y en vegetales empleando

células meristemáticas del ápice de raíz. Según Ma, et al (1995) la prueba de micronúcleos, utilizando como biomonitores *Allium cepa* y *Vicia faba*, se viene efectuando desde 1930, y en 1976 se aplicó la prueba usando *Tradescantia* sp. Aplicando la técnica en estos sistemas vegetales, se ha podido evaluar la genotoxicidad de diversas sustancias químicas en diferentes medios sólidos y acuosos, en exposiciones a diferentes tiempos y concentraciones, y tanto en condiciones de laboratorio o in situ (Grant, 1994; Ma, et al, 1997; Evans, 1997; Ji, et al, 1999; Cotelle, et al, 1999)

Se ha encontrado que la presencia de micronúcleos se incrementa conforme aumenta la concentración del agente genotóxico (Chauhan, et al, 1986; Evans, 1997), y además la posibilidad de sobrevivencia de los micronúcleos parece depender de la información genética que contienen (Gustavino, et al, 1987).

Existe un programa para el monitoreo ambiental denominado International Programme on Plant Bioassays (PIB) que fue creado para el monitoreo y observación de agentes genotóxicos en un ambiente contaminado, realizando una inspección de la genotoxicidad de contaminantes presentes en aire, agua y suelo, utilizando la prueba de micronúcleos en cualquiera de los sistemas vegetales antes mencionados (Grover y Satwinderjeet, 1999).

En la República Popular China, desde el año de 1980, se ha establecido la prueba de micronúcleos como bioensayo oficial de genotoxicidad de contaminantes en aire, agua y suelo (Gopalan, 1999; Ma, et al, 1997). También la prueba se esta utilizando para medir la genotoxicidad en organismos expuestos a mezclas de compuestos químicos, o por agentes físicos como la radiación de rayos ultravioleta, además se utiliza para detectar genotoxicidad de metales pesados en el ambiente, ríos y suelos contaminados (Minissi y Lombi, 1997; Wang, 1999; Grant, 1994; Ma, et al, 1997).

### 3.11.- El haba (*Vicia faba* L.) como material biológico.

Más de una tercera parte de los estudios con plantas, para el análisis de daños cromosómicos, usa el haba (*Vicia faba* L.) como biomonitor citogenético para evaluar mutágenos ambientales (Ma, et al., 1995).

*Vicia faba* es un sistema vegetal muy útil para la detección de la actividad genotóxica de los contaminantes ambientales, esto por las siguientes características que presenta:

- Es un sistema barato, de fácil manejo y no requiere equipo sofisticado.
- Los meristemos de su raíz contienen células en diversas etapas de la mitosis, principalmente de la metafase que es la más utilizada en el estudio citogenético.
- *Vicia faba* presenta un ciclo celular corto, el cual dura 19.3 horas a 19 °C.
- El hecho de tener pocos cromosomas ( $2n = 12$ ) y ser muy grandes, lo hace un material excelente para la observación de los efectos mutagénicos de los agentes tóxicos.
- Posee una fracción metabólica enzimática denominada S10 que es capaz de transformar promutágenos, aspecto relevante ya que muchos agentes químicos que no son mutágenos por sí mismos requieren de este tipo de metabolismo vegetal para activarse y provocar daños al DNA. (Ma, et al., 1995; Grant, 1997; Gómez y Villalobos, 1997; Gómez, et al., 1997).

## **4.- MATERIALES Y METODOS**

### **4.1. Sitio de muestreo.**

El sitio se localiza en el municipio de León, Guanajuato, en la localidad de Plan de Ayala (Santa Rosa), en las coordenadas 21° 07' latitud norte y 101° 41' longitud oeste, a una altitud de 1800 msnm, con un clima semiárido, una temperatura media anual de 18-20 °C y una precipitación media anual de 600-700 mm (INEGI, 2001).

Los cultivos que se producen en esta localidad son maíz, alfalfa y trigo (Trujillo, 2002).

Las muestras de agua se tomaron de los canales de riego que pasan por la localidad. El muestreo fue de tipo simple, colectándose 20 litros de agua contaminada a mitad de la profundidad del canal en recipientes de plástico de polietileno, la toma de muestras se realizó en un solo punto y con un mínimo de turbulencia aproximadamente a las 7 de la mañana y allí mismo se realizaron las disoluciones a 10 %, 25 % y 50 %, e inmediatamente se trasladaron a las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

### **4.2.- Sitio de la experimentación.**

La parte experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica, Fisiología y Genética Vegetal de la carrera de Ingeniero Agrícola en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

### **4.3.- Material biológico.**

El material biológico que se utilizó como sistema de prueba fueron los ápices de raíz de haba (*Vicia faba* L.), los cuales se cultivaron en condiciones de laboratorio.

