Evaluación De Los Efectos Citotóxicos y Genotóxicos Del Agua Del Rio Pamplonita En Células Meristemáticas De *Allium cepa*

Manuel Stiven Ortiz Gutiérrez

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Biología

2025

Evaluación De Los Efectos Citotóxicos y Genotóxicos Del Agua Del Rio Pamplonita En Células Meristemáticas De *Allium cepa*

Estudiante

Manuel Stiven Ortiz Gutiérrez

Trabajo de grado presentado para optar al título de

BIÓLOGO

Director

PhD. Nancy Jaimes Méndez

Doctora en Ciencias Médicas Fundamentales

Universidad de Pamplona Facultad de Ciencias Básicas Departamento de Biología
Pamplona, Norte de Santander 2025

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a la doctora Nancy Jaimes por su invaluable guía y apoyo a lo largo de este trabajo. Su vasta experiencia y profundo conocimiento han sido fundamentales para mi desarrollo, brindándome la inspiración y la motivación necesarias en cada etapa del proceso. Sus observaciones y recomendaciones han sido inestimables, y su compromiso con mi formación tanto académica como personal es algo por lo que estaré siempre agradecido.

Al doctor Iván Meléndez quien me brindo de su acompañamiento y sabiduría para el correcto desarrollo de este trabajó, su paciencia y su excelente sentido del humor hizo de este trabajo más ameno.

A la universidad de Pamplona, que durante mi formación me permitió abordar en el excelente mundo del saber y que me permitió compartir y conocer a personas increíbles.

Al grupo de investigación BIOMOGEN por permitir el uso de instalaciones y equipos requeridos para este proyecto.

Agradezco a mi familia por brindarme la oportunidad de vivir y culminar esta etapa, sin su sacrificio no hubiese sido posible.

Finalmente, a mis amigos y aquellas personas que tuve la fortuna de conocer en la academia, especialmente a aquellos que dejaron huella durante mi camino como Katherine Quintero quien me ha brindado su cariño y apoyo en estos años y a los “colegas” Diego Diaz y Pier Guerrero por su amistad y orientación a lo largo de esta etapa.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de grado toda mi amada familia. A mis padres, María Luisa Gutiérrez y Daniel Ortiz Abril, a mi hermana, Madelen Ortiz Gutiérrez, a mi hermano, Fabian Ortiz Gutiérrez su amor, apoyo incondicional y sacrificio a lo largo de estos años han sido la fuerza que me ha impulsado a alcanzar mi sueño de convertirme en profesional. Estoy Eternamente agradecido por estar siempre a mi lado, por sus exigencias, enseñanzas y crianza que me han permitido llegar hasta aquí y ser la persona que soy hoy día. Espero poder seguir honrando su sacrificio y apoyo a lo largo de mi vida, y algún día retribuirles todo lo que han hecho por mí y dejar huella con mi trabajo y actuar en el futuro.

"lo que nos hace grandes, es el hecho de que podamos ver lo pequeños que somos"

Carl Sagan.

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN DEL PROYECTO 7
2. INTRODUCCIÓN 11
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN 12
4. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE 14
4.1 Antecedentes internacionales 16
4.2 Antecedentes nacionales 16
4.3 MARCO REFERENCIAL 14
4.3.1 Metodos para la evaluación de la calidad del agua 17
4.3.2 Test de *Allium cepa* como bioindicador 20
4.4.3 Marco legal y normativa sobre la calidad del agua en colombia 25
4.5 Importancia del monitoreo ecotoxicologico en rios 27
4.6 Relacion entre parametros fisicoquimicos y la salud de los ecosistemas 29
4.6.1 Contaminacion en cuerpos hidricos 32
4.6.2 Metales pesados 34
4.6.3 Acumulación de metales pesados en ecosistemas acuáticos 36
5. OBJETIVOS DEL PROYECTO 38
6. METODOLOGÍA 39
6.1 Área de estudió 39
6.1.2 Muestreos 40
6.1.3 Bioensayos de *Allium cepa* 41
6.1.4 Tinción de células meristemáticas de *Allium cepa* 43
6.1.5 Índice mitótico y índice de fases 43
6.1.6 Índice de anomalías cromosómicas 44
6.1.7 Análisis fisicoquímicos del agua del rio Pamplonita 45
6.1.8 Análisis estadístico 46
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 477
7.1 Efectos citotóxicos del agua del río Pamplonita sobre el índice mitótico de *A. cepa* 47
7.2 Genotoxicidad en células meristemáticas de *A. cep*a mediada por agua del río Pamplonita 55

7.3. Parámetros fisicoquímicos y calidad el agua del río Pamplonita……60

8. CONCLUSIONES 63
9. RECOMENDACIONES 6464
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 65

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1 *Clasificación numérica con variables según códigos de colores* 1719

Figura 2 *Alteraciones cromosómicas del ciclo celular de Allium cepa* **¡Error! Marcador no definido.**2

Figura 3 *Desprendimiento de cromosomas* 22

Figura 4 *Células con doble núcleo*.....23

Figura 5 Cro*mosomas adhesivos* 24

Figura 6 *Mapa de la ubicación de las zonas de muestreo del rio Pamplonita en la ciudad Pamplona – Norte de Santander*.....40

Figura 7 *Montaje del diseño experimental Bioensayos de Allium cepa* 43

Figura 8 *Índice Mitótico (IM) ecuación*.....44

Figura 9 *Índice de fases (IF) ecuación* 44

Figura 10 *Índice de anomalias cromosomicas (IC) ecuación*.....45

Figura 11 *Efecto citotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice de fases de A cepa* 47

Figura 12 *Diferentes fases mitóticas de las muestras del control*.....51

Figura 13 *Células meristemáticas en Profase y Metafase* 51

Figura 14 *Células meristemáticas en Anafase y Telofase* 52

Figura 15 *Efecto citotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice mitótico de A cepa* 53

Figura 16 *Efecto genotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice de anomalías cromosómicas de A cepa* 56

Figura 17 Anomalías cromosómicas encontradas en los bioensayos de *A. cepa* 58

Figura 18 *Efecto genotóxico en la longitud de raíces de A cepa* 59

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1 Categorización propuesta por el IDEAM y adoptada por Corponor 18

Tabla 2 *Decreto único 1076 del 2015 y sus modificaciones tomadas de (Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible* 26

Tabla 3 *Variables fisicoquímicas de acuerdo al uso de la fuente del agua* 31

Tabla 4 *Tratamientos.* 42

Tabla 5 *Parámetros fisicoquímicos a analizar sobre, "materia orgánica"* 45

Tabla 6 *Efectos citológicos del río Pamplonita sobre los índices de fase de las células meristemáticas de Allium cepa* 49

Tabla 7 *Efectos citotóxicos y genotóxicos del río Pamplonita sobre las células meristemáticas de A cepa*……55

Tabla 8 *Parámetros fisicoquímicos del agua del río Pamplonita en tres zonas de muestreo en Pamplona, analizados en el laboratorio de control de calidad de la Universidad de Pamplona – Norte de Santander*……*60*

1. RESUMEN DEL PROYECTO

La creciente contaminación de los ríos urbanos, como el río Pamplonita en Pamplona (Norte de Santander), es debido a factores como el crecimiento desorganizado, la inadecuada gestión de residuos sanitarios y los vertimientos de aguas negras, representa un problema ambiental y de salud pública. Ante este escenario, el presente estudio tuvo como objetivo principal evaluar los efectos citotóxicos y genotóxicos del agua del río Pamplonita en los meristemos radiculares de *Allium cepa.*

Para ello, se empleó el bioensayo de *Allium cepa*, una planta que es reconocida por su sensibilidad a tóxicos ambientales e industriales. Los meristemos radiculares de los bulbos fueron expuestos a muestras de agua T1 (agua de rio) recolectadas en tres zonas distintas del río durante 72 horas, comparando los resultados con T2: control positivo (etilmetanosulfonato, EMS) y T3: control negativo (agua destilada). Las evaluaciones biológicas constaron de: el índice mitótico (IM), el índice de fases (IF), el índice de anomalías cromosómicas (IC) y la longitud de raíces. Estos análisis se complementaron con la determinación de parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad, turbiedad, color, sólidos suspendidos totales - SST, demanda química de oxígeno - DQO y demanda bioquímica de oxígeno - DBO5), comparando sus valores con la normativa ambiental colombiana vigente.

Los resultados revelaron que, si bien el índice mitótico no mostró una reducción significativa en comparación con el control negativo, sí se observaron efectos importantes en el

patrón de las fases mitóticas. Específicamente, el tratamiento T2 (control positivo) causó un evidente bloqueo mitótico en profase, alcanzando hasta un 93.88 ± 8.47% en la Zona 2 y evidenciando una diferencia estadísticamente significativa respecto a las demás fases. En contraste, los tratamientos T1 (agua de río) y T3 (control negativo) exhibieron proporciones de fases mitóticas similares entre sí, lo que indica que el agua del río no produjo alteraciones citotóxicas significativas en la progresión de las fases mitóticas.

Además, el agua del río Pamplonita indujo un efecto genotóxico considerable: el índice de anomalías cromosómicas (IC) aumentó significativamente respecto al control negativo, siendo el daño genotóxico de las muestras de río (T1) comparable al inducido por el control positivo (T2, EMS). Asimismo, se observó una inhibición significativa del crecimiento radicular, con una reducción de aproximadamente el 43%, lo que indica un notable estrés biológico en las células de *A. cepa*. La evaluación fisicoquímica corroboró la presencia de contaminación, con niveles de turbidez, color, DQO y DBO5 que superaron considerablemente los límites permitidos por la normativa nacional, destacándose la Zona 1 (Terminal) como la más afectada. Esto se traduce en un riesgo potencial para la vida acuática y compromete la calidad del agua para sus diversos usos.

.

Palabras clave: Genotoxicidad, *Allium cepa.* Bioensayo, anomalías cromosómicas, Aneugénicos.

ABSTRACT

The increasing pollution of urban rivers, such as the Pamplonita River in Pamplona (Norte de Santander), due to factors such as unorganized growth, inadequate sanitary waste management, and sewage discharges, represents an environmental and public health problem. Given this scenario, the main objective of this study was to evaluate the cytotoxic and genotoxic effects of Pamplonita River water on the root meristems of Allium cepa.

To this end, the Allium cepa bioassay was used, a plant known for its sensitivity to environmental and industrial toxins. The root meristems of the bulbs were exposed to water samples T1 (river water) collected from three different areas of the river for 72 hours, comparing the results with T2, the positive control (ethylmethanesulfonate, EMS), and T3, the negative control (distilled water). Biological assessments included the mitotic index (MI), phase index (PI), chromosome abnormality index (CI), and root length. These analyses were complemented by the determination of physicochemical parameters (pH, conductivity, turbidity, color, total suspended solids (TSS), chemical oxygen demand (COD), and biochemical oxygen demand (BOD5), comparing their values with current Colombian environmental regulations.

The results revealed that, while the mitotic index did not show a significant reduction compared to the negative control, significant effects were observed on the mitotic phase pattern. Specifically, the T2 treatment (positive control) caused an evident mitotic block in prophase, reaching 93.88 ± 8.47% in Zone 2 and demonstrating a statistically significant difference compared to the other phases. In contrast, treatments T1 (river water) and T3 (negative control) exhibited similar mitotic phase ratios, indicating that the river water did not produce significant cytotoxic alterations in mitotic phase progression.

Furthermore, the Pamplonita River water induced a considerable genotoxic effect: the chromosomal abnormality index (CI) increased significantly compared to the negative control, with the genotoxic damage in the river samples (T1) comparable to that induced by the positive control (T2, EMS). Furthermore, a significant inhibition of root growth was observed, with a reduction of approximately 43%, indicating significant biological stress on A. cepa cells. The physicochemical evaluation corroborated the presence of contamination, with levels of turbidity, color, COD, and BOD5 significantly exceeding the limits permitted by national regulations, with Zone 1 (Terminal) being the most affected. This translates into a potential risk to aquatic life and compromises water quality for its various uses.

Key words: Genotoxicity, *Allium cepa*. Bioassay, chromosomal anomalies, Aneugenics.

2. INTRODUCCIÓN

Durante toda la historia el agua ha sido de vital importancia para la supervivencia de las comunidades (Martos-López, Á. 2016). La efectividad de construir civilizaciones cerca a este recurso, y la capacidad de modificarlo para su propio beneficio, sientan las bases de toda sociedad naturalmente hablando, un ejemplo claro de esto fueron los egipcios con el río Nilo (Asimov et al 1983). El agua, al proporcionar un sustento alimenticio seguro a través de los cultivos, es fundamental para el crecimiento exponencial de cualquier sociedad (Gonzalo, 2009). En la actualidad, los sistemas de riego y el acceso al agua se han vuelto mucho más sofisticados desde un punto de vista tecnológico, y su abastecimiento es más grande. Este aumento en el consumo también ha intensificado el déficit del recurso, que se ve agravado por su desperdicio y contaminación. Esto ha llevado a que, a pesar de que cerca del 73% de la población mundial tiene acceso a solo un 20% del agua disponible (Organización Mundial de la Salud, 2023). Gran parte de este recurso vital se malgasta y se contamina, como consecuencia, hoy en día enfrentamos una creciente crisis sanitaria, derivada del consumo del agua cada vez menos segura para la salud humana (Rivas, 2023).

Colombia es uno de los 10 países con mayores recursos hídricos, pero a su vez es uno de los países con los índices de consumo más elevados, índices de destrucción del recurso hídrico y contaminación intencionada (Sierra-Zamora, P. et al 2022). Generando un interés especifico en el cuidado y control de la calidad del agua por medio de análisis establecidos en la legislación de recursos hídricos y las políticas del control del agua (Pérez, 2003). El deterioro de la salud en las personas que consumen directamente el agua contaminada a motivado un notable interés en identificar cuáles son los compuestos nocivos que se encuentran en las aguas de los ríos (Rendon et al., 2010). En países más desarrollados, como Japón y Estados Unidos, se han desarrollado

diversas técnicas para evaluar con precisión los efectos nocivos de compuestos con alto potencial toxicológico, siendo el test de *A. cepa* un ejemplo destacado de estas metodologías (Ulloa et al., 2015). Por otro lado, en países en vías de desarrollo, este test es especialmente valorado por su bajo costo y alta eficiencia para evaluar efectos citotóxicos y genotóxicos causados por contaminantes, tales como metales pesados como cadmio y mercurio, entre otros (Ianaconne-Alvariño, J., 2015).

En Colombia, el sector agrícola es uno de los más importantes, con cerca de 3,5 millones de personas dedicadas a esta actividad, donde el uso de fertilizantes y pesticidas puede contribuir a la contaminación de las fuentes hídricas cercanas (Lallana et al., 2007).

Lo mencionado anteriormente nos muestra la importancia de realizar estos análisis toxicológicos en cuerpos de agua como ríos, lagos y quebradas especialmente aquellos de gran importancia en los diferentes sectores en Colombia. Estos estudios son fundamentales para contrarrestar los efectos perjudiciales que la contaminación del agua puede causar a la población. Es por esto que, el presente trabajo busca evaluar los efectos citotóxico y genotóxico del agua del rio Pamplonita utilizando el test de *A. cepa* mediante el análisis de las células meristemáticas de esta especie.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La calidad del agua es influenciada por la actividad humana que introduce gran cantidad de compuestos, que alteran la condición normal de los ríos. Entre las actividades que contribuyen al deterioro de la calidad del agua, encontramos la agricultura con el uso de pesticidas, las ladrilleras y el vertimiento de aguas residuales junto con el arrastre de las aguas lluvias, son los

principales factores de contaminación que entran diariamente al rio Pamplonita (Solano et al., 2022).

Algunas plantas como la cebolla, la remolacha y el arroz son utilizadas debido a su alta sensibilidad frente a la acción tóxica de diversos compuestos comúnmente presentes en ríos contaminados. En particular, *A. cepa* se destaca como uno de los bioensayos más sensibles para detectar químicos asociados a actividades mineras y agrícolas (Iannacone & Alvariño, 2005).

Este test emplea los meristemos radiculares de *A. cepa* para evidenciar los efectos citotóxicos y genotóxicos del agua o de otros agentes contaminantes. Su aplicación es reconocida por ser económica, accesible y eficaz, ya que estos tejidos son susceptibles a la acción de diferentes compuestos químicos que pueden alterar el crecimiento radicular de diversas maneras (Alexis et al., 2021).

El río Pamplonita constituye un eje hídrico esencial para el desarrollo social, económico y ambiental de Pamplona y otros municipios que dependen de él como fuente principal de abastecimiento. Sin embargo, la creciente presión antrópica ha generado un deterioro progresivo en su calidad, evidenciado por la presencia de contaminantes que afectan tanto los ecosistemas acuáticos como la salud de las comunidades que utilizan sus aguas (Mendoza & Cruzado, 2021).