#### 4.4.- Materiales y reactivos.

Se probaron 4 diferentes concentraciones con las muestras de agua, que fueron al 10 %, 25 %, 50 % (v/v con agua destilada) y al 100 %, además se incluyó un control negativo (agua destilada).

- Cajas de Petri.
- Vermiculita como sustrato para la germinación de semillas.
- Tubos de ensayo de 10 ml.
- Vasos de precipitado de 100, 500 y 1000 ml.
- Pipetas graduadas de 0.5, 1 y 5 ml.
- Vidrios de reloj.
- Agujas de disección.
- Navajas esterilizadas.
- Estufa.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Microscopio óptico.
- Agua destilada.
- Cloro.
- Tween 20.
- Solución de etanol -ácido acético (3:1).
- Etanol 70 %.
- Solución tampón -citrate pH = 4.2
- Enzima pectinaza al 0.5 %.
- Ácido clorhídrico 5 N.

- Colorante aceto-orceína.
- Papel secante.

#### **4.5.- Metodología.**

**A)** Se seleccionaron semillas de haba que no presentarán daños visibles y que tuvieran un tamaño y textura homogénea. Posteriormente se desinfectaron colocándolas en 400 ml de agua destilada con 46 ml de cloro y 7 gotas de Tween 20 y se agitaron durante 20 minutos.

**B)** Las semillas desinfectadas se sumergieron durante 24 horas en los tratamientos que consistieron en concentraciones de 10 %, 25 %, 50 % y 100 % y el testigo que fue con agua destilada. Esto fue con la finalidad de que las semillas imbibieran la mayor cantidad posible de las soluciones y se agilizará la germinación de las mismas.

**C)** Las semillas se sembraron en cajas de Petri, utilizando como sustrato vermiculita que tiene como característica una buena aireación, retención y disponibilidad de humedad para las semillas y una baja densidad con un pH cercano al neutro.

**D)** Las semillas se mantuvieron en condiciones de temperatura ambiente hasta que sus raíces tuvieran una longitud de 2 a 3 cm, procediendo a cortar los ápices de una longitud aproximada de 2 mm. Los ápices se fijaron en una solución de etanol-ácido acético en proporción 3:1, durante 24 horas.

**E)** Los ápices ya fijados se transfirieron a una solución de etanol al 70% durante 15 minutos.

**F)** Los ápices se lavaron con una solución tampón citrato con un pH de 4.2.

**G)** Se incubaron en pectinasa 0.5% durante una hora a 37 °C.

**H)** Los ápices de haba se dejaron en HCl 5N durante 10 minutos a temperatura ambiente.

**I)** Se efectuó la maceración de los ápices usando agujas de disección.

**J)** Se colocó una gota de colorante aceto-orceina, se dejó secar al aire y se quitó el exceso con el papel secante.

**K)** Se colocó un cubre objetos y se realizó el fijado del material aplicando la técnica "squash".

**L)** Se observaron las preparaciones al microscopio óptico con un aumento de 40 X.

#### **4.6.- Diseño experimental.**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un total de 5 tratamientos y 5 repeticiones, para un total de 25 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió de una laminilla que contenía las células meristemáticas de raíz de haba. Los parámetros a evaluar fueron la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico.

#### **4.7.- Análisis estadístico.**

Se utilizó el programa estadístico INSTAT2 versión 2.03. Para evaluar la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico se efectuó primeramente un análisis de varianza con la finalidad de determinar la significancia estadística entre los tratamientos evaluados y a continuación se compararon los tratamientos por medio de la prueba de significancia de Tukey-Kramer. Se manejó un nivel de probabilidad de error de 0.05 y 0.01 para establecer niveles significativos de confiabilidad tanto en el análisis de varianza como en la prueba de Tukey-Kramer.

#### **4.8.- Análisis citogenético.**

Para la determinación de la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico, por cada repetición se contaron 1000 células, resultando un total de 5000 células por tratamiento, contando el número de células que presentaron micronúcleos o alguna fase mitótica.

#### **4.9.- Criterios para seleccionar células micronucleadas.**

1. Que las preparaciones presentaran buena tinción.
2. Los micronúcleos debían distinguirse como corpúsculos circulares bien definidos, con una coloración roja característica.
3. Los micronúcleos no deberían exceder de  $1/3$  del diámetro del núcleo principal y que estuvieran localizados en el citoplasma circundante al núcleo principal.
4. Los micronúcleos no debían mostrar refractibilidad, es decir, al momento de mover el micrométrico del microscopio el objeto no debía desaparecer o pasar a otro plano, ya que si esto se presentaba, entonces se excluía como micronúcleo.

## 5.- RESULTADOS.

A los resultados obtenidos de la frecuencia de micronúcleos e índice mitótico, primeramente, se les realizó el análisis de varianza para determinar el grado de significancia entre los tratamientos evaluados, obteniéndose una diferencia altamente significativa en ambos parámetros estudiados (Tablas 9 y 10).

Tabla 9. Análisis de varianza para la frecuencia de micronúcleos.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
Tratamientos	4	3828.8	957.20
Error	20	289.2	14.460
Total	24	4118.0	

$F=66.196$

Tabla 10. Análisis de varianza para la frecuencia de índice mitótico.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
Tratamientos	4	5020.6	1255.1
Error	20	2793.6	139.68
Total	24	7814.2	

$F=8.986$

Posteriormente, se efectuó la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para conocer la diferencia estadística entre los tratamientos evaluados.

Los resultados obtenidos para la frecuencia de micronúcleos, en los diferentes tratamientos estudiados, se muestran en la Tabla 11 y Figura 3, en donde se puede observar que existe una proporción lineal de dosis-efecto, es decir, conforme aumenta la concentración de contaminantes en el agua crece el número de micronúcleos en las células

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

meristemáticas de raíz de haba, siendo el tratamiento al 100% el que presentó mayor número de células micronucleadas (Figura 5). Comparando al testigo o control negativo con respecto a todos los tratamientos, existe una diferencia estadística altamente significativa, indicando que los contaminantes presentes en las diferentes concentraciones, actúan como agentes genotóxicos en las células. También, comparando entre sí a los tratamientos con las diferentes concentraciones, en la mayoría de ellos se presentó una diferencia estadística altamente significativa, a excepción de la concentración del 50 % que no manifestó una diferencia estadística comparado con las concentraciones de 25 y 100 %.

Por otra parte, se observó que todas las concentraciones de los contaminantes no son tóxicas a las células, ya que no se presentó alguna alteración observable en éstas.

Con respecto al índice mitótico, los resultados mostrados en la Tabla 12 y Figura 4, indican que comparando el tratamiento del 10 % con el testigo, no presentan diferencia estadística; pero comparando al testigo con los tratamientos de 25 y 50 %, los resultados señalan que sí existió una diferencia estadística significativa y con el tratamiento al 100 % fue una diferencia estadística altamente significativa, lo que manifiesta que conforme aumenta la concentración de contaminantes va incrementando la alteración sobre la división mitótica de las células de haba (Figuras 6, 7, 8 y 9).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla II. Frecuencia de micronúcleos en los diferentes tratamientos evaluados.

Tratamiento	Repeticiones					Total	Promedio	Desviación estándar
	I	II	III	IV	V			
Testigo	3	0	1	1	0	5	1	1.22
10 %	16	17	15	19	24	91	18.2	3.56
25 %	21	24	25	27	32	129	25.8	4.08
50 %	27	31	30	33	38	159	31.8	4.08
100 %	29	37	34	39	42	181	36.2	4.97