Evaluar la calidad del agua es fundamental para comprender los efectos del impacto ambiental generado por la contaminación. Uno de los métodos más eficaces para esta evaluación es el test de *A. cepa*, que permite relacionar los parámetros fisicoquímicos del agua con los efectos citotóxicos y genotóxicos observados en las células meristemáticas de la planta. A través de este bioensayo, es posible identificar alteraciones celulares provocadas por la presencia de contaminantes, lo cual contribuye a dimensionar el alcance del problema y evidenciar los riesgos

para la salud pública y el ambiente. Esta información no solo permitirá diagnosticar el estado de contaminación del río Pamplonita, sino también servirá como una herramienta clave para sensibilizar y movilizar a la comunidad local hacia la protección y recuperación de este recurso vital.

4. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

4.1 Antecedentes internacionales

El uso de plantas como bioindicadores es muy común tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. Ahora que se reconoce el impacto real de la humanidad sobre la naturaleza, resulta extremadamente difícil sensibilizar a culturas enteras sobre el uso de contaminantes y sus efectos en la salud. Por tal motivo, es importante evaluar los efectos tóxicos de la contaminación en células especializadas que permiten visibilizar de manera clara los riesgos asociados. A continuación, se destacan algunos estudios de diversos países sobre citotoxicidad y genotoxicidad, utilizando el bioindicador *A. cepa*.

En Brasil, durante el año 2007, se estimó el potencial citotóxico y genotóxico de muestras del río Tapanhon y sus afluentes en São Paulo. Usando un manantial llamado Borba, como control negativo, donde el rio no mostró aberraciones cromosómicas ni una reducción significativa del índice mitótico (IM). Sin embargo, los afluentes sí presentaron aberraciones como (células con desgarrado, y anafases con puentes multipolares), en todas las muestras de *A. cepa*, lo que concluye que a lo largo de las cuencas existen sustancias que inducen los efectos citotóxicos y genotóxicos estimados (Amaral et al., 2006).

Un estudio en Malasia, realizado en 2011, determinó la genotoxicidad de cuatro muestras de agua del río Sungai Dúa, en Pulau Pinang, con el fin de evaluar el contenido de metales. Se

evidenció que hubo inhibición del índice mitótico, aunque el crecimiento de la raíz fue normal. No se observaron aberraciones cromosómicas, lo que indica un efecto mito depresor, pero no genotóxico (Akinboro, A. et al., 2011).

En 2017, se realizaron pruebas para evaluar los efectos biológicos y determinar qué organismos modelo son útiles para la detección de compuestos químicos en aguas superficiales. Estas pruebas se llevaron a cabo en el río Sri Lanka, en el sur de Asia, utilizando el test de *A. cepa* en conjunto con eritrocitos de peces. Se observó que el agua no tratada provocó una reducción significativa en el crecimiento de las raíces, así como una disminución en la actividad mitótica y la aparición de anomalías cromosómicas en las células meristemáticas de la raíz de la planta. Además, se detectó la formación de micronúcleos, brotes nucleares y daño genético (Hemachandra & Pathiratne, 2017).

En 2018, en Brasil, se evaluó el potencial citotóxico, genotóxico y mutagénico de muestras de agua tomadas en la cuenca del río Alegre, en el estado de Espírito Santo, utilizando la prueba de *A. cepa*. Los resultados demostraron que el agua de esta cuenca es citotóxica, ya que se observó una reducción en el índice mitótico. Además, se detectó genotoxicidad debido a la inducción de anomalías cromosómicas, aunque no se observó mutagenicidad (inducción de micronúcleos) en ninguna de las muestras de agua (Souza, T. et al., 2018).

En lo que respecta a la evaluación de sustancias nocivas, el test de *A. cepa* ha demostrado ser altamente eficiente. De hecho, en 2021 se realizó un estudio sobre la presencia de contaminantes en el río Ica, Perú, utilizando este test. Los resultados mostraron que solo las muestras pertenecientes a la zona urbana más contaminada presentaron inhibición mitótica y generaron una banda polimórfica que aparece únicamente cuando hay presencia de compuestos tóxicos (Berrocal H, 2021).

En relación con lo mencionado, se reafirma la importancia de la evaluación citotóxica, genotóxica e incluso mutagénica utilizando el test de *A. cepa*, ya que la mayoría de los estudios relacionados tratan sobre el riesgo para la salud que representan los compuestos nocivos presentes en las fuentes hídricas, lo que constituye un avance para la protección y el cuidado de estos ríos.

4.2 Antecedentes nacionales

El test de *A. cepa* ha demostrado tener un amplio rango de aplicación a nivel mundial, convirtiéndose en una herramienta efectiva y viable para el monitoreo y control de la toxicidad ambiental. Su uso permite evaluar efectos citotóxicos, genotóxicos y ecotóxicos, especialmente en la calidad del agua, a través del análisis del crecimiento radicular y del ciclo celular del bioindicador. No obstante, en Colombia aún es escasa la implementación de este bioensayo, posiblemente debido a la limitada difusión científica en algunas regiones. Esta situación resulta paradójica, dado que el ensayo destaca por su bajo costo, facilidad de aplicación y alta confiabilidad, características que lo convierten en una excelente opción para estudios de evaluación ambiental (Leme & Marin, 2009).

En 2016, Beltrán y Paz realizaron un estudio en Pasto, Nariño, sobre la degradación de residuos hospitalarios a través de aireación convencional. La toxicidad se evaluó mediante el bioensayo de *A. cepa* y se concluyó que no había diferencias significativas en los niveles de toxicidad después del tratamiento.

En el estudio de Castro (2024), se analizó la genotoxicidad del agua destinada al consumo humano en el municipio de La Loma, Cesar, empleando el test de *A. cepa* como modelo biológico. La investigación comparó los efectos durante las épocas de lluvia y sequía, identificando la presencia de metales pesados como mercurio y arsénico mediante espectrofotometría. Estos

elementos provocaron la formación de micronúcleos, alta frecuencia de muerte celular tras 48 horas de exposición y una marcada inhibición del crecimiento radicular e índice mitótico en las primeras 24 horas, confirmando el daño celular asociado a contaminantes tóxicos presentes en el agua. Este antecedente muestra la validez y relevancia del test de *A. cepa*, para evaluar la toxicidad en el agua en contextos locales, incluso en procesos de tratamiento.

4.3 MARCO REFERENCIAL

4.3.1 Métodos para la evaluación de la calidad del agua

Cuando se trata de evaluar la calidad del agua hay un sinfín de métodos por el cual se puede cuantificar el estado del agua, una de ellas y la más recomendada por los especialistas ambientales es el Biological Monitoring Working Party (BMWP), que se puede describir como el análisis que se hace a un cuerpo de agua por medio de macroinvertebrados, que taxonómicamente hablando cada grupo tiene una puntuación debida a su tolerancia a la contaminación (López, C et al., 2005). De manera similar, se realiza una evaluación de la integridad del agua utilizando diatomeas, analizando tanto su estructura como su funcionamiento biológico, estas se emplean como indicadores biológicos, basados en su composición y tolerancia a los contaminantes emergentes (CE), con un rango que abarca desde condiciones prístinas hasta muy contaminadas. Este método proporciona información más precisa que el análisis con macroinvertebrados, ya que las diatomeas son indicadoras de polución a muy corto plazo (Licursi & Gómez, 2003).

El índice de calidad del agua (ICA) es una metodología que evalúa múltiples parámetros físico-químicos y biológicos. Funciona asignando un valor ponderado a cada uno, lo cual permite al IDEAM clasificar la calidad del agua en diferentes rangos. La (Tabla 1) detalla estas

clasificaciones, donde, por ejemplo, un valor cercano a 100 indica calidad "Excelente", mientras que uno inferior a 25 se considera "Muy Mala".

Tabla 1.

Categorización propuesta por el IDEAM y adoptada por Corponor tomada de IDEAM, 2024; https://www.ideam.gov.co/informes-calidad-agua.

Categorías de valores que puede tomar el indicador	Calificación de la calidad del agua	Señal de alerta
0,00 – 0,25	Muy mala	Rojo
0,26 – 0,50	Mala	Naranja
0,51 – 0,70	Regular	Amarillo
0,71 – 0,90	Aceptable	Verde
0,91 – 1,00	Buena	Azul

De igual forma el ICOMO (Índice de contaminación orgánica) y el IPMP (Índice de polución por metales pesados, funcionan casi igual que el ICA, pero esta vez cambiando el coeficiente de ponderación según el nivel de toxicidad y el impacto ambiental que tienen estos metales en la salud humana (Pirbazari et al., 1992).

En el monitoreo de la calidad del agua, existen diversas metodologías que permiten obtener una visión detallada de las condiciones ambientales de los cuerpos hídricos. Una de ellas es el denominado "método holandés", el cual utiliza análisis fisicoquímicos estándar como la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), la Demanda Química de Oxígeno (DQO), pH, temperatura y la presencia de metales pesados, clasificando la calidad de las aguas superficiales de manera numérica y mediante una codificación por colores, para esto se tiene una sumatoria de puntos, a medida que asciende el valor, la contaminación es mayor, este puntaje se le da al analizar los resultados y compararlos con los permitidos por la norma que rige el país (Figura 1), lo que permite una evaluación tanto temporal como espacial (Robledo et al., 2014). No obstante, en el presente estudio no se implementó dicho método en su totalidad. En su lugar, se adoptó un enfoque

ecotoxicológico basado en el test de *A. cepa*, complementado únicamente con algunos parámetros fisicoquímicos como DQO, DBO, sólidos suspendidos y pH. A diferencia del Índice de Calidad del Agua (ICA), ampliamente utilizado en Colombia, este enfoque prioriza la evaluación directa de efectos citotóxicos y genotóxicos en organismos modelo, prescindiendo del uso de bioindicadores clásicos o sistemas de clasificación complejos como el método holandés.

Figura 1.

Clasificación numérica con variables según códigos de colores tomada de (Robledo et al., 2014): http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=586262040003.

Clase	Sumatoria de puntos	Código de color	Interpretación de calidad
1	3	Azul	Sin contaminación
2	4 – 6	Verde	Contaminación incipiente
3	7 – 9	Amarillo	Contaminación moderada
4	10 – 12	Anaranjado	Contaminación severa
5	13 – 15	Rojo	Contaminación muy severa

Sin embargo, aunque los análisis fisicoquímicos son esenciales para obtener resultados cuantitativos precisos, el uso de bioindicadores, como el test de *A. cepa* o plantas como *Vicia faba* y *Lemna minor*, ofrece una perspectiva complementaria, los bioindicadores permiten observar el impacto biológico de los contaminantes, especialmente en términos de toxicidad a corto plazo, proporcionando información valiosa sobre cómo los agentes contaminantes afectan directamente a los organismos vivos (Espino & Pulido, 2000). De este modo, la combinación de ambos enfoques, fisicoquímicos y biológicos, es clave para lograr una evaluación más integral de la calidad del agua, garantizando la toma de decisiones más acertadas para la conservación de los recursos hídricos.

4.4.2 Test de *Allium cepa* como bioindicador

La relevancia del bioensayo con *Allium cepa* radica en su eficacia como modelo *in vivo* ampliamente validado, utilizado para evaluar el impacto de compuestos o soluciones específicas sobre el crecimiento radicular y la integridad del ADN vegetal (Sardi et al., 2016). Este ensayo permite detectar sustancias genotóxicas utilizando bulbos de cebolla común, facilitando así el establecimiento de criterios toxicológicos, citotóxicos y genotóxicos. Estos se basan en la inhibición del crecimiento radicular, el índice mitótico (IM), y la presencia de aberraciones cromosómicas observables en las células meristemáticas.

Dichas alteraciones sirven como evidencia de la presencia de contaminantes químicos en el entorno analizado. En el presente estudio, se aplicó específicamente para evaluar la toxicidad del agua superficial de un afluente destinado al consumo humano (Pathiratne et al., 2015). La prevención de impactos negativos en la biodiversidad de los ecosistemas receptores es crucial en la gestión de efluentes, siendo prioritario reducir o eliminar su biotoxicidad.

A nivel global, el uso del test de *A. cepa* como bioindicador es ampliamente reconocido para evaluar la citotoxicidad y genotoxicidad del agua, ya sea de consumo humano, aguas municipales, superficiales, subterráneas o efluentes cloacales (Bosio, S. et al., 2012).

El uso del test de *A. cepa* como bioindicador es reconocido para la evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad en distintos tipos de agua, como las de consumo humano, aguas residuales municipales, superficiales, subterráneas o industriales (Bosio et al., 2012). El ensayo permite evaluar indirectamente la toxicidad mediante la comparación de la elongación de raíces entre bulbos expuestos y controles. La cuantificación se realiza a través del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de raíces (Castillo, 2004).

Gracias a su eficacia, este sistema también ha sido implementado para evaluar el potencial citotóxico de diversas muestras, que van desde infusiones de plantas medicinales hasta el análisis del impacto tóxico de suelos como en herbicidas o residuos orgánicos. Además, se ha utilizado para investigar el efecto de los compuestos químicos presentes en aguas residuales, desechos industriales y contaminantes atmosféricos, brindando una herramienta clave para la identificación de riesgos a la salud humana y la preservación de los ecosistemas. Su versatilidad permite su aplicación en la evaluación de agentes químicos con posible impacto ambiental o toxicidad para los seres vivos (Mejía & Dayana, 2024). Este sistema también detecta el potencial mutagénico de compuestos químicos, como aquellos presentes en aguas residuales, suelos contaminados, herbicidas, infusiones vegetales o contaminantes atmosféricos. Las mutaciones pueden originarse por la acción de sustancias químicas, factores ambientales, radiación o la inestabilidad de los ácidos nucleicos. Tales agentes pueden inhibir el ciclo celular, inducir alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales o provocar intercambios entre cromátidas hermanas (Bagatini et al., 2007).

El bioensayo con *A. cepa* ha demostrado ser eficaz en la identificación de anomalías genéticas, tales como micronúcleos, núcleos lobulados, células polinucleadas, cromosomas adheridos, cromosomas helicoidales y células con doble núcleo (Freyre et al., 2009; Cavadía et al., 2019; Pesnya & Bolotov, 2022; Malakahmad et al., 2018). Estas manifestaciones, ilustradas en las (Figura 2), (Figura 3) y (Figura 4), reflejan daños genéticos como (células con doble núcleo, rompimiento de cromosomas, fragmentos dobles, entre otros) atribuibles a agentes clastogénicos y aneugénicos.

Figura 2.

Alteraciones cromosómicas del ciclo celular de Allium cepa.

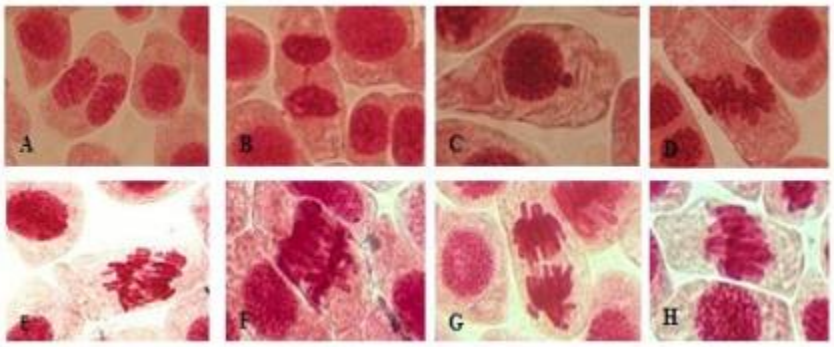


Figura 2. Alteraciones celulares observadas. A-célula con núcleo doble, B-Telofase con puente, C-Micronúcleos, D-Metafase con cromosomas desorientados, E-, anafase con alteración en el eje, F-Anafase irregular, G- anafase con rotura cromosómica- metafase con alteración numérica. Tomado de Cavadía, T., *et al*. (2019).

Figura 3.

Desprendimiento de cromosomas.

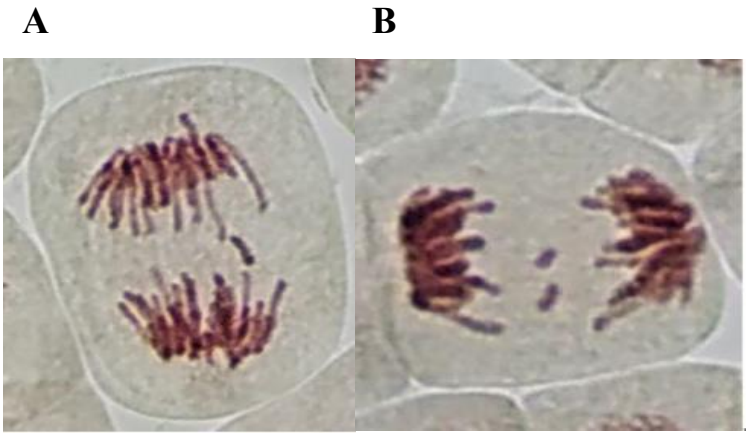


Figura 3. Tipos de anomalías separación de cromosomas A- Fragmento único, B- Fragmento doble. Tomado de Pesnya & Bolotov. (2022).