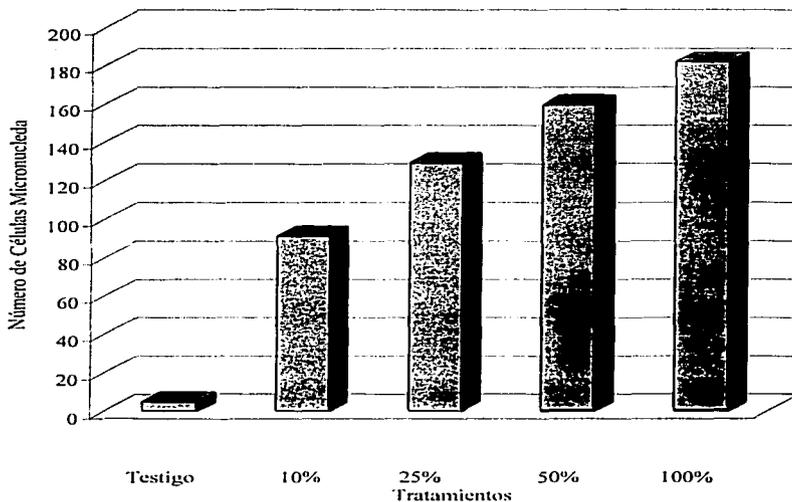


Figura 3. Frecuencia de micronúcleos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. Frecuencia del índice mitótico en los diferentes tratamientos evaluados.

Tratamiento	Repeticiones					Total	Promedio	Desviación estándar
	I	II	III	IV	V			
Testigo	99	81	111	97	88	476	95.2	11.41
10 %	93	90	83	87	78	431	86.2	5.89
25 %	81	82	72	61	57	353	70.6	11.37
50 %	54	58	86	40	82	320	64.0	19.49
100 %	53	60	63	57	51	284	56.8	4.91

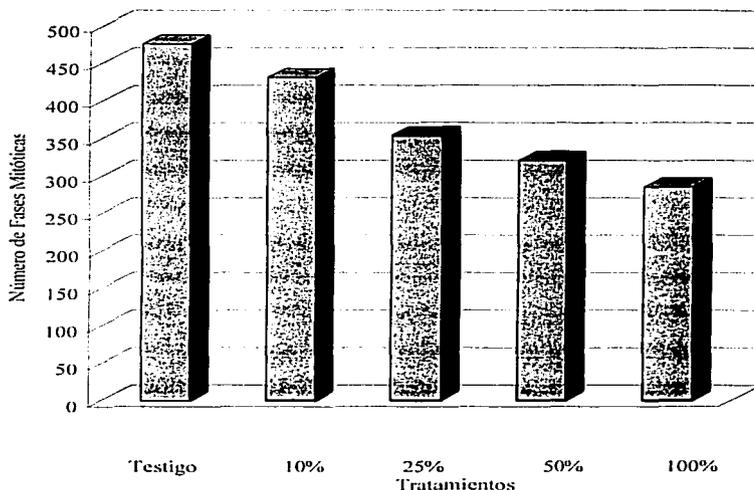


Figura 4. Frecuencia del índice mitótico

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

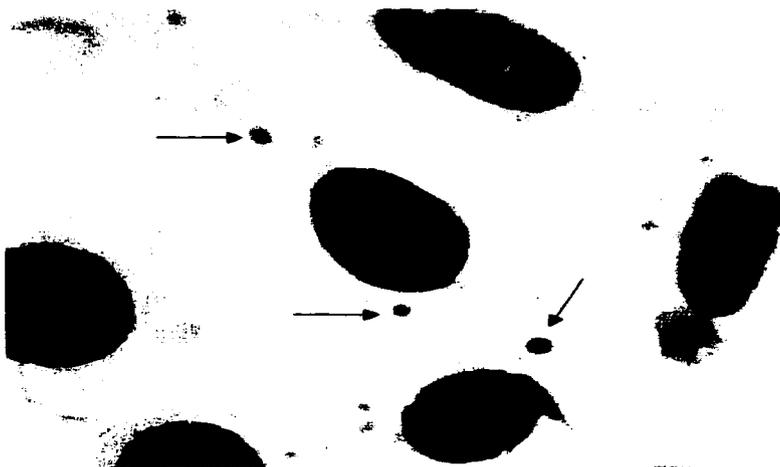


Figura 5. Células de haba (*Vicia faba* L.) con presencia de micronúcleos.

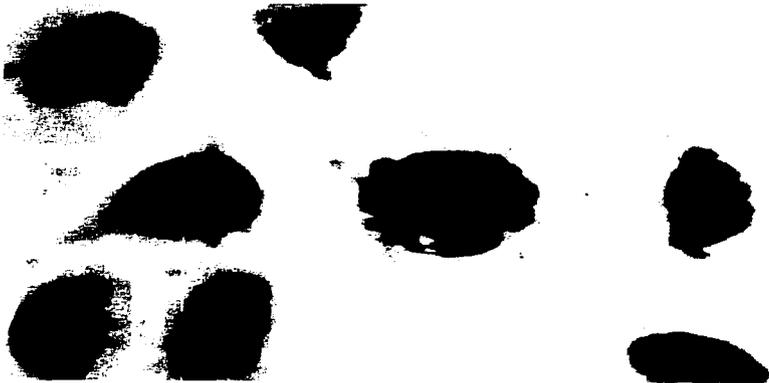


Figura 6. Célula de haba (*Vicia faba* L.) en profase.



Figura 7. Célula de haba (*Vicia faba* L.) en metafase.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Figura 8. Célula de haba (*Vicia faba* L.) en anafase.



Figura 9. Célula de haba (*Vicia faba* L.) en telofase.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 6.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que, empleando una metodología sencilla como es la prueba de micronúcleos y usando como biomonitor células ápicales de raíz de haba, resultan muy eficientes para determinar el daño clastogénico ocasionado por las aguas residuales provenientes de la ciudad de León (que principalmente incluyen aguas residuales de curtidurías) y que son usadas para el riego en el Valle de León, Guanajuato. Esto coincide con los reportes de diversos autores (Grover y Satwinderjeet, 1999; Miao, et al., 1999; Ji, et al., 1999; Duan, et al., 1999; Yang et al., 1999; Jiang, et al., 1999; Steinkellner, et al., 1999; Ruíz, et al., 1992), quienes utilizando diferentes sistemas vegetales, establecen un efecto genotóxico de aguas contaminadas provenientes de actividades domésticas, industriales, de minería y de plantas químicas, ya que inducen una elevada presencia de micronúcleos y aberraciones cromosómicas.

Los resultados, de este trabajo, indican que la presencia, de compuestos químicos, en los diferentes tratamientos es proporcional a la clastogenicidad que pueden tener en las células de haba, la cual concuerda con los trabajos de otros investigadores como Miao, et al., 1999 y Ji, et al., 1999.

En este estudio se considera que el efecto genotóxico de las aguas contaminadas depende principalmente de su composición fisicoquímica, de las interacciones con el ambiente y de la posibilidad de su biotransformación, lo cual concuerda con otros trabajos realizados por López, 1999 y Moreton, 1999).

Por otra parte, en las aguas residuales de tenería, se ha encontrado que éstas contienen cantidades de nutrientes útiles para el desarrollo de las plantas, pero además contienen otras sustancias que pueden contrarrestar este efecto aparentemente positivo (Trujillo, 2002; Armienta, et al., 2001) y por tanto, se considera que podrían llegar a ocasionar un daño genotóxico a las células vegetales.

Para la realización del presente trabajo no se encontraron estudios específicos en donde se mencionen las características fisicoquímicas y biológicas de las aguas residuales provenientes de la ciudad de León, y que sirvieran de apoyo para explicar que compuestos químicos por sí solos o combinados, presentes en estas aguas, poseen una capacidad genotóxica como se encontró en las células de haba; pero existen antecedentes de que cuando existen concentraciones elevadas de nitratos, cloruros, hidrocarburos, detergentes, pesticidas y metales pesados (principalmente Pb, Cr (VI), Cd, Hg), estas aguas pueden tener un efecto genotóxico en células vegetales y en diferentes sistemas biológicos (Armienta, et al, 2001; Trujillo, 2002; Ramos, 2001; Moreton, 1999; López, 1999; Yang, et al, 1999; Steinkellner, et al, 1999).

Posiblemente, el mecanismo de acción de estos compuestos, dentro de la célula, es que sean activados por las enzimas metabólicas (fracción S10), presentando a continuación una interacción con el DNA, propiciando la ruptura de las cadenas de esta molécula, dando origen a los micronúcleos, de manera tal que el daño genético inicial se fijará expresándose en las siguientes generaciones celulares.

Con respecto a la frecuencia del índice mitótico, los resultados señalan que existe una relación inversamente proporcional, es decir, el índice mitótico disminuye conforme aumenta la concentración de los contaminantes, inclusive en la concentración del 10%, que a pesar de que no presentó una diferencia estadística comparado con el testigo, si disminuyó el número de células mitóticas. Una explicación a estos resultados es que conforme se aumentara la concentración de los compuestos químicos tendría que disminuir el número de células que presentarían alguna fase de la mitosis, lo que se traduce en un cierto grado de citotoxicidad. Esto, tal vez, es debido de manera parecida a lo mencionado anteriormente, es decir, las sustancias presentes en este tipo de aguas tienen un mecanismo de acción dentro de la célula en donde pueden ser reactivadas

metabólicamente por las enzimas de la fracción S10, presentándose a continuación la interacción con las cadenas del DNA, ocasionando que se detenga la división celular, y podría ser que el DNA ya no es reparado dando como resultado que vaya disminuyendo el número de células que presentan alguna fase mitótica.