Figura 4.

Células con doble núcleo.

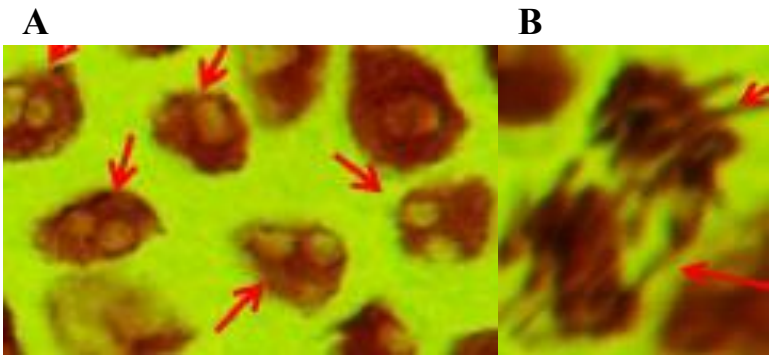


Figura 4. Células binucleadas - A, -B Anafase con retraso y puente tomada de Malakahmad, A et al. (2018).

Las aberraciones aneugénicas, caracterizadas por un número anómalo de cromosomas, afectan directamente la mitosis, usualmente los fármacos sintéticos, pesticidas y contaminantes emergentes pueden inducir errores en la segregación cromosómica, provocando aneuploidía (Gonzales & Chico, 2021). Por ejemplo, los cromosomas adhesivos, se han vinculado con la exposición al fármaco Meloxicam al 1% (Gonzales & Chico, 2021), mientras que las malformaciones del huso mitótico pueden generar aberraciones helicoidales (figura 5) (Muñoz-Solarte & Guerrero-Peipinosa, 2013). El uso de biomarcadores cobra especial importancia para diagnosticar y monitorear estos efectos a nivel celular, ya que permiten una evaluación eficiente, rápida y complementaria a los análisis fisicoquímicos convencionales (Andrioli, 2011; Almeida et al., 2021).

Figura 5

Cro*mosomas adhesivos.*

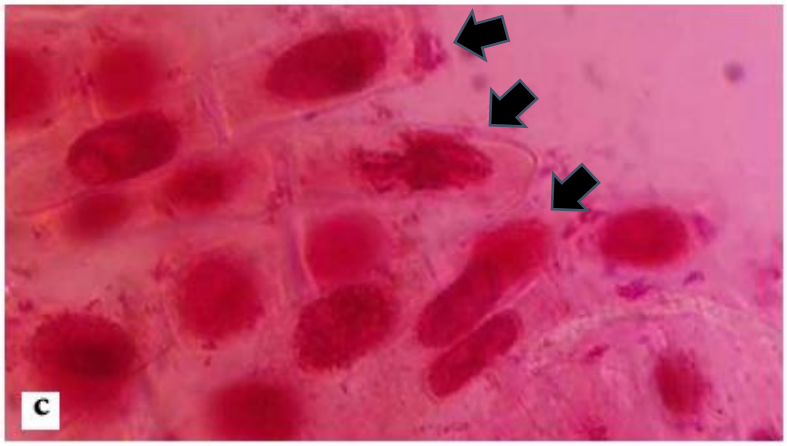


Figura 5. Células altamente condensadas, que se compactan y evitan la separación de los cromosomas.

Los efectos tóxicos en los organismos vivos pueden evaluarse no solo a través de biomarcadores moleculares, sino también mediante alteraciones morfológicas. Un mecanismo clave de daño celular asociado a la presencia de contaminantes es el estrés oxidativo, el cual se induce por especies reactivas de oxígeno (Mena-Ulecia et al., 2010). Este tipo de alteraciones son relevantes en la ecotoxicología, donde la genotoxicidad ambiental ha sido ampliamente documentada en estudios con especies vegetales. Por ejemplo, una revisión de Valencia et al. (2013) que compiló más de 140 estudios sobre 160 contaminantes, demostró la inducción de efectos genotóxicos en más de 20 especies vegetales. Esta vasta evidencia respalda el uso del bioensayo de *Allium cepa* como un modelo fiable y sensible en la ecotoxicología vegetal.

En este contexto, se ha señalado una escasez de investigaciones centradas en la citotoxicidad vegetal, a pesar de que la detección de daños en el ADN es fundamental para

identificar posibles efectos adversos en los organismos expuestos. Esta capacidad convierte al test de *Allium cepa* en una herramienta eficaz para la vigilancia ambiental, dado su potencial para detectar efectos genotóxicos tempranos causados por contaminantes en distintos ecosistemas (Mateus et al., 2019).

El índice mitótico (IM) es una herramienta crucial para evaluar la citotoxicidad, ya que refleja el porcentaje de células en división. Un (IM) inferior al del control negativo indica inhibición del crecimiento, siendo subletal si disminuye más del 50 % y letal si cae al 22 % o menos (Antosiewicz, 1990, citado en Valencia et al., 2013). Por otro lado, un IM elevado puede sugerir una proliferación celular anómala con (Hoshina, 2002, citado en Valencia et al., 2013).

Las anomalías mitóticas observadas en células expuestas al agua con residuos de insecticidas utilizados en cultivos agrícolas incluyen profase dispersa, cromosomas adheridos, desplazamiento de la placa ecuatorial y metafase pegajosa, pertenecientes principalmente al grupo de aberraciones aneugénicas (Lansal et al., 2010). De estas, las C-metafases son especialmente frecuentes, resultado de la alteración o inhibición del huso mitótico, lo que impide la correcta separación de los centrómeros. Esto puede derivar en C-anafases, que causan aneuploidía o poliploidía por errores en la distribución de los cromosomas durante la división celular (Shahin & El-Amoodi, 1991).

4.4.3 Marco legal y normativo sobre la calidad del agua en Colombia

En Colombia, existe un marco normativo diseñado para establecer las características físicas, químicas mínimas que debe cumplir el agua para consumo humano, además de definir las responsabilidades de las empresas de acueducto en el monitoreo de las fuentes de agua y redes de distribución para proteger la salud pública. El Decreto 2811 de 1974, que dicta el Código Nacional

de Recursos Naturales Renovables y Protección Ambiental, establece en su título VI, capítulo II, que el Estado es responsable de garantizar la calidad del agua para el consumo humano y otros usos necesarios. Por su parte, el Decreto 1843 de 1991 regula parcialmente aspectos de la Ley 09 de 1979 sobre el uso y manejo de plaguicidas. También, el Decreto 475 de 1998 establece normas técnicas para la calidad del agua potable, mientras que el Decreto 1575 de 2007 define un sistema de control y protección de la calidad del agua, con el propósito de monitorear y mitigar los riesgos para la salud humana derivados de su consumo (tomado de Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible citado en (Gelves Suarez, 2020).

La Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental (Corponor) es la entidad responsable, según lo estipulado por la ley, de gestionar el medio ambiente y los recursos naturales renovables, asegurando su desarrollo sostenible dentro de su jurisdicción y en concordancia con la normativa vigente. Para la toma de decisiones, Corponor se apoya en el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible, que consolida toda la normativa emitida por el Gobierno Nacional. En el contexto de este trabajo, cabe destacar los siguientes aspectos relevantes de dicha normativa, (Tabla 2).

Tabla 2

Decreto único 1076 del 2015 y sus modificaciones tomadas de (Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible citada en Corso Flores, 2022) Doi: http://hdl.handle.net/11634/42709.

Normativa	Aborda	Aplica
Decreto 3930	Uso del agua y residuos líquidos y se dictan otras disposiciones	**Articulo 9-18**. Usos del agua **Artículo 19.** Criterios de calidad para la asignación de usos del recurso

		Artículo 43. Evaluación ambiental del vertimiento **Artículo 58**. Seguimiento de los permisos de vertimiento, saneamiento y manejo
Resolución 0631 de 2015	Parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles	**Artículo 8**. De las aguas residuales domésticas y de las aguas residuales de los prestadores de servicio público de alcantarillado a cuerpos de aguas superficiales
Códigos Nacional de Recursos Naturales	Preservación y utilización racional de los recursos naturales renovables	**Artículo 137.** Los cuerpos de agua serán objeto de protección y control
Códigos Nacional de Recursos Naturales	Preservación y utilización racional de los recursos naturales renovables	**Artículo 143.** Previo análisis de las fuentes receptoras de aguas negras

Estos aspectos normativos son fundamentales, ya que permiten establecer los criterios técnicos y legales con los cuales se puede comparar la calidad del agua del río Pamplonita. La Resolución 0631 de 2015, por ejemplo, proporciona los valores máximos permisibles para parámetros fisicoquímicos, lo que permite determinar si las muestras analizadas exceden los límites legales y representan un riesgo para los ecosistemas o la salud humana. Asimismo, el Decreto 3930 establece lineamientos para el uso del recurso hídrico y el manejo de vertimientos, información esencial para comprender el impacto de las actividades humanas sobre esta fuente hídrica. La articulación con el marco legal también respalda el uso del bioensayo con *A. cepa* como una herramienta complementaria de vigilancia ambiental, en concordancia con el principio de precaución y protección del recurso hídrico estipulado en la normativa nacional.

4.5 Importancia del monitoreo eco toxicológico en ríos

El monitoreo eco toxicológico en ríos constituye una estrategia integral de evaluación ambiental que permite comprender los efectos adversos de diferentes contaminantes sobre los organismos vivos, y también anticipar impactos en los ecosistemas y en la salud humana. Esta

metodología no solo observa la calidad fisicoquímica del agua, sino que también examina los efectos tóxicos a nivel celular y molecular en especies indicadoras, evaluando cómo los contaminantes afectan procesos como la división celular, la expresión genética, la integridad de membranas celulares y el desarrollo de organismos. Los datos obtenidos a través de estas evaluaciones ofrecen una visión profunda de la "salud" del ecosistema acuático, aportando información sobre las cargas contaminantes y su impacto bioacumulativo en los organismos (Aldemar-Villegas, 2021).

Dado que los ríos son sistemas abiertos y dinámicos, el monitoreo ecotoxicológico es crucial para analizar la acumulación y dispersión de contaminantes que derivan de múltiples fuentes, tales como la agricultura, la industria y el vertimiento de aguas residuales. Este tipo de monitoreo permite identificar la toxicidad crónica y aguda de ciertos compuestos, evaluar efectos genotóxicos y citotóxicos, y descubrir patrones de toxicidad que puedan no ser evidentes solo con pruebas químicas. Además, el monitoreo ecotoxicológico permite la observación a lo largo del tiempo, posibilitando el análisis de tendencias que muestran cómo un contaminante afecta a las comunidades biológicas del río y si las medidas de remediación o las políticas de manejo han sido efectivas (Centanni, M et al 2024).

La selección de biomarcadores, como los índices mitóticos y las alteraciones cromosómicas en especies vegetales o animales, y de bioindicadores específicos del ecosistema fluvial, permite identificar no solo la presencia de contaminantes, sino también su toxicidad potencial (Ent, R., 2000). Por ejemplo, cambios en el índice mitótico de plantas como *A. cepa* pueden indicar la toxicidad en el agua de un río, revelando la presencia de sustancias que alteran la división celular. Estos datos resultan vitales para las autoridades ambientales y las políticas públicas, pues generan

evidencia cuantitativa y cualitativa para regular emisiones, establecer límites permisibles de contaminantes y definir estrategias de mitigación (Arias, T. et al., 2016).

En este contexto, el monitoreo de la calidad del agua cobra aún mayor relevancia como herramienta para la gestión sostenible de los recursos hídricos, especialmente frente a las crecientes presiones ambientales y la aparición de contaminantes emergentes. Este proceso no solo permite evaluar parámetros fisicoquímicos, sino también incorporar métodos biológicos que ofrecen un diagnóstico más integral de los cuerpos de agua. Entre estos métodos, el uso de bioensayos como el test de *Allium cepa* se destaca por su eficacia en ecotoxicología, al detectar efectos citotóxicos y genotóxicos mediante la observación de alteraciones celulares asociadas a contaminantes químicos (Cirelli, 2012). Asimismo, la inclusión de técnicas biológicas como el análisis de ADN ambiental (eDNA) ha revolucionado el monitoreo al permitir la detección temprana de organismos indicadores de contaminación y microorganismos patógenos, mejorando la vigilancia de la biodiversidad acuática. Esta aproximación integrada, que combina herramientas biológicas con parámetros tradicionales como el pH, DBO, DQO y metales pesados, sienta las bases para métodos más sensibles y eficaces, adaptados a los desafíos actuales.

Además de los métodos biológicos como el test de *Allium cepa*, hay avances tecnológicos que ofrece herramientas complementarias para fortalecer el monitoreo ambiental. Entre ellas se destaca el uso de sensores remotos, teledetección satelital y drones, que facilitan la vigilancia de cuerpos de agua en zonas de difícil acceso. Estas tecnologías permiten detectar cambios visibles, como la turbidez o floraciones algales, y generar mapas geoespaciales que apoyan la toma de decisiones ambientales (Saenz, 2014). Si bien no sustituyen las evaluaciones citotóxicas o genotóxicas, sí pueden integrarse en estrategias de monitoreo más amplias, donde se combinen análisis fisicoquímicos, pruebas bioindicadores y vigilancia remota.

4.6 Relación entre parámetros fisicoquímicos y la salud de los ecosistemas

Los parámetros fisicoquímicos ofrecen una visión integral de la calidad del agua, siendo fundamentales para evaluar el impacto de diversos contaminantes sobre la salud de los ecosistemas. Su monitoreo y control son cruciales para la gestión ambiental, ya que su equilibrio es indispensable para mantener la funcionalidad y biodiversidad de los ecosistemas acuáticos. Además, los estudios de correlación entre estos parámetros e indicadores biológicos facilitan la identificación de puntos críticos de contaminación y la implementación de medidas de conservación, contribuyendo así a la preservación de los ecosistemas y la protección de los recursos hídricos (Ayala & Vera, 2020). Entre los parámetros fisicoquímicos clave se incluyen el pH, la demanda biológica de oxígeno (DBO), la demanda química de oxígeno (DQO), la temperatura, la turbidez, la concentración de nutrientes (como nitrógeno y fósforo), y la presencia de metales pesados, entre otros contaminantes. Cada uno de estos factores afecta, en distintos niveles, los procesos biológicos y bioquímicos de los organismos acuáticos y la calidad general del hábitat (Garcia-Huaman et al., 2011). En este contexto, la selección de los parámetros relacionados con la presencia de materia orgánica, como la DBO y la DQO, es de particular relevancia, dado su papel destacado en la evaluación de la calidad del agua, un criterio propuesto por Jacob y Okokon (2021). Estudios previos, como los realizados por Salam et al. (2019) y Martins et al. (2020), han abordado extensivamente el análisis fisicoquímico de muestras de agua, reforzando la importancia de estos parámetros para comprender el grado de contaminación y su impacto ambiental.

Este proceso de selección suele depender del criterio de expertos y de factores como la disponibilidad de información, los objetivos de monitoreo, y la localización del cuerpo de agua. Las variables a medir se establecen con base en clasificaciones previas; por ejemplo, (Walski, 1974 citado por Samboni et al., 2007) recomienda incluir parámetros como oxígeno disuelto (OD),

temperatura, coliformes, pH, sólidos suspendidos (SS), turbidez, nitratos y fosfatos. Estas variables permiten evaluar características esenciales del agua como su impacto en la vida acuática, efectos en la salud humana y propiedades organolépticas. Para la evaluación efectiva de la calidad del agua, la selección de parámetros fisicoquímicos adecuados es fundamental. Un enfoque considera que los parámetros se deben definir por el uso de la fuente hídrica por ejemplo (consumo humano, recreación o riego) (Dunnette,1979 citado por Samboni et al., 2007; Tabla 3). Complementando, la metodología Delphi sugiere conformar un panel de expertos que seleccionen las variables más relevantes en función de su recurrencia y pertinencia en el contexto local. En conjunto, estos enfoques permiten una evaluación detallada y específica, lo que fortalece significativamente las estrategias de protección y control de los recursos hídricos en el contexto del monitoreo ecotoxicológico (Dinius, 1987 citado por Samboni et al., 2007).

Tabla 3

Variables fisicoquímicas de acuerdo al uso de la fuente del agua propuestas por (Dunnette, 1979 tomada de Samboni et al., 2007); http://ref.scielo.org/2467xx.