## 7.- CONCLUSIONES.

- Las muestras de agua estudiadas, en diferentes concentraciones, son inductoras de células micronucleadas, manifestando un efecto clastogénico.
- La actividad genotóxica, de los contaminantes presentes en estas muestras, para la frecuencia de micronúcleos muestra un efecto dosis-respuesta con las concentraciones estudiadas.
- La concentración, de los contaminantes, presente en los diferentes tratamientos altera el índice mitótico de las células meristemáticas de raíz de haba, ocasionando que la mayoría de las células no continúen con la división celular.
- Todas las concentraciones de los contaminantes, en las diferentes muestras de agua, presentan una relación inversa-dependiente para la frecuencia del índice mitótico.
- El uso agrícola de las aguas contaminadas sin tratar, constituidas principalmente por afluentes de curtidurías, es un riesgo genotóxico potencial para las plantas cultivadas.

## 8.- RECOMENDACIONES.

- Por la importancia de los resultados obtenidos, es necesario que se realicen nuevas investigaciones para identificar que compuestos químicos están presentes en este tipo de aguas y las concentraciones en que se encuentran, para que, posteriormente, se investigue que compuestos químicos por sí solos o combinados tengan una capacidad genotóxica y, además, inhiban la división celular en células vegetales.
- En base a los resultados que se obtengan de la investigación de los compuestos que constituyen estas aguas, se determinará el método o sistema para el tratamiento de las mismas, ya que debe ser necesario su tratamiento antes de la reutilización como agua de riego.

## 9.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Armienta, M. A. et al. 2001. Chromium in a Tannery Wasterwater Irrigated Area, León Valley, México. *Bull Environmental Contamination and Toxicology* 66: 189- 195.
2. Aviléz, H. G.. 2000. Identificación de especies vegetales con capacidad para remover metales pesados en suelos contaminados. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 5-31
3. Bekaert, C. et al. 1997. Evaluation of genotoxicity at a tannery waste site using EROD, DNA adduct and micronuclei biomarkers on larvae of the amphibian xenopus complements physico-chemical analyses. *Mutation Research* 379(1), Supplement 1, page S103.
4. BGS. 1994. Effects of wastewater reuse on urban groundwater resources. León, México. Phase I Report. Preparado por: Comission of the European Community-Overseas Development Administration; British Geological Survey; Comisión Nacional del Agua y Universidad Nacional Autónoma de Chihuahua.
5. Cala, R. V. 1995. Dinámica de metales pesados en suelos. Instituto Tecnológico Geominero de España, Madrid. pp: 49-75
6. Cajuste, L. J. y Carrillo, G. R. 1992. Estudio de metales pesados en agua, suelo y plantas en el Valle del Mezquital y su incidencia en la cadena alimenticia en la región del estado de Hidalgo. Colegio de Postgraduados. Montecillos México. pp: 16-45

7. Castro de Esparza, M. L. y Flórez, M. A. 1993. Evaluación de riesgos para la salud por el uso de las aguas residuales en agricultura. Aspectos toxicológicos. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Lima, Perú. pp: 1-7.
8. Cerna, M. et al. 1997. Mutagenicity monitoring and chemical analysis of river waters and their fractions. *Mutation Research* 379 (1), Supplement 1, page S101.
9. Chauhan, L. K. S, et al., 1986. Effect of deltamethrin on plan cells. Cytological effects on the root meristems of *Allium cepa*. *Mutation Research* 171: 25-30.
10. Comisión Nacional de Agua. 1990. Manual técnico para el uso, aprovechamiento y manejo de aguas residuales en riego agrícola. pp: 3-10
11. Cotelle, S. et al. 1999. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia* micronucleus and the *Tradescantia* micronucleus assays. *Mutation Research* 426:167-171
12. Crites, R. y Tehobanoglous, G. G. 2000. Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. McGraw-Hill, Colombia. pp: 21-105
13. Cruz, C. J. I. 1991. Contaminación por metales pesados en cultivos regados con aguas de río Lerma, En la región de Salamanca, Guanajuato. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. México. pp: 4-40

14. Curtis, P. J. 1986. Introducción a la citología vegetal. Depto. de Fitotecnia, UACH. Patena. Chapingo, México. pp: 115-123.
15. De Marco, A. et al. 1988. Induction of micronuclei in *Vicia faba* root tips treated with heavy metals (cadmium and chromium) in the presence of NTA. Mutation Research 206: 311-315.
16. Duan, Ch. et al. 1999. Genotoxicity of water samples from Dianchi; lake detected the *Vicia faba* micronucleus test. Mutation Research 426 (2): 121-125.
17. Durán, C. R. y Hernández G. R.. 1992. Efecto de las Aguas residuales en la agricultura (con énfasis a la horticultura). Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 83-103.
18. Evans, J. H. 1997. Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleus test: a personal view. Mutation Research 392: 5-10.
19. FAO. 2000. Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos (estudio FAO riego y drenaje). <http://fao.org/docrep/w25985/w25985s00.htm#contels>
20. García, I. y Dorronsoro, C. 1999. Contaminación del suelo e impacto ambiental. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Granada, Granada, España. <http://edafologia.urg.es/Index.html>.

21. García, M. M. del R. 1992. Contaminantes tóxicos prioritarios en agua. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 1992. pp: 70-101.
22. Gardner, E. J. et al. 1998. Principios de Genética. 4ª edición. Uteha-Noriega Editores. México. pp: 54-57.
23. Gómez, A. S., et al. 1997. Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* induced by arsenic contaminated drinking water from Zimapan, Hidalgo, México. Mutation Research 394 (1): 1-7.
24. Gómez, A.S. y Villalobos, P. R. 1997. El intercambio de cromátidas hermanas en *Vicia faba* como monitor genético de contaminantes ambientales. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Genética. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California Norte, México.
25. Gopalan, H. N. B. 1999. Ecosystem health and human well being: The mission of the International Programme on Plant Bioassays. Mutation Resarch 426 (2): 99-102.
26. Grant, W. F. 1994. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. Mutation Research. 310 (2): 175-185.
27. Griffiths, A. J. F., et al. 2000. Genética moderna. McGraw Hill-Interamericana. Madrid, España. pp: 92-96.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

28. Grover, I. S. y Satwinderjeet, K. 1999. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutation Research*. 426 (2): 183-188.
29. Guerrero, L. M.: 1991. El agua. Fondo de Cultura Económica, México. pp: 61-87.
30. Guillén, A. O. H. 2000. Apuntes de Citogenética. Ingeniería Agrícola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
31. Gustavino, B. et al. 1987. A comparison between short-term evolution of micronuclei induced by X-rays and colchicine in root tips of *Vicia faba*. *Mutation Research* 192: 109-119.
32. INEGI, 2001. <http://www.inegi.gob.mx>
33. Jiang, Y. G. et al. 1999. Genotoxicity of water samples from the scenic Lijang river in the Guilin area, China, evaluated by *Tradescantia* bioassays. *Mutation Research* 426 (2): 137-141.
34. Ji, Q. et al. 1999. *Vicia* root-micronuclei assays on the clastogenicity of water samples from the Kui River near Xuzhou city, People's Republic of China. *Mutation Research* 426 (2): 133-135.
35. Jiménez, C. B. 2002. La contaminación ambiental en México. Limusa, México. pp: 40-147.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

36. Klug, W. S. y Cummings, M. R. 1999. *Conceptos de Genética*. 5ª edición. Prentice Hall. Madrid, España. pp: 25-27.
37. López, L. Ch. 1999. Alteraciones en carga genotóxica de residuos peligrosos durante procesos de saneamiento. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. <http://www.rcc.uba.ar/jornadas/html/j306.htm>
38. Lu, F. F. 1992. *Toxicología básica*. Editorial Harla. pp: 23-56.
39. Ma, T. H. *et al.* 1995. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assays for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research* 334: 185-195.
40. Ma, T. H. *et al.* 1997. The genotoxicity monitoring of air, water and soil- A preliminary report of the International Programme on Plant Bioassays (IPPB). *Mutation Research* 379 (1), Supplement 1, page 599.
41. Magliola, L. *et al.* 1997. Genotoxic assessment of Rio Tercero river waters (Cordoba, Argentina) under influence of an industrialized area. *Mutation Research* 379 (1), Supplement 1, page S100.
42. Mahata, J. *et al.* 2003. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in individuals exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India. *Mutation Research* 534(2): 133-143.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