Categorías	Variables que las representan
Nivel de oxigeno	OD, DBO, DQO
Eutrofización	NO2 -N. NO3 -N, Ortofosfatos
Aspectos de salud	Coliformes totales y fecales
Características físicas	Temperatura, Transparencia, Solidos totales

El pH es una de las mediciones clave en el análisis químico del agua debido a su papel esencial en varias etapas de su tratamiento. Procesos como la neutralización ácido-base, el ablandamiento, la precipitación, la coagulación, la desinfección y el control de la corrosión dependen de valores adecuados de pH para ser eficaces. En su estado natural, el agua suele tener

un pH entre 4 y 9; sin embargo, es común que mantenga una ligera alcalinidad, atribuible a la presencia de compuestos como los bicarbonatos y carbonatos, que contribuyen a amortiguar la acidez ambiental (Rincon, 2017). Los valores de todos los parámetros fisicoquímicos, tanto los previamente mencionados, son fundamentales para comprender el estado y la calidad del agua, ya que cada uno aporta información clave sobre los posibles impactos ambientales y la viabilidad de su uso para diferentes fines.

4.6.1 Contaminación de cuerpos hídricos

El agua líquida es vital no solo para mantener la vida en la Tierra, sino también para el funcionamiento adecuado de los sistemas biológicos. Actúa como un medio de transporte fundamental para las moléculas dentro y fuera de las células, facilitando procesos esenciales como la absorción de nutrientes y la eliminación de desechos. Sin embargo, cuando el agua está contaminada por agentes tóxicos, estos procesos se ven comprometidos, lo que puede tener graves consecuencias para la salud humana y la biodiversidad (Martinez, A., 2019).

El acelerado desarrollo urbano que ha tenido Pamplona, Norte de Santander, ha estado influenciado en gran parte por el crecimiento de su población estudiantil, gracias a la presencia de la Universidad de Pamplona. Este crecimiento conlleva un aumento en las actividades humanas que, de forma general, generan una presión significativa sobre el entorno natural, incluyendo el cuerpo de agua que atraviesa la ciudad, el río Pamplonita. Entre las principales problemáticas ambientales se encuentra la descarga de vertimientos de origen antropogénico, los cuales pueden tener efectos adversos sobre la salud humana y el ambiente (Nunes et al., 2011). Si bien los análisis fisicoquímicos permiten establecer algunos parámetros de calidad, estos resultan limitados para una caracterización integral de los contaminantes presentes. En este escenario, se hace necesario emplear métodos complementarios más sensibles y rápidos, como los bioensayos. Es importante

resaltar que, según un estudio realizado por Vera (2022), el agua cruda del río Pamplonita no cumple con los estándares establecidos en la Resolución 2115 de 2007 del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, la cual prohíbe la presencia de metales pesados en el agua destinada para consumo humano.

La cuenca hidrográfica del río Pamplonita abarca un amplio territorio que incluye varios municipios del departamento de Norte de Santander, cuyos habitantes hacen uso del recurso hídrico de diversas maneras. Además, se ha identificado la presencia de metales pesados, como el cromo en su forma tóxica (Cr^{6+}), el cual puede ser absorbido por la flora, la fauna e incluso por los seres humanos, representando un riesgo para la salud. En particular, este compuesto puede penetrar por vía cutánea y ser causante de afecciones como dermatitis severa (Quintero, G. et al., 2018).

La metodología más apropiada para analizar un ecosistema es el biomonitoreo, ya que, si bien las mediciones fisicoquímicas de la calidad del agua permiten identificar posibles fuentes de contaminación, estas no proporcionan una evaluación completa de los efectos biológicos provocados por dicha contaminación (Martins et al., 2020). En cuanto al análisis de la calidad del agua, diversos estudios han buscado identificar la presencia de agentes tóxicos en cuerpos hídricos, siguiendo los lineamientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estos trabajos comparan los parámetros recolectados como los fisicoquímicos, microbiológicos y organolépticos con los valores establecidos por la normativa internacional, permitiendo evaluar el grado de afectación y el riesgo potencial para los ecosistemas y la salud humana (Quintero, G. et al., 2018)

Además de los análisis fisicoquímicos y normativos, es fundamental considerar parámetros biológicos y microbiológicos para obtener una evaluación más integral del estado del recurso hídrico. Al analizar características químicas, biológicas y microbiológicas, es posible identificar el

tipo y origen de la contaminación presente en el río. Por ejemplo, la medición de coliformes totales y fecales permite calcular el Índice de Calidad del Agua (ICA), revelando la presencia de vertimientos de aguas residuales y su impacto en la salud pública y el equilibrio del ecosistema (Durán, L. E., 2016).

Por otro lado, el río Pamplonita ha sido objeto de diversos estudios sobre la calidad del agua, los cuales han identificado como principales fuentes hídricas al cuerpo de agua Monte Adentro y al río Zulia. Estos afluentes han sido clasificados en categoría IV según el grupo de trabajo para el monitoreo biológico (índice BMWP), lo que indica un alto nivel de contaminación. Esta misma clasificación se ha reportado en el sector del Batallón, lo que evidencia un deterioro significativo en varios tramos del río (Herrera, M. J., 2005). Ante este panorama, se hace necesario complementar estos diagnósticos con evaluaciones toxicológicas que permitan esclarecer si el agua disponible cumple con los estándares de calidad.

4.6.2 Metales Pesados

Los metales desempeñan funciones biológicas esenciales como micronutrientes, entre los cuales se encuentran el hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn). No obstante, algunos de ellos también actúan como contaminantes peligrosos al clasificarse como metales pesados, tales como el mercurio (Hg), plata (Ag), cromo (Cr), cadmio (Cd), entre otros. La toxicidad de estos metales radica en su incapacidad para ser biodegradados, ya sea por medios químicos o biológicos. A diferencia de los contaminantes orgánicos, permanecen en forma iónica u orgánica. Estos metales se acumulan en los organismos vivos durante largos periodos y también se depositan en los diferentes compartimentos de los cuerpos de agua, tanto en los sedimentos suspendidos como en los componentes abióticos y bióticos. Incluso pueden persistir en el agua superficial (Campos, C., 1990).

La contaminación por metales pesados en fuentes hídricas es un grave problema global, la presencia de elementos como cadmio, mercurio y plomo causa serios riesgos para la salud y el ambiente (Tequia, K. 2017). El cadmio, por ejemplo, a pesar de su baja presencia natural, es un agente importante en la contaminación ambiental debido a su prolongada vida media y alta capacidad de acumulación, siendo liberado por quema de combustibles fósiles y uso de pesticidas fosfatados (Ramirez, P *et al*., 2019). Con la expansión industrial, su producción y uso han aumentado rápidamente, convirtiéndose en un problema ambiental significativo, empleándose en la fabricación de baterías, plásticos, y en la elaboración de plaguicidas y fertilizantes (Marcano, L et al., 1999). La presencia de metales pesados en el agua tiene graves consecuencias para las plantas y la salud humana, estos metales pueden provocar problemas como la clorosis en las plantas y una serie de efectos adversos en los seres humanos, incluyendo problemas respiratorios, daño en órganos vitales y diversos trastornos neurológicos, hasta incluso la muerte (Pabón, S et al., 2020).

También, los lixiviados sin tratar, más conocidos como “SCB”, originados por los residuos sólidos urbanos (RSU) y de construcción y demolición (RCD), representan una preocupación ambiental significativa debido a su potencial contaminante (Rodríguez, P. et al., 2023). Estos residuos llegan directamente al río Pamplonita, intensificando los niveles de toxicidad en sus aguas. Los lixiviados contienen una amplia gama de sustancias químicas, incluidos metales pesados como plomo (Pb), cromo (Cr), níquel (Ni), bario (Ba), estroncio (Sr) y titanio (Ti), así como compuestos orgánicos como polietilenglicol, nicotina y varios hidrocarburos aromáticos, tanto monoaromáticos como policíclicos (Chandra, S. et al., 2005). La presencia de estas sustancias en el afluente no solo agrava la degradación ambiental del ecosistema acuático, sino que también plantea un riesgo potencial para la salud pública local, al contaminar un recurso hídrico clave para la región.

4.6.3 Acumulación de metales pesados en ecosistemas acuáticos

La acumulación por metales pesados tiene distintos orígenes, desde los desechos humanos, la alta actividad agrícola o la minería, son los principales factores que contribuyen a la contaminación hídrica (Matorell, J., 2010). Todas las zonas ya sean zonas costeras, un confinamiento geográfico o nacimientos de aguas que dan orígenes a quebradas y posteriormente ríos, reciben aportes fluviales que por escorrentía arrastran todo a su paso, siendo propensas a ser influenciadas por las actividades antropogénicas (Marquez, M. et al., 2001). Estos contaminantes tienen cabida a generar o alterar todo un ecosistema, estos residuos peligrosos son incapaces de degradarse, acumulándose de diferentes formas, una de ellas es bien estudiada, es la acumulación de metales pesados en organismos que van desde macro invertebrados o seres de mayor tamaño como los peces (Mancera, R. & Alvares, L., 2006).

Otra forma en la que se acumulan estas sustancias es por medio de la vegetación, lo cual puede tener tanto efectos negativos como positivos en el ecosistema. Las plantas, al absorber estos agentes tóxicos, actúan como filtros naturales. Sin embargo, cuando las concentraciones de contaminantes son elevadas, pueden provocar fitotoxicidad, afectando el crecimiento y la salud de las plantas, en algunos casos, estas mismas plantas pueden ser clave en procesos de fitorremediación, ayudando a reducir los niveles de contaminación en el suelo y agua. Estos organismos vivos forman parte de una amplia red trófica, donde su interacción con otros seres, como peces o descomponedores, puede afectar la dinámica del ecosistema, ya sea redistribuyendo los contaminantes o mitigando sus efectos. (Bhat, SA, et al., 2022).

Al mismo tiempo, algunos anfibios, peces y moluscos llegan a bioacumular arsénico (As) y otros metales pesados en diferentes concentraciones, lo que varía según la especie y el tipo de tejido que posean. En el caso de los anfibios, su piel permeable y húmeda facilita la absorción de

estos contaminantes del ambiente, lo que los hace especialmente vulnerables a la bioacumulación (Yang, F. et al., 2013). Esta característica, aunque les permite intercambiar gases y agua con el medio, los expone a mayores riesgos de toxicidad, afectando sus funciones fisiológicas y, en muchos casos, su supervivencia (Príncipe, C. et al 2014). Además, los seres humanos pueden entrar en contacto con estos contaminantes a través de diversas vías, como la inhalación, la ingestión o la absorción dérmica (Pinto, 2021).

La agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades de los Estados Unidos catalogó al arsénico, tanto en su forma inorgánica como orgánica, como altamente cancerígeno. Meoño et al. (2015) señalaron que el arsénico es uno de los metales pesados con mayor impacto en la salud pública, ya que su ingesta o exposición prolongada puede causar lesiones en la piel, trastornos neurológicos, diabetes mellitus y varios tipos de cáncer, como el pulmonar, de vejiga o de piel.

5. OBJETIVOS DEL PROYECTO

5.1 GENERAL

- Evaluar los efectos citotóxicos y genotóxicos del agua superficial del rio Pamplonita en los meristemos radiculares de *Allium cepa* en tres diferentes transectos de Pamplona – Norte de Santander

5.2 ESPECIFICOS

- Analizar los efectos citotóxicos del agua del rio Pamplonita a través del índice mitótico de los meristemos de *Allium cepa*
- Determinar la presencia de alteraciones cromosómicas en las células meristemáticas de *Allium cepa*
- Evaluar la conformidad de los parámetros fisicoquímicos del agua del río Pamplonita con los límites establecidos por la normativa ambiental colombiana vigente.

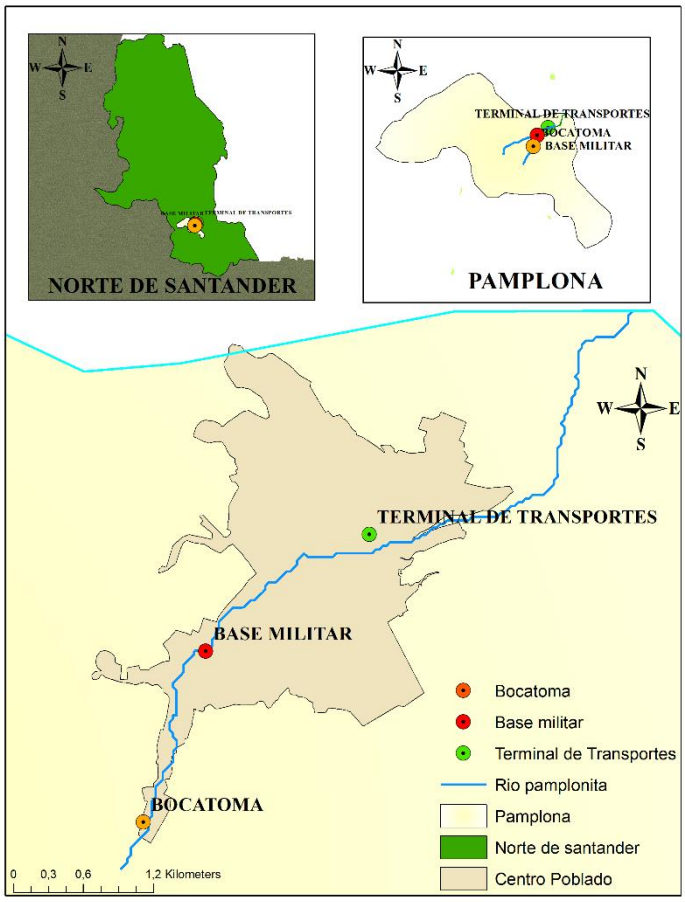
6. METODOLOGÍA

6.1. Área de estudio

Se establecieron tres transectos a lo largo del río Pamplonita (Figura 6), seleccionando sectores con distintos niveles de intervención antropogénica para representar diferentes perfiles del cuerpo de agua lótico. El primer sitio o estación de medición se encuentra ubicado en las coordenadas (N 07º22`31,2" W 072º38`34,7), cerca al terminal de transportes que recibe flujo vehicular, el segundo punto está situado 500 metros cerca a la base militar con vegetación principalmente conífera, y la tercera a una distancia de 1 km del primer punto, cerca de la bocatoma el Cariongo (N 07º21`11,2" W 072º39`38,4") ubicada en un afluente clave que contribuye al río Pamplonita, pero no forma parte del curso principal del río y está ubicado a las afueras del casco urbano, todas aproximadamente a un promedio de 3458 msnm.

Figura 6.

Mapa de la ubicación de las zonas de muestreo del rio Pamplonita en la ciudad Pamplona – Norte de Santander.



6.2. Muestreos

Se hizo un muestreo integrado donde se recogieron muestras de agua superficial en 1 emvase plástico de 5 L por sector, previamente esterilizados, que fueron llevados al laboratorio del semillero de Biología Molecular y Genética (BIOMOGEN). Los bioensayos con *A. cepa*, se realizaron según lo descrito por (Pathiratne, A et al., 2015) en condiciones de laboratorio en una zona sombreada.

6.3. Bioensayos de *Allium cepa*

Se seleccionaron cebollas (*Allium cepa*) de una tienda local del municipio de Pamplona, Norte de Santander, buscando uniformidad en forma, tamaño y peso, con un peso que osciló entre 150 g y 220 g. Previo al experimento, los bulbos fueron cuidadosamente preparados removiendo sus catáfilas secas y cualquier capa protectora dañada para exponer la zona meristemática basal.

Para cada una de las tres zonas de muestreo se dispusieron 15 bulbos de *A. cepa*, los cuales fueron expuestos a tres diferentes condiciones experimentales Tratamiento 1 con agua recolectada del río, tratamiento 2 con un control positivo, y el tratamiento 3 control negativo, en total de N=45 bulbos en total. Cada bulbo fue colocado en un recipiente plástico de 16 onzas, equipado con cuatro limpiadientes insertados para proporcionar soporte y estabilidad. A cada recipiente se le agregaron 250 mL de la solución correspondiente al tratamiento mencionado.

Los bulbos permanecieron expuestos durante 72 horas, tiempo suficiente para permitir el crecimiento radicular de aproximadamente 2 a 3 cm. Transcurrido este periodo, se les midió la longitud de las raíces. Posteriormente, se cortaron aproximadamente 3 mm de las puntas de las raíces para su procesamiento citogenético.

Las zonas de muestreo están representadas por la letra “Z” seguida de un número que indica el punto de recolección de la muestra, Z1 (Terminal), Z2 (batallón), Z3 (bocatoma). Los tratamientos previamente descritos, se identifican por la letra “T” y un número que indica el orden de exposición, ya sea al agua del rio o a los controles (positivo o negativo), T1 (agua de rio), T2 (control positivo con EMS), T3 (control negativo con agua destilada) (Tabla 4).

Por zona se colocaron 5 recipientes expuestas al agua del rio, otros 5 con agua destilada (Control negativo) y 5 con una solución de etilmetasulfonato (EMS) como mutágeno (Control positivo), (Figura7).

Tabla 4.

Tratamientos.

Tiempo	Zona	Tratamiento	Cantidad (Placas)
72 horas de exposición de los tratamientos	Z1 (Terminal)	T1	5 bulbos/agua de río
		T2	5 bulbos/EMS+
		T3	5 bulbos/agua destilada -
	Z2 (Batallón)	T1	5 bulbos/Agua de río
		T2	5 bulbos/EMS+
		T3	5 bulbos/agua destilada -
	Z3 (Bocatoma)	T1	5 bulbos/agua de río
		T2	5 bulbos/EMS+
		T3	5 bulbos/agua destilada -
	Controles	EMS control + / agua destilada control -	

Tabla 4. Cada tratamiento contó con cinco repeticiones, de las cuales se seleccionaron aleatoriamente tres para el análisis citogenético. De cada una de estas repeticiones se prepararon cinco laminillas, para un total de 15 placas por tratamiento. En conjunto, se analizaron 135 placas correspondientes a los tres tratamientos aplicados en las tres zonas de muestreo.

Figura 7.

Montaje del diseño experimental Bioensayos de Allium cepa.

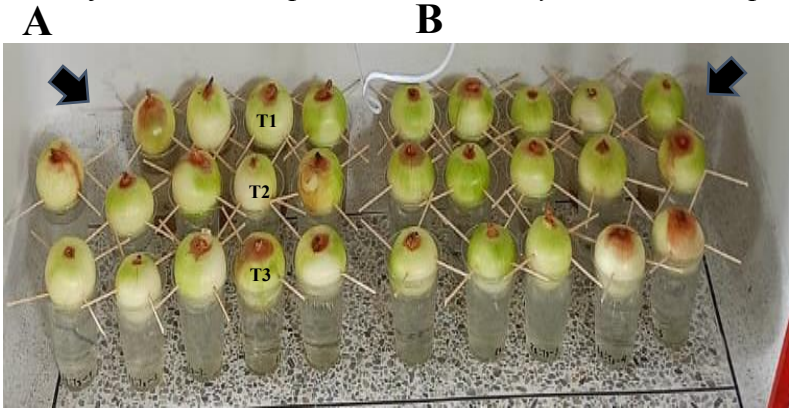


Figura 7. Montaje experimental con 5 repeticiones por tratamiento correspondiente a las zonas de muestreo A: Z1(Terminal) y B: Z2 (batallón), T1 (agua de rio), T2 (control positivo), T3 (control negativo), dispuestas en sus respectivas filas.

6.4. Tinción de células meristemáticas de *Allium cepa*

Las puntas de todas las raíces de *A. cepa* se fijaron en ácido acético al 3% por una noche, y se transfirieron a alcohol al 70% hasta ser analizadas, después se hidrolizaron las puntas en un eppendorf con HCl al 1 Normal (N) durante 6 minutos en baño maría a 56ºC, se lavó de 2 a 3 veces con agua destilada para retirar la solución hidrolizante y se seca con papel de cocina absorbente, para luego teñir con una solución de aceto-orceína.

Cada punta fue colocada en un portaobjetos agregando una gota de colorante aceto-orceína al 2%. Se colocó un cubreobjetos oprimiendo con firmeza para aplanar las células, se rotularon y posteriormente se observaron a 100x objetivo en Microscopio marca Primo Star Zeiss. Se realizó un conteo de 1500 células utilizando el programa Image J para calcular el índice mitótico (Leme, citado por Pathiratne, A 2015, P3).

6.5. Índice mitótico e índice de fase

Para determinar el Índice Mitótico (IM), se realizó un conteo de 1500 células por cada tratamiento utilizando el microscopio Primo Star Zeiss (campo de 100x) y el software Image J. Simultáneamente, para el Índice de Fase, durante este mismo conteo, se registró el número de células en cada etapa de la mitosis (profase, metafase, anafase, telofase) y en interfase. Ambos

índices se calcularon utilizando las ecuaciones presentadas en la (Figura 8) y la (Figura 9), siguiendo la metodología de Cumpa-Yupton & Zavala-De La Cruz (2018).

Figura 8.

Índice Mitótico (IM) ecuación.

$$IM = \frac{\text{Número de células en división}}{\text{Número de células totales}} \; x\; 100\%$$

Figura 9.

Índice de Fase (IF) ecuación.

$$IF \frac{\text{Número de células por fase mitótica}}{\text{Número de células en división}} \; x\; 100\%$$

6.6. Índice de anomalías cromosómicas

Para calcular este índice, se analizarán 1500 células por los tratamientos T1 (agua de rio), T2 (control positivo EMS) y T3 (control negativo agua destilada), con el objetivo de identificar los diversos tipos de anomalías cromosómicas y determinar qué tratamiento presenta una mayor incidencia. Para llevar a cabo esta evaluación, se utilizará la ecuación siguiente. (Figura 11)

Figura 10.

Índice de Anomalías Cromosómicas (IC) Ecuación.

$$IC = \frac{\text{Número de células anómalas}}{\text{Número total de células}} \; x\; 100\%$$

6.7. Análisis fisicoquímicos del agua del rio Pamplonita

En este estudio, dichos parámetros fueron analizados y se resumen en la (Tabla 5). Estos análisis fisicoquímicos fueron realizados por el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad de Pamplona, cada parámetro fue determinado utilizando técnicas instrumentales y metodologías estándar comúnmente aceptadas en el análisis de aguas. El pH se midió mediante potenciómetro digital, la conductividad eléctrica con conductímetro portátil, la turbiedad mediante turbidímetro, el color por método colorimétrico, los sólidos suspendidos por filtración y secado, la DQO mediante oxidación química con dicromato y lectura espectrofotométrica, y la DBO5 por incubación en condiciones controladas durante cinco días.

Tabla 5.

Parámetros fisicoquímicos.

Parámetros fisicoquímicos	
Químicos	**Físicos**
pH	Sólidos suspendidos (SST)
Demanda química de oxígeno (DQO)	Temperatura del Agua
Demanda biológica de oxígeno (DBO_5)	Color
Conductividad Eléctrica	Turbiedad

6.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en R Studio. Para determinar la significancia estadística de los datos citotóxicos y genotóxicos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, ya que los datos no cumplían con el supuesto de normalidad (evaluado mediante la prueba de Shapiro-

Wilk, $p<0.05$). Se realizó un análisis post hoc de Holm para identificar las comparaciones específicas y las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, controlando las tazas de error por comparaciones múltiples. Para analizar la proporción de fases mitóticas, se empleó un ANOVA seguido de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey. Las diferencias significativas en la longitud de las raíces se evaluaron mediante la prueba t de Student.

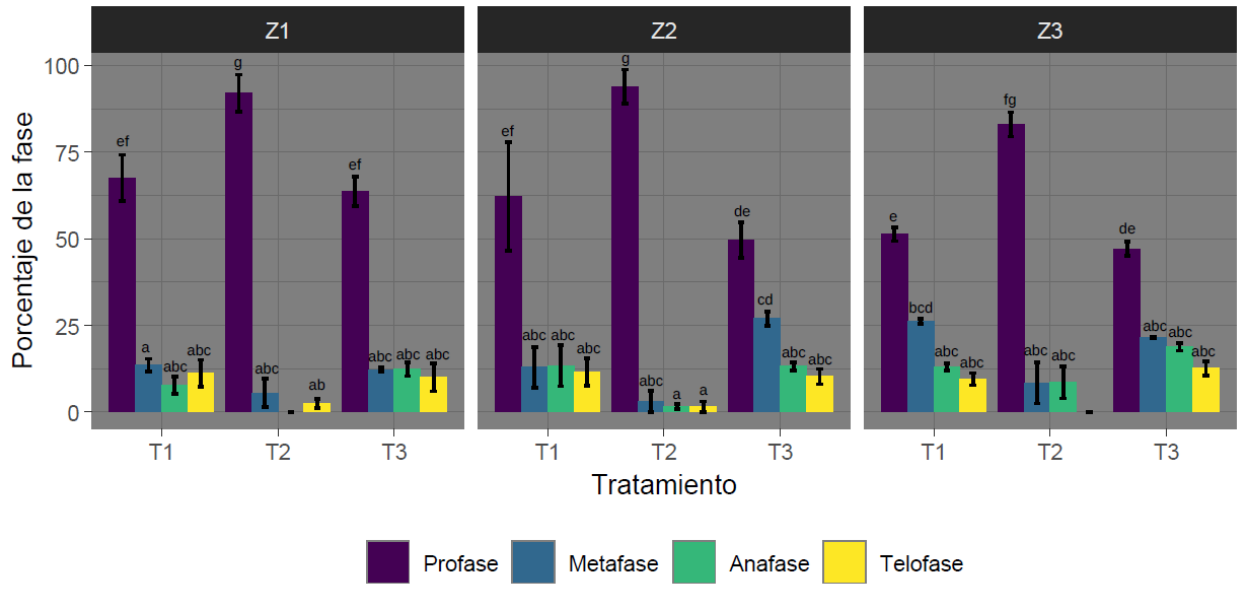
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Efectos citotóxicos del agua del rio pamplonita sobre el índice de fases y el índice mitótico de *A. cepa.*

Los meristemos apicales de *A. cepa* son ideales para el estudio de procesos celulares debido a sus células en mitosis. Cuando estas células son expuestas a sustancias tóxicas, como aquellas que afectan la mitosis y dañan el material genético, se altera su crecimiento y división celular, lo que resulta en daños tanto a nivel celular como cromosómico. A continuación, se presentan los resultados obtenidos tras la exposición de los bulbos de *A. cepa* durante tres días a aguas provenientes de las diferentes zonas Z1 (Terminal), Z2 (Batallón) y Z3 (Bocatoma), del río Pamplonita (Figura 11).

Figura 11.

Efecto citotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice de fases de A. cepa.



La Figura 11. Proporción celular promedio en profase (violeta), Metafase (azul), anafase (verde) y telofase (amarillo) para cada zona de muestreo, Z1 (terminal), Z2 (batallón) y Z3(bocatoma), y los tratamientos que corresponden a T1 (agua del río), T2 (control positivo con mutágeno) y T3 (control negativo con agua destilada), las letras minúsculas sobre cada fase indican los resultados de las pruebas post hoc de comparación múltiple: fases mitóticas que comparten la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas, mientras que aquellas sin letras en común sí difieren significativamente.

Los resultados evidenciaron efectos significativos en la distribución de las fases mitótica ($p < 0.0001$), indicando que hay diferencias estadísticas importantes en la distribución celular entre las fases y tratamientos. Los valores promedio ± desviación estándar (DE) de la proporción celular en cada fase, por zona y tratamiento, se presentan en la siguiente (Tabla 6). En general, la profase fue la fase con la mayor proporción celular en todos los tratamientos y zonas, con un valor máximo en el tratamiento T2, que alcanzó hasta un 93.88 ± 8.47 en la zona 2. Este aumento en la profase estuvo acompañado de una marcada reducción de las demás fases, (metafase, anafase y telofase), que no son estadísticamente significativos entre sí porque comparten la letra “a” pero si son estadísticamente significativas de la profase “g”. En algunos casos, como en la Zona 1 (Terminal) con el T2 (control positivo), no se observaron células en anafase, lo que sugiere un claro bloqueo en la progresión mitótica.

El análisis post hoc mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey confirmó el efecto inhibitorio del mutágeno (EMS) en las fases de la mitosis por parte del T2 (control positivo) en las tres zonas. Este tratamiento evidenció que hay diferencias significativas en la proporción de células en profase respecto a las otras fases mitóticas, y se evidenció porque a la profase se le asigno una única letra “g” en el análisis post hoc, lo que indica un claro bloqueo mitótico.

En contraste, los tratamientos T1 (agua de río) y T3 (control -) presentaron proporciones de fases mitóticos similares entre sí, lo cual fue confirmado por el análisis post hoc al compartir letras comunes entre sus fases. La similitud en las letras asignadas a sus fases nos indica que no hubo diferencias estadísticamente significativas en la dinámica mitótica entre T1 (agua de río) y T3 (control negativo), por lo tanto, bajo las condiciones experimentales evaluadas, la exposición del agua del río Pamplonita no produjo alteraciones citotóxicas significativas en la progresión de las fases mitóticas, similar al comportamiento fisiológico normal de *A. cepa.*

Además, en la zona 2 se observó una leve disminución en la proporción de células en anafase y metafase para los tratamientos T1 y T3 en comparación con las otras dos zonas, aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas, lo que se sugiere es que dichas variaciones pueden deberse a factores aleatorios o a un posible efecto leve no captado en este estudio.

Tabla 6.

Efectos citológicos del rio pamplonita sobre los índices de fase de las células meristemáticas de Allium cepa.

Tratamiento	Índice de profase (IP%)	Índice de metafase (IM%)	Índice de anafase (IA%)	Índice de Telofase (IT%)
Z1T1	67.52 ± 10.02	13.51 ± 3.13	7.44 ± 4.24	11.21 ± 6.83
Z1T2	91.98 ± 7.51	5.88 ± 6.24	0.00 ± 0.00	2.52 ± 2.35
Z1T3	63.05 ± 6.85	12.92 ± 1.05	12.37 ± 3.53	9.32 ± 6.23
Z2T1	62.88 ± 27.00	12.22 ± 11.44	13.37 ± 9.72	11.53 ± 6.90
Z2T2	93.88 ± 8.47	3.03 ± 5.22	1.57 ± 1.42	1.52 ± 2.63

Z2T3	49.53 ± 9.52	26.97 ± 3.98	13.19 ± 2.76	10.91 ± 3.36
Z3T1	51.97 ± 3.56	26.79 ± 1.32	13.03 ± 1.28	9.50 ± 2.92
Z3T2	82.32 ± 5.05	8.42 ± 10.71	8.60 ± 8.18	0.00 ± 0.00
Z3T3	47.10 ± 3.57	21.56 ± 0.55	18.76 ± 2.38	12.58 ± 3.54

Los datos de la tabla 6 se presentan como valores medios ± la Desviación estándar (DE) de la media analizados mediante ANOVA seguido de comparaciones múltiples (Tukey) con significancia $p<0,05$.

En la (figura 12) se puede observar las distintas imágenes de las fases mitóticas (Interfase, profase, metafase, anafase y telofase), en las muestras correspondientes al grupo control (-), se evidenció una alta proliferación celular, lo que sugiere que, en condiciones normales, la división mitótica ocurre de manera activa y continua. Estas imágenes confirman que, en ausencia de agentes citotóxicos, el ciclo celular progresa sin interferencias significativas, permitiendo un desarrollo mitótico claramente definido. En la (figura 13) se observan células meristemáticas en la etapa de profase y metafase de cada zona. Durante la profase, los centrómeros se mueven a los extremos de la célula y forman el huso mitótico, mientras los cromosomas se condensan y la membrana nuclear desaparece. En la metafase los cromosomas se alinean en el centro de la célula, formando la placa metafásica, mientras los microtúbulos del huso mitótico se conectan a sus centrómeros (Gehringer, 2010). En la (figura 14) Se pueden observar células meristemáticas en etapa de Anafase y Telofase. Durante estas fases de la mitosis suceden algunos acontecimientos. En primer lugar, en el anafase los cromosomas duplicados se separan en sus cromátidas hermanas, las cuales son arrastradas hacia polos opuestos de la célula por los microtúbulos del huso mitótico. En segundo lugar, en la telofase

las cromátidas llegan a los polos, se forman nuevas membranas nucleares alrededor de cada grupo y los cromosomas comienzan a des condensarse (Gehringer, 2010).

Figura 12.

Fases mitóticas de las muestras del control de los meristemos de A. cepa

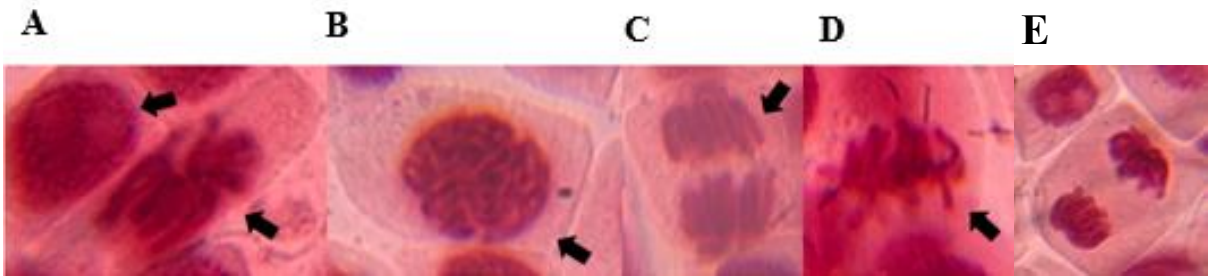
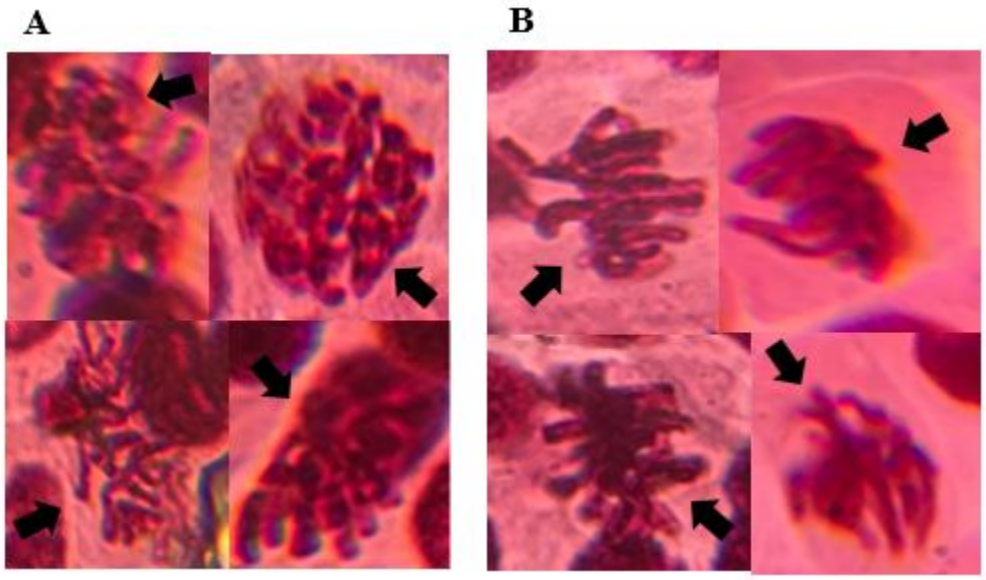


Figura 12. Las fases de la mitosis se indican con una flecha, interfase (A) profase (B), metafase (D), anafase (C) y telofase (E). A 100x de aumento del objetivo.

Figura 13.

Células meristemáticas en Profase y Metafase de los meristemos de A. cepa.



La figura 13. A) muestra células en las etapas de profase y B) metafase de cada una de las zonas experimentales.

Figura 14.

Células meristemáticas de A. cepa en Anafase y Telofase.

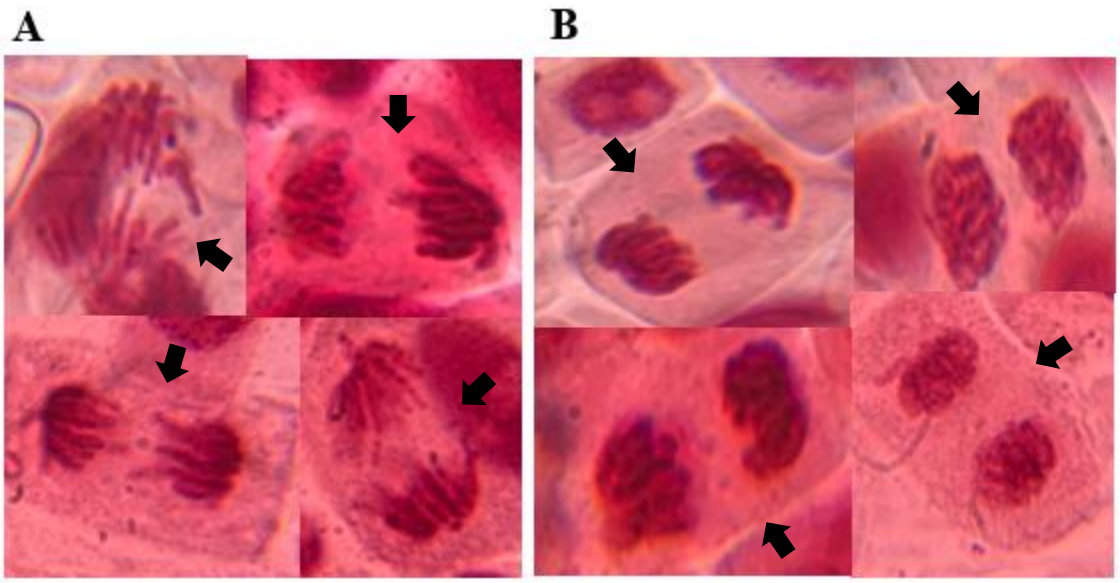
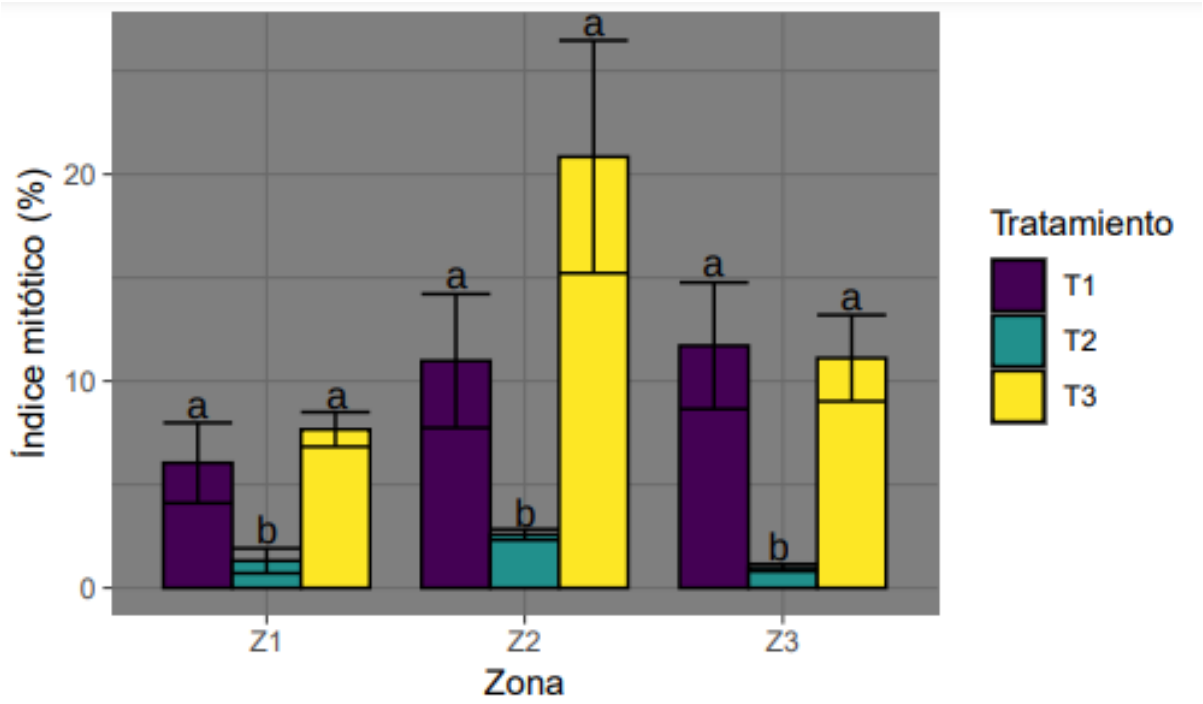


Figura 14. Células en dos etapas mitóticos: (A) anafase y (B) telofase, observadas en muestras de las tres zonas experimentales.

Figura 15.

Efecto citotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice mitótico en el meristemo de A cepa.



En la siguiente Figura 15. Valores promedio ± desviación estándar del índice mitótico, para los tratamientos T1 (agua del río), T2 (control positivo con EMS) y T3 (control negativo) en sus tres zonas escogidas, la significancia estadística está establecida por las letras “a” y “b”.

En cuanto al índice mitótico (IM), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0.000194$). Las diferencias principales se registraron entre el tratamiento T2 (control positivo) y T1 (agua del río, $p<0.0018$), así como entre T2 y T3 (control negativo, $p<0.0012$). No obstante, no se encontraron diferencias significativas en el índice mitótico entre T1 y T3 ($p<0.2500$), lo que sugiere que el agua del río no afectó significativamente este parámetro. Pese a que en la Zona 2 se registró un IM superior en T3 en contraste con T1, estas variaciones no fueron estadísticamente significativas, lo cual refuerza la conclusión de que, en términos generales,

el agua del río no causó una disminución significativa en el índice mitótico en comparación con el control negativo.

Los valores promedio de IM% (Tabla 7) variaron entre los tratamientos y zonas de muestreo, mostrando patrones consistentes con la naturaleza de cada tratamiento. Los tratamientos control positivo (T2), expuestos a etilmetanosulfonato (EMS), mostraron los valores más bajos de índice mitótico en todas las zonas evaluadas, con promedios de 1.31 ± 0.95 en Z1-T2, 2.58 ± 0.44 en Z2-T2 y 0.98 ± 0.31 en Z3-T2, reflejando el efecto inhibidor característico del EMS sobre la división celular. En cambio, los tratamientos con agua del río (T1) y el control negativo con agua destilada (T3) presentaron mayores niveles de actividad mitótica, siendo particularmente elevados en Z2-T3 con 20.84 ± 9.95, Z3-T3 con 11.11 ± 3.80 y Z3-T1 con 11.04 ± 5.58.

De igual modo, al examinar los resultados por zona, se observan particularidades importantes. En las zonas 1 y 3, los valores de IM% de los tratamientos con agua del río Z1 (Terminal) y T1(agua de rio) con 6.04 ± 3.39; Z3 (bocatoma) y T1 (agua de rio) con 11.04 ± 5.58, fueron similares a los observados en los respectivos controles negativos Z1-T3 con 7.66 ± 1.41; Z3-T3 con 11.11 ± 3.80, Sin embargo, en la zona 2, el valor de IM% para el control negativo Z2-T3 con valor de 20.84 ± 9.95 fue considerablemente más alto que el registrado en el tratamiento con agua del río Z2-T1 con 10.31 ± 5.96, lo que sugiere una posible diferencia biológicamente relevante que no alcanzó significancia estadística pero que debe ser destacada como posible indicio de variación localizada en la calidad del agua del río.

Estos resultados, concuerdan con lo expuesto por Barberio et al. (2009), quienes señalan que, en ciertas circunstancias, la presencia de agentes citotóxicos o genotóxicos no siempre se resulta en una reducción significativa del índice mitótico, esto debido a posibles mecanismos

adaptativos celulares o a alteraciones en la dinámica del ciclo celular, como lo pueden ser, bloqueos en fases tempranas.

7.2 Genotoxicidad en células meristemáticas de *A. cepa* mediada por agua del rio Pamplonita

Tabla 7.

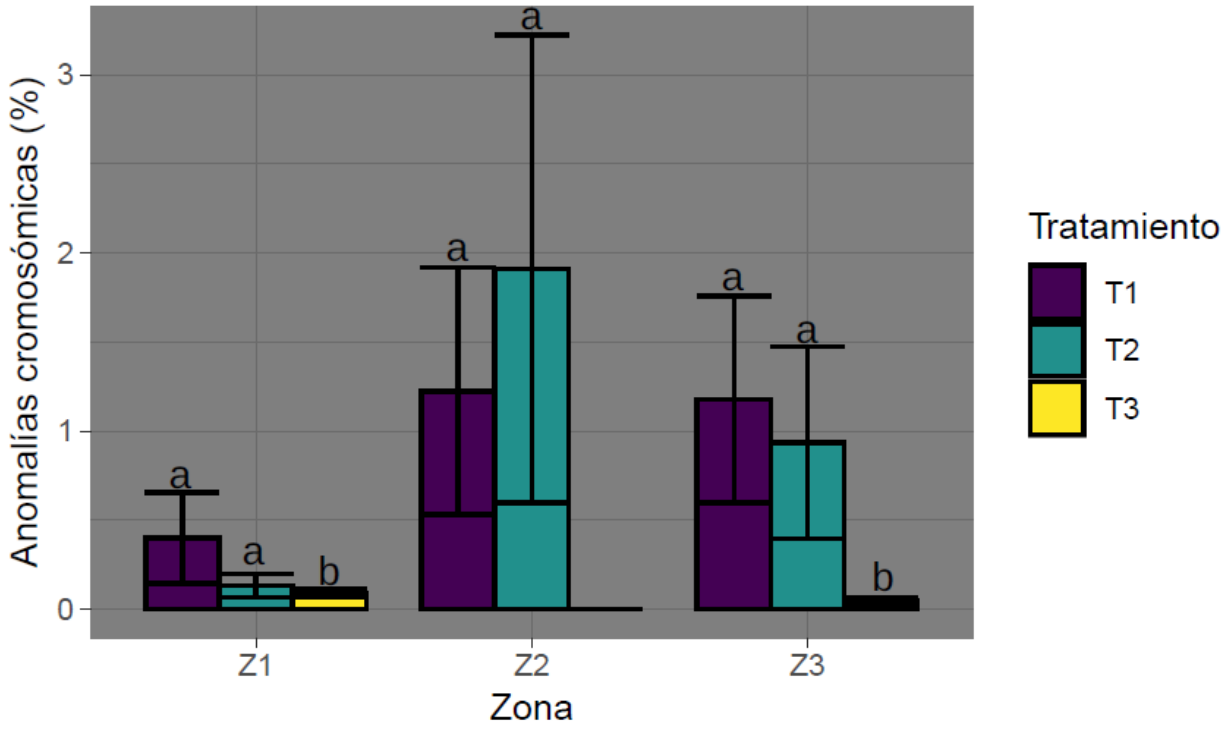
Efectos citotóxicos y genotóxicos del agua del río Pamplonita sobre las células meristemáticas de A. cepa

Tratamiento	IM%	IC%
Z1T1	6.04 ± 3.39	0.40 ± 0.43
Z1T2	1.31 ± 0.95	0.13 ± 0.12
Z1T3	7.66 ± 1.41	0.09 ± 0.03
Z2T1	10.31 ± 5.96	1.22 ± 1.21
Z2T2	2.58 ± 0.44	1.91 ± 2.42
Z2T3	20.84 ± 9.95	0.00 ± 0.00
Z3T1	11.04 ± 5.58	1.18 ± 1.11
Z3T2	0.98 ± 0.31	0.93 ± 0.87
Z3T3	11.11 ± 3.80	0.05 ± 0.04

Los datos de la tabla 7 se presentan como valores medios ± desviación estándar (DE) del Índice mitótico (IM%) y el índice de anomalías cromosómicas (IC%) analizados mediante ANOVA no paramétricos de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc de Holm. con significancia $p<0,05$, Z1 pertenece a la zona (terminal), Z2(batallón), Z3(bocatoma), con los respectivos tratamientos T1 (agua de rio), T2(control positivo EMS), T3(control negativo agua destilada).

Figura 16.

Efecto genotóxico del agua del rio Pamplonita sobre el índice de anomalías cromosómicas de A cepa.



En la Figura 16. Comparación del índice de anomalías cromosómicas (IC), en células meristemáticas de A. cepa expuestas a los tres tratamientos (T1: con agua del río Pamplonita, T2: control positivo con EMS, T3: control negativo con agua destilada), en tres zonas de muestreo, (Z1, Z2 y Z3), las letras “a” y “b” denotan la significancia entre grupos cuando son diferentes.

El daño genotóxico inducido por el agua del rio pamplonita fue evaluado mediante el índice de anomalías cromosómicas (IC%), que considera la frecuencia de las alteraciones morfológicas que se observan en las células meristemáticas de *A. cepa* expuestas a los diferentes tratamientos. El análisis evidencio diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.01$). Dentro de las anomalías identificadas se encontraron células binucleadas, puentes cromosómicos,

micronúcleos, cromosomas altamente condensados, irregularidades nucleares e indicios de lisis celular, entre otras alteraciones más. (Figura 17), las cuales son biomarcadores de genotoxicidad.

Esta prueba arrojó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos $p < 0.0091$, y el análisis nos muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre T3 (control -) representado con la letra "b" y T1 (agua de rio) con un $p<0.043$ con "a", y entre T3 y T2 (control + EMS) con un $P<0.011$. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre T1 "a" y T2 "a" $p < 0.825$, teniendo la misma denominación significativa. lo cual sugiere que la exposición al agua del rio Pamplonita produjo un efecto genotóxico comparable al efecto del agente mutágeno EMS.

También se observó que el T3 presento valores mínimos o nulos de anomalías cromosómicas en todas las zonas, por ejemplo, Z2-T3 obtuvo 0.00 ± 0.00, Z1-T3 obtuvo 0.09 ± 0.03, y el Z3-T3 0.05 ± 0.04, mientras que los tratamientos T1 y T2 mostraron mayores alteraciones como Z2-T2 con 1.91 ± 2.42 y Z3-T1 con 1.18 ± 1.11 reforzando la evidencia de un posible efecto genotóxico asociado a la calidad del agua del rio Pamplonita. El factor zona no mostró un patrón diferenciador claro, ya que los porcentajes obtenidos fueron similares en las tres zonas evaluadas. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Scotto et al. (2020), quienes mencionan que la composición química de cuerpos hídricos contaminados puede alterar significativamente la dinámica del ciclo celular y generar daño estructural al material genético de especies bioindicadores como *A cepa*.

Figura 17.

Anomalías cromosómicas encontradas en los meristemos de A. cepa.

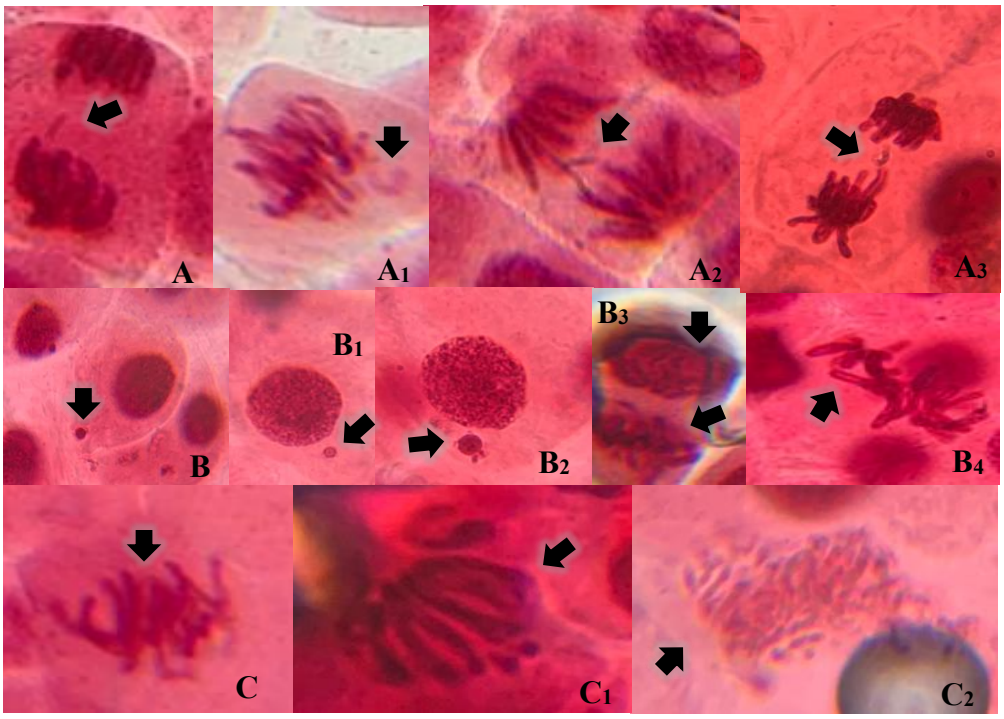


Figura 17. A) Anafase tardía con perdida cromosómica; A1) Metafase con pérdida de cromosómica; A2 y A3) Anafase con ruptura cromosómica; Zona 2 representado por la letra "B") MN tamaño pequeño; B1 al B2) MN de tamaño grande; La zona 3 en este caso "B3") célula binucleada de metafase. B4) Metafase con ruptura cromosómica; C y C1) metafase con adherencia cromosómica, C2) Ruptura celular en profase.

Figura 18.

Efecto genotóxico en la longitud de raíces de A. cepa.

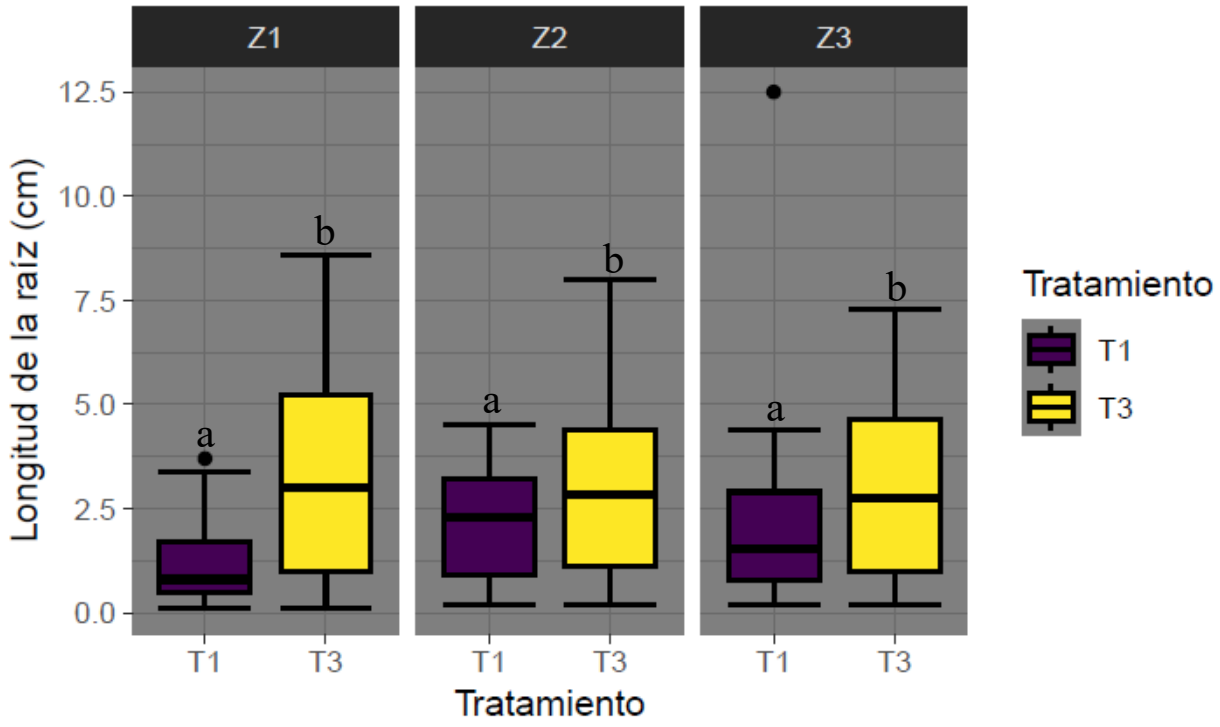


Figura 18. Raíces de *Allium cepa* expuestas al tratamiento con agua del rio Pamplonita (T1) y al control negativo con agua destilada (T3). Los datos se representan como el valor promedio y desviación estándar (DE), las letras "a" y "b" denotan la significancia entre grupos cuando son diferentes.

El tratamiento T2 con (EMS) fue excluido del análisis debido a la inhibición total del crecimiento radicular que fue no mayor de 0,3 cm. Se evaluó la longitud promedio de las raíces de *A. cepa* bajo dos condiciones experimentales ya antes mencionadas, los promedios observados fueron de 1.72 ± 0.06 para T1 y de 3.02 ± 2.1 para el T3, evidenciando una reducción aproximadamente del 43% en la longitud radicular bajo el tratamiento con agua del rio (T1), con

un $p < 0.0001$, lo cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa en la longitud de raíces entre los tratamientos T1 “a” y T3 “b”.

Según el análisis estadístico se evidencia la reducción del crecimiento radicular observada en T1 un efecto real y significativo. Teniendo en cuenta los resultados, esta diferencia sugiere que el agua de rio contiene sustancias o condiciones adversas que afectan el desarrollo normal de los tejidos meristemáticos de *A cepa*. La inhibición del crecimiento radicular puede interpretarse como una manifestación del estrés fisicoquímico, posiblemente causado por contaminantes presentes como pueden ser presencia de metales pesados, o desechos industriales en el agua. Por lo cual este hallazgo concuerda con lo reportado por Andrioli (2011), quien encontró una inhibición significativa del crecimiento de *A. cepa* expuesta a compuestos químicos tóxicos, reforzando la utilidad de este parámetro como un indicador sensible de toxicidad ambiental.

7.3. Parámetros fisicoquímicos y calidad el agua del río Pamplonita.

Tabla 8.

Parámetros fisicoquímicos del agua del río Pamplonita en tres zonas de muestreo en Pamplona, analizados en el laboratorio de control de calidad de la Universidad de Pamplona – Norte de Santander.

Parámetro	Unidades	Z3 bocatoma Rio Pamplonita	Z2 Batallón	Z1 Terminal	Norma Nacional
pH	Unidades de pH	7.2	7.01	7.6	5.0 a 9.0
Conductividad	µS/cm	74.6	72.8	185.6	1000
Turbiedad	Unidades Nefelométricas de turbiedad (NTU)	16.6	7.37	277	2

Color	Unidades colorimétricas (PCU)	102	43	442	15
SST	mg/l	17	9	60	1000
DQO	mg/l	32	55	117	25
DBO5	mg/l	20.1	34.6	73.7	5

Tabla 7. Z3 (Bocatoma), Z2 (Batallón) y Z1 (Terminal), comparados con la norma nacional permitida para cuerpos de agua. Tomado de (Torres, 2021; Saguino et al., 2019; Resolución 0631 del 2015).

Los resultados obtenidos para los parámetros fisicoquímicos analizados en los tres puntos del rio Pamplonita, nos muestra las diferencias altamente marcadas en casi todos los parámetros de la calidad del agua según la zona de muestreo exceptuando el valor de pH, que en cada una de las tres zonas se mantuvo dentro del rango permitido (5.0 a 9.0) para agua del rio según la Resolución 0631 de 2015, lo que indica condiciones neutras sin ninguna implicación inmediata sobre la acidez o alcalinidad del recurso. En cuanto a la conductividad, los valores oscilaron entre Z3 (74.6 µS/cm), Z2 (72.8 µS/cm) y Z1 (185.6 µS/cm) muy por debajo del límite máximo permitido de 1000 µS/cm, lo que sugiere una baja presencia de sales disueltas en cada zona. Sin embargo, la Zona 1 (terminal) presentó una conductividad de 185,6µS/cm, más del doble que las otras dos zonas, Z2 (batallón) y Z3(bocatoma), lo que nos indica una mayor carga iónica, probablemente esto se vea asociado a descargas residuales o urbanas.

La turbiedad fue uno de los parámetros más críticos. La Z1 registro un valor de 277 NTU, que sobrepasa ampliamente el límite permitido para el agua potable que es de 2 NTU, y evidencia una elevada presencia de sólidos en suspensión. Aunque la Z2 (7,37 NTU) y Z3 (16,6 NTU) tienen niveles bajos, igualmente exceden el límite normativo, lo que puede repercutir con la penetración

de la luz al cuerpo de agua y afectar los procesos fotosintéticos de todo organismo acuático. El color también mostró cifras elevadas, el valor más alto fue de la Zona 1 (terminal) con 442 UPC, seguido de la Z3 102 UPC y el Z2 con 43 UPC, cuando el valor límite permitido para el agua potable es de 15 UPC. Estos niveles elevados se podrían relacionar con la presencia de compuestos orgánicos en descomposición (aguas negras) o vertimientos industriales que, según Rodríguez, L.Y (2019), demostró que los desechos sanitarios son arrojados directamente al río Pamplonita por falta de una planta de tratamiento de agua residuales, lo que altera fuertemente en la calidad visual y química del recurso hídrico.

Los sólidos suspendidos totales (SST), todos los puntos de muestreos se mantuvieron dentro de los limites <1000 mg/L, donde nuevamente la Zona 1 reporto el valor más alto de 60 mg/L, donde probablemente haya una mayor carga de partículas en suspensión en comparación con las otras zonas. El DQO y el DBO5 todas las zonas se excedieron según los límites establecidos de DQO <25mg/L y DBO5 <5 mg/L, particularmente la Zona 1, la DQO alcanzo 117mg/L y la DBO5 fue de 73.7 mg/L, confirmando la presencia de un nivel alto de materia orgánica y una significativa carga contaminante biodegradable.

8. CONCLUSIONES

El índice mitótico (IM) de *A. cepa* no evidenció una reducción estadísticamente significativa en la mayoría de las zonas en comparación con el control negativo $p < 0.250$ lo que indica una ausencia de citotoxicidad de las fases mitóticas similares al control.

El agua del rio pamplonita T1 exhibió una clara genotoxicidad, que fue manifestada por el aumento significativo en la frecuencia de anomalías cromosómicas, tales como micronúcleos, células binucleadas, puentes cromosómicos, cromosomas condensados e indicios de lisis celular, este efecto fue comparable con lo inducido por el mutágeno del T2 control positivo con EMS, ya que no hubo diferencias significativas entre ellas $p < 0.825$, pero si con el control negativo T3 $p < 0.043$.

Adicionalmente, el agua del rio Pamplonita (T1) causó una inhibición significativa del crecimiento radicular en *A. cepa*, al comparar T1 (1.72 ± 0.06) con el control negativo T3 (3.02 ± 2.1), se observó una reducción del 43% en la longitud de las raíces. Esta diferencia significativa ($p < 0.0001$). Aunque la longitud de las raíces también se evaluó por zonas de muestreo, estas no arrojaron diferencias significativas, indicando un efecto inhibidor uniforme y sostenido en el rio, lo cual sugiere la presencia de componentes tóxicos en el agua independiente del punto de muestreo.

Estos hallazgos biológicos, fueron corroborados por los parámetros fisicoquímicos del agua. La turbiedad, el color, DQO y DBO5 excedieron considerablemente los limites normativos, especialmente en la Zona 1 (Terminal), Esta elevada carga contaminante es un fuerte indicio de los agentes responsables de los efectos genotóxicos y la inhibición del crecimiento observados, sugiriendo un riesgo ecológico y para la salud humana.

9. RECOMENDACIONES

Las futuras investigaciones deberían ir más allá del laboratorio. Para entender bien los efectos tóxicos en *A. cepa* bajo las condiciones reales del río Pamplonita, es clave diseñar bioensayos que incluyan variables como el caudal, la temperatura y las interacciones con otros contaminantes. También es importante añadir más parámetros fisicoquímicos y buscar contaminantes emergentes (como fármacos, pesticidas o metales pesados), cuantificando sus concentraciones. ´

Además, estos estudios deberían ser de mayor duración para evaluar los efectos acumulativos y crónicos del agua. Así, se podrán identificar puntos críticos y encontrar los umbrales donde las alteraciones cito-genéticas se manifiesten con más claridad. Por otro lado, aunque se evaluaron 3 diferentes zonas del río, se sugiere un muestreo más segmentado y especifico, especialmente en áreas con alta carga contaminante.

La inclusión de subzonas específicas cercanas a fuentes puntuales de contaminación (industriales, agrícolas o urbanas) permitiría establecer relaciones más directas entre origen del vertimiento y efectos biológicos.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akinboro, A., Mohammed, K., Rathnasamy, S., & Muniandy, V. R. (2011). Genotoxicity Assessment of Water Samples from the Sungai Dua River in Pulau Pinang, Malaysia, Using the *Allium cepa* Test. Tropical life sciences research, 22(2), 23–35.

Alexis, A., & Marlene, A. (2021). Efecto citotóxico por cobre en *Allium cepa* (Amaryllidaceae). Arnaldoa, 28(3), 727–746. https://doi.org/10.22497/arnaldoa.283.28315

Almeida, L. M., Bailão, E. F. L. C., Camilo-Cotrim, C. F., Soares, R. R., García, F. F., de Paula, M. I. M., & Lima, G. G. (2021). Conservación y monitoreo ambiental utilizando *Allium cepa* como indicador de contaminación de aguas superficiales: Una revisión narrativa. En *Aguas y Bosques: Desafíos para la Conservación y el Uso* (Vol. 1, pp. 174-191). Editorial científica digital.

Andrioli, N. B. (2011). *Evaluación de agentes químicos con potencial genotóxico en células meristemáticas de Allium cepa* [Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires]. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4922_Andriol

Arévalo Seijas, V. S. (2023). *Aplicación de tecnología móvil en el monitoreo biológico de calidad de agua: ciencia participativa en la Comunidad Campesina Cordillera Blanca*.

Arias, T. L., Peralta, V. F., Diana, D. M. F. D., Delgado, E. G., Márquez, F. S. A., Martínez, M. D. B., ... & Bareiro, C. G. M. (2016). Índices de calidad ambiental de aguas del Arroyo

Caañabe mediante tests microbiológicos y ecotoxicológico. *Revista Ambiente & Água*, *11*(3), 548-565.

Asimov, I., Caranci, C., & Sáez, C. (1983). *Los egipcios*. Alianza.

Ayala Salazar, C. J., & Vera Vasquez, G. (2020). *Macroinvertebrados acuáticos como bioindicadores y su relación con los parámetros fisicoquímicos de agua del río San Lucas, Cajamarca, 2018–2019*.

Bagatini, M. D., Silva, A. C. F. D., & Tedesco, S. B. (2007). The use of *Allium cepa* test as a bioindicator of genotoxicity of medicinal plants infusions. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *17*, 444-447.

Barbério, A., Barros, L. A. Y. R. A., Voltolini, J. C., & Mello, M. L. (2009). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. *Brazilian Journal of Biology*, *69*, 837-842.

Beltran Chaves, J. A., & Paz Jojoa, J. D. (2016). *Evaluación ecotóxica de un reactor de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales hospitalarias*.

Berrocal Huallpa, A. M. (2021). *Evaluación de la biotoxicidad de las aguas del río Ica, usando Allium cepa como bioindicador*.

Bhat, S. A., Bashir, O., Ul Haq, S. A., Amin, T., Rafiq, A., Ali, M., Américo-Pinheiro, J. H. P., & Sher, F. (2022). Fitorremediación de metales pesados en suelo y agua: Un enfoque ecológico, sostenible y multidisciplinario. *Chemosphere*, *303*(Pt 1), 134788. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134788

Bosio, S., & Laughinghouse IV, H. D. (2012). Bioindicator of Genotoxicity: The Allium cepa Test. InTech.

Campos, N. H. C. (1990). La contaminación por metales pesados en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. *Caldasia*, 231-243.

Castillo Morales, G. (Ed.). (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. IMTA.

Castro Camacho, L. A. (2024). *Análisis del potencial genotóxico del agua de consumo de la Loma–Cesar usando Allium cepa como modelo biológico*..

Cavadía, T., Roche, M., & Romero, R. (2019). Estimación de la genotoxicidad del río Sinú mediante un bioensayo con *Allium cepa* l. en Montería, Córdoba-Colombia. *Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, *16*(1), 174-184.

Centanni, M., Ricci, G. F., De Girolamo, A. M., et al. (2024). Modelado de pesticidas y evaluación de riesgos ecotoxicológicos en un río intermitente utilizando SWAT. *Scientific Reports*, *14*, 6389. https://doi.org/10.1038/s41598-024-56991-6

Chandra, S., Chauhan, L. K. S., Murthy, R. C., Saxena, P. N., Pande, P. N., & Gupta, S. K. (2005). Biomonitoreo comparativo de lixiviados de residuos sólidos peligrosos de dos industrias utilizando la prueba *Allium*. *Science of the Total Environment*, *347*, 46-52.

Cirelli, A. F. (2012). El agua: Un recurso esencial. *Quimica Viva*, *11*(3), 147-170.

Corzo Florez, V. (2022). *Evaluación integral de la calidad del agua del río Pamplonita a la altura del sector Agua Clara, como apoyo a la subdirección de cambio climático y recurso hídrico de la Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental* [Tesis de pregrado, Universidad Santo Tomás].

Cumpa-Yupton, C., & Zavala-de la Cruz, F. (2018). Determinación del índice mitótico de meristemos radiculares de *Allium cepa* expuestas al extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. *Sagasteguiana*, *1*(1), 29-38. https://revistas.unitru.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1774

da Silva Souza, T., de Souza, V. V., & Lascola, M. B. (2018). Assessment of surface water using *Allium cepa* test and histological analysis in *Rhamdia quelen*. *Environmental Monitoring and Assessment*, *190*(7), 420. https://doi.org/10.1007/s10661-018-6795-z

de la Lanza-Espino, G., & Pulido, S. H. (2000). *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores)*. Plaza y Valdés.

de Morais Amaral, A., Barbério, A., Voltolini, J. C., & Barros, L. (2006). *Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP-Brasil) através do teste Allium (Allium cepa)*.

Figueroa Villasagua, M. M. (2022). *Importancia del uso de tecnologías modernas para análisis de calidad del agua de riego para cultivos agrícolas* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo (UTB)].

Freyre, S., Estrada, M., & Bolaños, H. (2009). Estudio preliminar de la citotoxicidad y la genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*. *Memorias*, *5*(12), 12-17

García-Huamán, F. T., Torres Delgado, J., & Vergara Medrano, S. E. (2011). Calidad ecológica del agua del río Utcubamba en relación a parámetros fisicoquímicos y biológicos. *Revista de Investigación Científica Sciendo*, *14*(2), 7-19.

Gehringer, M. (2010). MITOSIS, CYTOKINESIS, MEIOSIS AND APOPTOSIS. *FUNDAMENTALS OF BIOCHEMISTRY, CELL BIOLOGY AND BIOPHYSICS-Volume II*.

Gelvez Suárez, D. (2020). *Determinación de factores de riesgo que inciden en la calidad del agua para consumo humano de la fuente de abastecimiento quebrada Monteadentro y la planta de tratamiento Cariongo del municipio de Pamplona* [Trabajo de Grado Pregrado, Universidad de Pamplona, Repositorio Hulago]. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/8580

Gonzales, M. (2009). *El agua en Egipto. ATL. El agua en la sociedad del conocimiento.*

Gonzales-Llontop, L. F., & Chico-Ruiz, J. (2021). Efecto bioprotector de Croton lechleri L.“sangre de grado” frente a la toxicidad del meloxicam en Allium cepa L.“cebolla”. *Revista Campus*, *26*(31).

Gualdrón Durán, L. E. (2016). *Evaluación de la calidad de agua de ríos de Colombia usando parámetros fisicoquímicos y biológicos*.

Hemachandra, C. K., & Pathiratne, A. (2017). Cytogenotoxicity screening of source water, wastewater and treated water of drinking water treatment plants using two in vivo test systems: *Allium cepa* root based and *Nile tilapia* erythrocyte based tests. *Water Research*, *108*, 320–329. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.009

Herrera, M. J. S. (2005). El índice biológico BMWP (Biological Monitoring Working Party score), modificado y adaptado al cauce principal del río Pamplonita Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, *3*(2), 54-67.

Iannacone, J., & Alvariño, L. (2005). Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. *Agricultura Técnica*, *65*(2), 198-203.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2024). *Informe anual sobre la calidad del agua en Colombia*. IDEAM. https://www.ideam.gov.co/informes-calidad-agua

Jacob, D., & Okokon, J. (2021). Physicochemical and heavy metals analysis of Udo Awankwo River in Ikot Ekpene, South-South, Nigeria. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, *10*(3), 392–398.

Lallana, V., Elizalde, J., Lallana, M. del C., Billard, C., Meucci, G., González, R., ... & Boschetti, G. (2007). Evaluación de la calidad de agua de arroyos de la Provincia de Entre Ríos. *Cuadernos del CURIHAM*, *13*, 9-17.

Lamsal, K., Ghimire, B. K., Sharma, P., Ghimiray, A. K., Kim, S. W., Yu, C. Y., ... & Shakya, S. R. (2010). Genotoxicity evaluation of the insecticide ethion in root of Allium cepa L. *African Journal of Biotechnology*, *9*(27), 4204-4210.

Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, *682*(1), 71–81. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002

López Hernández, G. A.; Sosa Medina, J. H. (2017). Proyecto de renovación de espacio público en torno Al Rio Pamplonita en la zona urbana del Centro Histórico de Pamplona N. S. [Trabajo de Grado Pregrado, Universidad de Pamplona]. Repositorio Hulago Universidad de Pamplona. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/2982

Malakahmad, A., Manan, T. S. B. A., Sivapalan, S., & Khan, T. (2018). Genotoxicity assessment of raw and treated water samples using *Allium cepa* assay: Evidence from Perak River, Malaysia. *Environmental Science and Pollution Research International*, *25*(6), 5421–5436. https://doi.org/10.1007/s11356-017-0721-8

Mancera-Rodríguez, N. J., & Álvarez-León, R. (2006). Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, *11*(1), 3-23.

Marcano, L., Carruyo, I., Montiel, X., Bracho, M., & Soto, L. (1999). Valoración del efecto tóxico del cadmio en células meristemáticas de cebolla *Allium cepa* L. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, *16*, 476.

Marqués, M. J., Martínez-Conde, E., & Rovira, J. V. (2001). Los macroinvertebrados como índices de evaluación rápida de ecosistemas acuáticos contaminados por metales pesados. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, *4*(1), 25-31.

Martins, L. P., Sampaio, J., Godoi, R. S., Vargas, L. K., Silva, F. R., & Beneduzi, A. (2022). Water quality assessment of the Demetrio stream: An affluent of the Gravataí River in the South of Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, *82*, e234692. https://doi.org/10.1590/1519-6984.234692

Martorell, J. J. V. (2010). *Biodisponibilidad de metales pesados en dos ecosistemas acuáticos de la costa Suratlántica andaluza afectados por contaminación difusa* [Tesis doctoral, Universidad de Cádiz].

Mejía Flórez, K. D. (2024). *Evaluación de la toxicidad con Allium cepa y Brassica oleracea a un proceso de fitorremediación en suelos contaminados con glifosato*.

Mena-Ulecia, K., Guanche, D., & Hernández, H. (2010). *Marcadores moleculares de estrés oxidativo como criterio ecotoxicológico en raíces de Allium cepa expuestas a aguas contaminadas del estuario del río Cojímar*.

Meoño, F. L., Taranco, C. G., & Olivares, Y. M. (2015). Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Saber y Hacer*, *2*(2), 8-25.

Mero, M., Pernía, B., Ramírez-Prado, N., Bravo, K., Ramírez, L., Larreta, E., & Egas, F. (2019). Concentración de cadmio en agua, sedimentos, *Eichhornia crassipes* y *Pomacea canaliculata* en el río Guayas (Ecuador) y sus afluentes. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *35*(3), 623–640. https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.03.09

Montalvão, M. F., Sampaio, L. L. G., Gomes, H. H. F., & Malafaia, G. (2019). An insight into the cytotoxicity, genotoxicity, and mutagenicity of smoked cigarette butt leachate by using *Allium cepa* as test system. *Environmental Science and Pollution Research International*, *26*(2), 2013–2021. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3731-2

Muñoz-Solarte, D. M., & Guerrero-Pepinosa, N. (2013). *Allium* test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. *Memorias*, *11*(19), 83-86.

Nunes, E. A., De Lemos, C. T., Gavronski, L., Moreira, T. N., Oliveira, N. C. D., & da Silva, J. (2011). Genotoxic assessment on river water using different biological systems. *Chemosphere*, *84*(1), 47–53. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.085

Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, *14*(27), 9-18.

Pathiratne, A., Hemachandra, C. K., & De Silva, N. (2015). Eficacia del sistema de prueba *Allium cepa* para detectar citotoxicidad y genotoxicidad de efluentes industriales provenientes de

diferentes actividades industriales. *Environmental Monitoring and Assessment*, *187*, 730. https://doi.org/10.1007/s10661-015-4954-z

Pérez, G. R. (2003). *Bioindicación de la calidad del agua en Colombia: Propuesta para el uso del método BMWP Col* [Tesis de pregrado, Universidad de Antioquia]..

Pesnya, D. S., & Bolotov, S. E. (2022). *Allium* test genotoxicity data on water from river valley of Irtysh, West Siberia. *Data in Brief*, *41*, [Artículo/páginas]. https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.107861

Piloto Rodríguez, R., Rodríguez Machín, L., Arteaga Pérez, L. E., Ronsse, F., Casas Ledón, Y., & Tobío Pérez, I. (2023). Procesos pirolíticos y catalíticos para la producción de bioenergía a partir de diferentes biomasas. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, *13*(4), e1477.

Pinto, C. L. G. (2021). *Interacciones tóxicas entre contaminantes ambientales y el hombre*. Notas de Campus.

Pirbazari, M., Borow, H. S., Craig, S., Ravindran, V., & McGuire, M. J. (1992). Physical chemical characterization of five earthy-musty-smelling compounds. *Water Science and Technology*, *25*(2), 81-88.

Principe, C. A., De la Cruz, R. H., Escalante, D. O., Elias, C. M., Rivera, J. S., Camacho, Y. S., & Aquino, A. C. (2024). *Efecto agudo y crónico de los metales pesados sobre anuros (Amphibia)*.

Quintero Salamanca, G. P., Quijano Parra, A., & Melendez Gelvez, I. (2018). Efecto genotóxico del agua residual de la curtiembre San Faustino-Norte de Santander-Colombia. *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, *2*(32), 8. https://doi.org/10.24054/16927257.v32.n32.2018.3021

Rendón, L. A. Q., Agudelo, E. A., Hernández, Y. A. Q., Gallo, S. A. C., & Arias, A. F. O. (2010). Determinación de indicadores para la calidad de agua, sedimentos y suelos, marinos y costeros en puertos colombianos. *Gestión y ambiente*, *13*(3), 51-64.

Rivas, E. J. G. (2023). Agua, crisis hídrica y otras misceláneas. *Interciencia*, *48*(7), 329-329.

Robledo, J., Chacón, E. A. V., & Álvarez, N. G. (2014). Aplicación del Sistema Holandés para la evaluación de la calidad del agua. Caso de estudio Lago de Izabal, Guatemala. *Revista Ingeniería Agrícola*, *4*(2), 15-21.

Rodriguez, L. Y. (2019). *Responsabilidad Social de la Empresa Empopamplona S.A. E.S.P. en referencia con la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Pamplona de Norte de Santander*. [Proyecto aplicado]. Repositorio Institucional UNAD. https://repository.unad.edu.co/handle/10596/31317

Romero Ariza, M. D., López, M., & Tutor, Á. (s.f.). *La importancia del agua en nuestro planeta*. Universidad de Jaén.

Sáenz Bohórquez, N. A. (2014). *Monitoreo de la calidad del agua en microcuencas utilizando drones y percepción remota. Caso de estudio: Río Teusacá, La Calera, Colombia.*

Salam, M. A., et al (2019). Water quality assessment of Perak River, Malaysia. *Pollution*, *5*(3), 637–648.

Samboni Ruiz, N. E., Carvajal Escobar, Y., & Escobar, J. C. (2007). *Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. Ingeniería e investigación*, *27*(3), 172-181.

Sanguino, R. A. M., Martinez, R. D. R., López, K. H., & Castilla, W. A. (2019*). Evaluación de la calidad del agua río Algodonal, tramo Abrego-Ocaña, Norte de Santander. Revista de Investigación*, *12*(1), 45-62.

Sardi, E. M. L., García, B. N., Larroudé, V., Picicelli, R., Reynoso, C. Y., & Martínez, E. R. (2016). Uso de *Allium cepa* test como indicador de eficacia para el tratamiento de efluentes. *Ciencia y Tecnología*, *16*, 81-89. (Asumiendo 16 es el volumen).

Scotto, C., Espino, R., Rondón, R., & Arriola, C. (2020). Xenobióticos contaminantes presentes en el agua del refugio de vida silvestre Pantanos de Villa (Distrito de Chorrillos) y en el humedal de Ventanilla (Distrito de Ventanilla) y su efecto sobre el crecimiento radicular y la composición cromosómica del ajo (*Allium sativum*) y de la cebolla (*Allium cepa*) utilizados como bioindicadores. *Ciencia y Desarrollo*, *23*(1), 23-38.

Sepúlveda Rivera, I., Molina Otárola, R., Delgado-Serrano, M. D. M., & Guerrero Ginel, J. E. (2015). Aguas, riego y cultivos: Cambios y permanencias en los ayllus de San Pedro de Atacama. *Estudios Atacameños*, (51), 185-206.

Shahin, S. A., & El-Amoodi, K. H. (1991). Induction of numerical chromosomal aberrations during DNA synthesis using the fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of Vicia faba L. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, *261*(3), 169-176.

Sierra-Zamora, P. A., Fonseca-Ortiz, T. L., & Sánchez-Tarazona, J. A. (2022). Análisis de la hidroestrategia y el derecho humano al agua en Colombia. *Revista Científica General José María Córdova*, *20*(37), 24-43.

Solano, I., & Rosalva, R. M. (2022). Evaluación del riesgo genotóxico de aguas superficiales y sistemas de riego mediante estudios ecotoxicológicos empleando células de raíces de *Allium cepa*. *Acta Nova*, *10*(4), 430–442. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1683-07892022000200430&script=sci_arttext

Tequia Diaz, K. V. (2017). Citotoxicidad y genotoxicidad de la mezcla de plaguicidas lorsban y dithane utilizados en el cultivo de papa en la provincia de Pamplona [Trabajo de Grado Pregrado, Universidad de Pamplona]. Repositorio Hulago Universidad de Pamplona. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/701

Toledo, A. (2002). El agua en México y el mundo. *Gaceta ecológica*, (64), 9-18.

Torres Castellanos, A. R. (2021). Determinación de la calidad del agua para consumo humano proveniente de las plantas de tratamiento *Cariongo y Monteadentro* y la red de distribución del municipio de *Pamplona,* Norte de Santander.

Valdelamar Villegas, J. C. (2021). *Riesgo ecotoxicológico y de elementos traza y metales pesados en matrices ambientales en zonas de importancia ambiental y económica de Colombia y Panamá* [Tesis doctoral, Universidad de Cartagena].

Velasco Mendoza, W. E., & Mejía Cruzado, D. P. (2021). *Proyecto de intervención social estrategias para la gestión del riesgo y prevención de desastres del sector del barrio Chichira Municipio de Pamplona Norte de Santander* [Trabajo de Grado Pregrado, Universidad de Pamplona, Repositorio Hulago]. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/1478

Yang, F., Zhang, H., Xie, S., Wei, C., & Yang, X. (2023). Concentraciones de metales pesados en agua, sedimentos y organismos acuáticos de una mina de rejalgar cerrada. *Environmental Science and Pollution Research International*, *30*(2), 4959–4971. https://doi.org/10.1007/s11356-022-22563-2