43. Metcalf, y Eddy, 1996. Ingeniería de Aguas Residuales, 3ª edición. Tratamiento, Vertido y reutilización. McGraw-Hill, México. pp: 53-135.
44. Miao, M. et al. 1999. *Vicia* root micronucleus assay on the clastogenicity of water samples from the Xiaoqing river in Shandong Province of the People's Republic of China. Mutation Research 426 (2): 143-145.
45. Minissi, S. y Lombi, E. 1997. Heavy metal content and mutagenic activity, evaluated by *Vicia faba* micronucleus test, of Tiber river sediments. Mutation Research 393: 17-21.
46. Mohammed, K. B. y Ma, T. H. 1999. *Tradescantia*-micronucleus and stamed hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. Mutation Research: 426: 193-199.
47. Morales, F. 2000. Manejo del agua y del suelo con un enfoque agroecológico. Revista Agraria 22: 5-7. Lima, Perú.
48. Moretton, J. A. 1999. Estudio de la genotoxicidad de afluentes industriales y del impacto en los cursos de agua a los que se vierten. Cátedra de Higiene y Sanidad. <http://www.rec.uba.ar/ubacyt/fa/fa092.htm>.
49. Norma Oficial Mexicana, 1996. Acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecológicos y de Calidad del Agua NOM-001-ECOL-1996.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

50. Orozco, G. R. 1999. Estudio de la relación dosis-efecto de proteínas de choque térmico (HPS70) por exposición en metales en *Drosophila melanogaster*. En 4° Congreso Nacional Estudiantil de Toxicología Genética. Taxco, Guerrero, México. pag. 1.
51. Pescod, M. M. 1992. Wastewater treatment and use in agriculture. FAO Irrig. And Drain. Paper N° 47. Roma, Italia.
52. Ramalho, R. S. 1996. Tratamiento de aguas residuales. Edit. Reverté S. A. México. pp: 1-64..
53. Ramos, C. 2001. Uso de aguas residuales en riegos localizados y en cultivos hidropónicos. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Valencia, España. <http://www.horticon.com/itech3/ponencia/text/erams.html>
54. Restrepo, I. 1992. Los plaguicidas en México. 2° edición., Comisión Nacional de Derechos Humanos. México. pp: 262-267.
55. Rizzoni, M. et al. 1987. Micronucleus induction by low doses of X-rays in *Vicia fava* root doses tips. Mutation Research 176: 205-209.
56. Ruiz, E. F. et al. 1992. *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring. Mutation Research 270: 45-51.
57. Savín, V. C. 1994. Procesos celulares. Trillas. México. pp: 63-69.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

58. Sawger, T. W. 1994. Cellular methods of genotoxicity and carcinogenicity. In: Introduction to in vitro citotoxicology. Mechanims and methods. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. pp: 75-105.
59. Seoáñez, C. M. y Gutiérrez, A. 1999. Aguas residuales: Tratamiento por Humedales Artificiales Fundamentos Científicos, Tecnológicos. Diseño. Ediciones Mundi-Prensa, México. pp: 59-112.
60. Seoáñez, C. y Angulo, A. I: 1999. Aguas residuales urbanas, tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento. 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa, México. pp: 47-87.
61. Singer, M. y Berg, P. 1993. Genes y Genomas. 2º edición. Omega. Barcelona España. pp: 3-6
62. Steinkellner, H. et al. 1999. *Tradescantia* micronucleus assay for the assessment of the clastogenicity of Austrian water. Mutation Research 426 (2): 113-116.
63. Trujillo, T. M. N. 2002. Efecto de las aguas residuales de tenería en los procesos del suelo y desarrollo de las plantas cultivadas. Escrito de Examen Predoctoral especialidad en Biotecnología. CINVESTAV-IPN. México.
64. Wang, H. 1999. Clastogenicity of chromium contaminated soil samples evaluated by *Vicia* root-micronucleus assays. Mutation Resarch 426 (2): 147-149.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

65. Yang, G. et al. 1999. *Tradescantia*-micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu Province, China. Mutation Research 426 (2) 155-157.

THIS TESIS NO SALE  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA