

Ecosistemas 34(2): 2865 [mayo-agostol / May-August, 2025] https://doi.org/10.7818/ECOS.2865

Editora asociada / Associate editor: Yosune Miquelajauregui

ecosistemas

ISSN 1697-2473

Open access / CC BY-NC 4.0 www.revistaecosistemas.net

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

# Evaluación de la genotoxicidad inducida por contaminantes presentes en aguas fluviales: un estudio con *Allium cepa* en el Cesar-Colombia

Grethel León-Mejía<sup>1,\*</sup> , Luz A. Castro-Camacho<sup>1,\*</sup>, Karen Franco Valencia<sup>1</sup> , Martha Ruiz-Benitez<sup>1</sup> , Julian Rodríguez Tapia<sup>1</sup> , Fredy Jose Torres Cantillo<sup>1</sup>

- (1) Universidad Simón Bolívar, Facultad de Ciencias Básicas, Centro de Investigaciones en Ciencias de la Vida (CICV), Barranquilla 080002, Colombia.
- \* Autoras para correspondencia / Corresponding author: Grethel León-Mejía [grethel.leon@unisimon.edu.co] / Luz A. Castro Camacho [luz.castroc@unisimon.edu.co]

> Recibido / Received: 23/09/2024 - Aceptado / Accepted: 27/03/2025

Cómo citar / How to cite: León-Mejía, G., Castro-Camacho, L.A., Franco Valencia, K., Ruiz-Benitez, M., Rodríguez Tapia, J., Torres Cantillo, F. J. 2025. Evaluación de la genotoxicidad inducida por contaminantes presentes en aguas fluviales: un estudio con *Allium cepa* en el Cesar-Colombia. *Ecosistemas* 34(2): 2865. https://doi.org/10.7818/ECOS.2865

# Evaluación de la genotoxicidad inducida por contaminantes presentes en aguas fluviales: un estudio con Allium cepa en el Cesar-Colombia

Resumen: Las actividades antropogénicas tienen un impacto significativo en los ecosistemas acuáticos en muchas regiones de Colombia. En este estudio, se evaluó la genotoxicidad del agua de dos ríos importantes de la región de La Loma – Cesar: el río Calenturitas y el río Cesar, utilizando el modelo biológico Allium cepa. Se recolectaron muestras de agua en diferentes puntos durante las épocas seca y lluviosa, realizando análisis macroscópicos y microscópicos para observar cambios en la viabilidad celular tras exposiciones de 24 y 48 horas. Los análisis químicos realizados mediante espectrofotometría de absorción atómica revelaron la presencia de mercurio y arsénico en el agua, lo que resultó en efectos adversos sobre el crecimiento y la división celular en A. cepa. Entre los hallazgos se destacan la disminución del índice mitótico, la formación de micronúcleos y la desintegración nuclear, indicativa de muerte celular. Además, se observó una reducción significativa en la longitud de la raíz y en el número de células que completaron la telofase. Estos resultados sugieren que los contaminantes presentes en los cuerpos de agua estudiados tienen un efecto genotóxico y citotóxico constante, independientemente de la variación estacional. La persistencia de estos contaminantes resalta la necesidad urgente de implementar medidas de control más rigurosas y estudiar los efectos a largo plazo en los ecosistemas acuáticos de la región.

Palabras clave: calidad del agua; contaminación; efecto antropogénico; índice mitótico; toxicidad

Evaluation of genotoxicity induced by some metals present in river waters: A study with Allium cepa in Cesar-Colombia

**Abstract:** Anthropogenic activities have a significant impact on aquatic ecosystems in many regions of Colombia. In this study, the genotoxicity of water from two major rivers in the La Loma region of Cesar – the Calenturitas River and the Cesar River – was evaluated using the biological model *Allium cepa*. Water samples were collected at different points during the dry and rainy seasons, and both macroscopic and microscopic analyses were performed to observe changes in cellular viability after 24 and 48 hours of exposure. Chemical analyses using Atomic Absorption Spectrophotometry revealed the presence of mercury and arsenic in the water, resulting in adverse effects on growth and cell division in *A. cepa*. Notable findings include a decrease in the mitotic index, formation of micronuclei, and nuclear disintegration, indicative of cell death. Additionally, a significant reduction in root length and in the number of cells completing telophase was observed. These results suggest that the contaminants present in the studied water bodies have a consistent genotoxic and cytotoxic effect, regardless of seasonal variability. The persistence of these contaminants highlights the urgent need for more stringent control measures and further studies on the long-term effects on the region's aquatic ecosystems.

Keywords: water quality; pollution; anthropogenic effect; mitotic index; toxicity

#### Introducción

El agua es un líquido vital en el planeta, esencial para la vida de todas las especies. Para las comunidades humanas, el acceso a agua de calidad es fundamental para garantizar la salud, la seguridad alimentaria y el bienestar general (Akhtar et al. 2021). La disponibilidad y la gestión adecuada del agua son cruciales para el desarrollo sostenible, ya que permiten la prosperidad de las poblaciones y la conservación de los ecosistemas (Akhtar et al. 2021).

Las actividades humanas, como la sobreexplotación de recursos, la deforestación y el vertido de residuos sin tratamiento pueden alterar los ecosistemas acuáticos. Estos efectos antropogénicos no solo dañan la flora y fauna, sino que también ponen en riesgo la salud de las comunidades humanas que dependen del agua limpia para beber, para aseo personal, para los cultivos y también realizar otras actividades esenciales (Sidabutar et al. 2017). La contaminación del agua es, por tanto, una amenaza tanto para el medio ambiente como para el bienestar humano, ya que muchos de estos contaminantes tienen alto potencial tóxico o genotóxico y pueden inducir daños importantes a la salud humana (Dourado et al. 2016; Miranda-Guevara et al. 2023)

Tanto la contaminación química, como la introducida por la minería y otras actividades industriales, pueden incorporar metales pesados y otros compuestos al agua, tales como mercurio (Hg), plomo (Pb), cadmio (Cd), arsénico (As), contaminantes orgánicos persistentes (COPs) y productos químicos utilizados en el procesamiento de minerales (Oubane et al. 2021). Además, la sedimentación causada por la minería y la deforestación puede contribuir a la erosión del suelo y la sedimentación en los cuerpos de agua, lo que produce directamente una alteración de los hábitats acuáticos, y reduce la calidad del agua al aumentar la turbidez y transportar contaminantes adheridos a los sedimentos (Kjelland et al. 2015). Otro problema es la eutrofización, que incluye la liberación de nutrientes como nitrógeno y fósforo desde fuentes como la agricultura intensiva y el procesamiento de minerales. Esto puede provocar el crecimiento excesivo de algas, la disminución de oxígeno en el agua y la alteración del ecosistema acuático (Kjelland et al. 2015; Wijeyaratne y Wadasinghe 2019a).

En el caso específico del área de estudio, la actividad minera de carbón a cielo abierto representa una de las principales fuentes de contaminación ambiental. Esta actividad, desarrollada intensivamente en la región del Cesar, libera metales pesados y material particulado que pueden ser transportados por el aire o el agua (León-Mejía et al. 2023a; Miranda-Guevara et al. 2023) hacia los ríos cercanos, como el Cesar y el Calenturitas. La disminución de la actividad pesquera artesanal, el deterioro de cultivos aledaños y las quejas comunitarias sobre afecciones respiratorias y dérmicas evidencian el impacto directo e indirecto de la contaminación minera sobre la calidad de vida local (Quiroz-Arcentales et al. 2013).

La contaminación del agua por actividades mineras puede generar efectos adversos en la salud humana debido a la exposición a metales tóxicos como el mercurio (Hg) y metaloides como el arsénico (As). Estos contaminantes están asociados con alteraciones neurológicas, daño renal, trastornos en el sistema inmunológico y efectos adversos en el desarrollo infantil, especialmente a nivel neurológico (Akhtar et al. 2021; Baines et al. 2021). Además, la exposición crónica a estos elementos puede incrementar el riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y trastornos reproductivos (Genchi et al. 2017; Kuo et al. 2022). Los impactos indirectos de la contaminación del agua también pueden afectar la seguridad alimentaria y la salud pública al comprometer la calidad del agua utilizada para consumo, riego y actividades pesqueras, lo que genera una cadena de efectos en los ecosistemas y las comunidades locales (Lu et al. 2015)

En la actualidad, diversos modelos biológicos han sido implementados para el análisis de contaminantes ambientales y estudios de monitoreo. Una de las especies más utilizadas para evaluar la contaminación ambiental es *Allium cepa*, comúnmente conocida como cebolla. Esta especie se ha destacado por su notable efectividad y sensibilidad para determinar el potencial genotóxico del agua y se considera un modelo biológico conveniente y robusto debido a varias características: su rápido ciclo de crecimiento, su facilidad de cultivo, su bajo costo y su alta sensibilidad (Pathiratne et al. 2015; Czarnek et al. 2023). *A. cepa* es un modelo ampliamente utilizado en estudios de genotoxicidad y citotoxicidad debido a su alta sensibilidad a contaminantes ambientales, su bajo costo, su fácil manipulación en laboratorio y la claridad de sus cromosomas grandes, lo que facilita el análisis de aberraciones cromosómicas y el índice mitótico (Czarnek et al. 2023; Pathiratne et al. 2015). Además, su uso está respaldado por la validación del protocolo y por muchas publicaciones a nivel internacional para evaluar el impacto de contaminantes en ecosistemas acuáticos y terrestres (Alias et al. 2023; Bonciu et al. 2018; Grant 1994; Leme y Marin-Morales 2009).

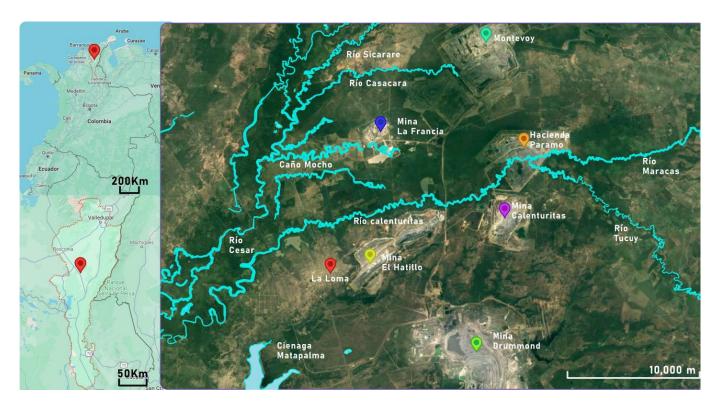
El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos genotóxicos de dos cuerpos de agua importantes en la Región de La Loma-Cesar en Colombia, usando *A. cepa* como modelo biológico, destacando su relevancia de uso para la detección temprana de contaminantes y para la formulación de medidas de mitigación y protección ambiental.

# Materiales y métodos

## Área de estudio

Esta investigación se llevó a cabo en el corregimiento de La Loma, municipio El Paso, en el departamento del Cesar, noroeste de Colombia (Fig. 1). En esta región, la contaminación del agua debido a las actividades antropogénicas y la explotación de carbón y oro ha tenido un impacto ambiental devastador.

Para realizar este estudio, se ubicaron tres puntos de muestreo en cada uno de los ríos cercanos a la Loma. El río Calenturitas está localizado a 20 kilómetros de La Loma y se encuentra al costado Oeste de la Serranía del Perijá, dentro del Departamento del Cesar. Tiene una distribución geográfica aproximadamente de 32 km y pertenece a una cuenca del río Cesar que nace a 7 km de la cabecera municipal de Becerril. Alrededor de este río se presentan grandes actividades de minería de carbón, ganadería y agricultura.



**Figura 1.** Mapa satelital de la Loma, Ubicación de la zona de estudio en el departamento del Cesar, Colombia (izquierda). Detalle de los cuerpos de agua destacando los ríos Calenturitas y Cesar y los complejos mineros cercanos (derecha). Fuente: Google maps, 2024.

**Figure 1.** Satellite map of La Loma. Location of the study area in the Cesar department, Colombia (left). Detailed view of the water bodies, highlighting the Calenturitas and Cesar rivers and the nearby mining complexes (right). Source: Google Maps, 2024.

También fue incluido el río Cesar, localizado a 10 kilómetros de La Loma. Esta proximidad implica una posible influencia significativa de las actividades humanas en la calidad del agua del río, debido a la cercanía de áreas agrícolas y mineras que caracterizan la región. El Río Cesar tiene una distribución geográfica aproximadamente de 310 km², surge al norte de Colombia, nace en las montañas de la sierra nevada de Santa Marta, en el municipio de San Juan del Cesar ubicado en el departamento de la Guajira, luego de esta distribución atraviesa el Cesar de norte a sur y desemboca en la Ciénaga de Zapatosa que está ubicada entre los municipios de Chimichagua, Tamalameque y El Banco.

#### Procesamiento de muestras de agua

Se colectaron 4 muestras de agua tanto en época lluviosa (agosto de 2023) como época seca (febrero de 2024) que fueron transportadas y almacenadas en el Laboratorio de Genética del Centro de Investigaciones Ciencias de la Vida (CICV) de la Universidad Simón Bolívar-Barranquilla. Estas muestras se mantuvieron a 4°C hasta su procesamiento. Posteriormente, se distribuyeron para dos análisis, el contenido de elementos químicos presentes y la otra parte para el análisis del índice mitótico, genotoxicidad y muerte celular.

#### Análisis de bulbos de Allium cepa

Durante el desarrollo de esta etapa, los bulbos de *A. cepa* fueron sometidos a un proceso de crecimiento de raíces en contacto directo con el agua recolectada de los ríos en estudio. Para garantizar la calidad del material biológico, los bulbos fueron adquiridos en una huerta ecológica certificada, asegurando que no hubieran sido expuestos a agroquímicos o contaminantes que pudieran interferir con los resultados del experimento.

Se utilizaron 30 bulbos por cada época de muestreo, los cuales fueron acondicionados para inducir el crecimiento radicular durante 72 horas. Durante este período, se realizó el cambio de agua cada 24 horas para evitar la acumulación de metabolitos que pudieran alterar el medio de exposición. Se seleccionaron específicamente las raíces como biomarcadores debido a su contacto directo con el medio acuoso y su alta tasa de división celular, lo que permite detectar alteraciones genotóxicas y citotóxicas de manera más sensible.

El tiempo de exposición a las muestras de agua de los ríos fue de 24 y 48 horas. Para el análisis, se emplearon 5 bulbos para cada punto de muestreo y 10 bulbos en total para los controles positivos (peróxido de hidrógeno  $(H_2O_2)$  al 10%) y negativos (agua destilada).

Para el análisis macroscópico, se midió la longitud de las raíces de cada bulbo (en centímetros) con la ayuda de una regla.

Para la realización del análisis microscópico después del periodo de exposición, se cortó una pequeña parte superficial del bulbo para remover la epidermis. Posteriormente, los bulbos se lavaron con agua, se secaron y se les añadió una pequeña

cantidad de alcohol para prevenir la proliferación de hongos o cualquier otro tipo de microorganismos. Con un bisturí previamente desinfectado, se cortó una porción de 5 a 8 mm de la punta de la raíz en crecimiento. Las raíces se colocaron en una cápsula de calentamiento y se cubrió la muestra con una gota de Orceína A. La cápsula se sujetó con una pinza y se llevó al mechero durante un máximo de 1 minuto, realizando un flameo rápido y evitando la ebullición del reactivo. Posteriormente, se retiraron las raíces y se hizo un montaje sobre un portaobjetos, se añadió una gota de Orceína B y se dejó actuar durante 1 minuto. Con papel absorbente se retiró el exceso de reactivo. Finalmente, se colocó un cubreobjetos y se aplicó una pequeña presión para formar una monocapa celular e implementar la técnica de squash sobre el extendido.

Las láminas, preparadas previamente, fueron examinadas bajo un microscopio óptico Leica DM 500. Durante esta fase, los análisis se realizaron con un aumento de 400x (objetivo de 40x) y 1000x (objetivo de 100x). Posteriormente se llevó a cabo un recuento de células en división mitótica (profase, metafase, anafase y telofase) en 10 campos para detectar posibles alteraciones citotóxicas y genotóxicas inducidas por las muestras de agua recolectadas. El índice mitótico fue utilizado como un marcador de actividad proliferativa celular, dado su eficacia en la detección de efectos tóxicos sobre el ciclo celular. Este parámetro constituye una medida de la proporción de células en división con respecto al total de células observadas. Esta métrica proporcionó un enfoque cuantitativo para evaluar el impacto de las muestras de agua recolectadas en la división celular del tejido meristemático de la raíz de *A. cepa*.

#### Fórmula para calcular el índice mitótico

$$IM = \frac{Número de células en mitosis}{Número total de células} X 100$$

Para el análisis del índice mitótico (IM), la muerte celular (desintegración nuclear) y la formación de micronúcleos, se examinaron 1000 células por portaobjeto, dos láminas por cada bulbo de cebolla.

#### Análisis de las muestras de agua por espectrofotometría de absorción atómica

Para el análisis de las muestras de agua, primero se filtraron para eliminar partículas en suspensión y se sometieron a una digestión ácida para liberar los metales y metaloides presentes. Se preparó un blanco utilizando agua destilada y soluciones estándar de concentración conocida para cada elemento de interés. El blanco se colocó en el espectrofotómetro para calibrar el cero del instrumento y se midió la absorción de las soluciones estándar para crear una curva de calibración.

Se nebulizó un pequeño volumen de la muestra (típicamente entre 1 y 10 ml) e introdujo en un tubo de grafito, el cual se calentó eléctricamente hasta atomizar la muestra utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica Nov 300. Se empleó el método de calibración por gráfico para el análisis La lámpara de cátodo emitió rayos de luz a la longitud de onda específica para cada elemento de interés (arsénico, cadmio, mercurio y plomo). Los rayos de luz pasaron a través de la llama aire-acetileno y los átomos libres de los metales y metaloides absorbieron parte de esta luz específica.

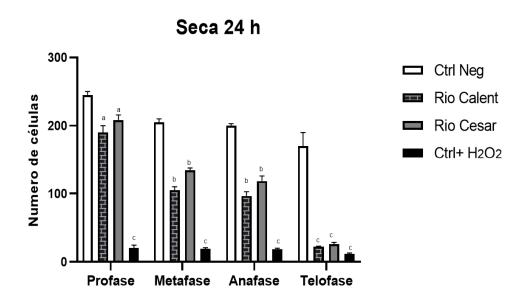
El detector midió la cantidad de luz absorbida, siendo esta absorción proporcional a la concentración del metal y metaloides en la muestra. Se midió la absorción de las muestras de agua de los diferentes puntos colectados y se compararon los resultados obtenidos con la curva de calibración para determinar la concentración de los elementos. Las mediciones se realizaron en triplicado para cada muestra, y la concentración promedio de metales y metaloides se mostró en mg/L tras la extrapolación a partir de la curva estándar. Los elementos analizados fueron arsénico (As), cadmio (Cd), mercurio (Hg) y plomo (Pb), seleccionados debido a su relevancia como contaminantes ambientales y su potencial efecto tóxico sobre los ecosistemas acuáticos.

# Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos en cada etapa del diseño metodológico se presentaron como la media  $\pm$  desviación estándar para cada una de las muestras de agua recolectadas. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad PRISM 8.0. En primer lugar, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la significancia de las diferencias entre los grupos. Posteriormente, para la comparación de los tratamientos con los controles, se empleó la prueba post hoc de Dunnett. En todos los casos, el nivel de significancia se estableció en p < 0.05, p < 0.01 y p < 0.001 en relación con el control negativo.

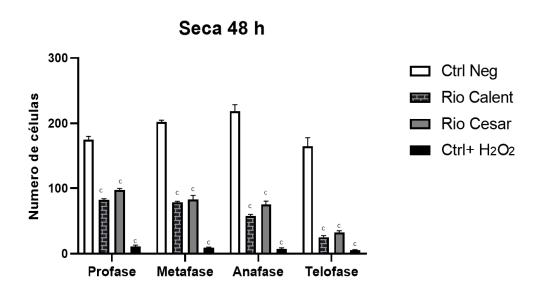
# Resultados

Para determinar el impacto del agua de los ríos Cesar y Calenturitas en la estabilidad genética, se realizaron ensayos de genotoxicidad utilizando *A. cepa* como organismo modelo. Como se observa en la **Figura 2**, tras 24 horas de exposición, se evidenció una reducción significativa en el número de células en todas las fases de la mitosis, con una marcada disminución en aquellas que alcanzaron la telofase, en comparación con el control negativo. En la **Figura 3** se muestran los efectos de la exposición de las muestras de agua colectada en época seca en los ríos Calenturitas y Cesar tras 48 horas de tratamiento. Comparando con la exposición de 24 horas, se observa una disminución aún más pronunciada en el número de células en cada fase de la mitosis, especialmente en la cantidad de células que lograron completar la telofase.



**Figura 2.** Número de células de *A. cepa* en época seca 24 h en las diferentes fases de la mitosis, profase, metafase, anafase y telofase, resultado de la exposición al agua de diferentes sitios colectados en la época seca (periodo de exposición: 24 h). Resultados presentados como media  $\pm$  desviación estándar. <sup>a</sup>Significativo p < 0.05; <sup>b</sup>Significativo p < 0.01; <sup>c</sup>Significativo p < 0.01 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

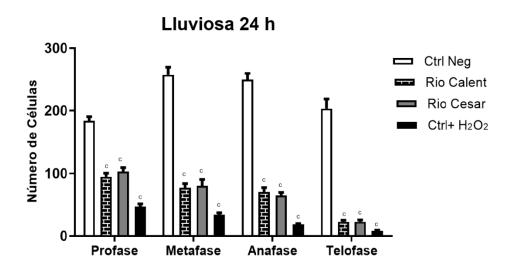
**Figure 2.** Number of *A. cepa* cells during the dry season (24h) in different phases of mitosis: prophase, metaphase, anaphase, and telophase, as a result of exposure to water from various collection sites during the dry season (exposure period: 24h). Results are presented as mean  $\pm$  standard deviation. <sup>a</sup>Significant p < 0.05; <sup>b</sup>Significant p < 0.01; <sup>c</sup>Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control = H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



**Figura 3.** Número de células de *A. cepa* en época seca 48 h en las diferentes fases de la mitosis, profase, metafase, anafase y telofase, resultado de la exposición al agua de diferentes sitios colectados en la época seca (periodo de exposición: 48 h). Resultados presentados como media  $\pm$  desviación estándar. <sup>c</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

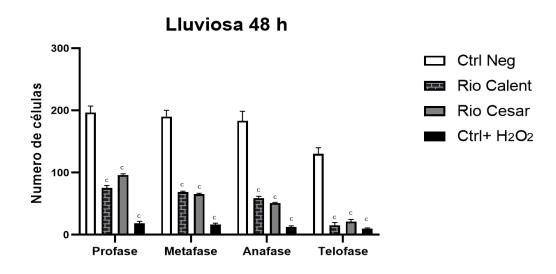
**Figure 3.** Number of *A. cepa* cells during the dry season (48h) in different phases of mitosis: prophase, metaphase, anaphase, and telophase, as a result of exposure to water from various collection sites during the dry season (exposure period: 48h). Results are presented as mean  $\pm$  standard deviation. <sup>c</sup>Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

Las **Figuras 4** y **5** ilustran los efectos de la exposición al agua recolectada durante la temporada de lluvias, con especímenes de *A. cepa* expuestos durante 24 y 48 horas, respectivamente. A lo largo del periodo de 48 horas, se observó nuevamente una reducción significativa en el número de células que alcanzaron las fases finales de la mitosis. Sin embargo, al comparar los efectos entre la temporada seca y la lluviosa, se evidencia que los resultados son comparables, sin una diferencia marcada entre ambas épocas. Asimismo, al analizar la diferencia entre los dos puntos de colecta, se encontró que los efectos en el número de células en cada fase de la mitosis, tras la exposición al agua de ambos ríos, también fueron comparables.



**Figura 4.** Número de células de *A. cepa* en época de lluvia 24 h en las diferentes fases de la mitosis, profase, metafase, anafase y telofase, resultado de la exposición al agua de diferentes sitios colectados en la época lluviosa (periodo de exposición: 24 h). Resultados presentados como media  $\pm$  desviación estándar. <sup>c</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

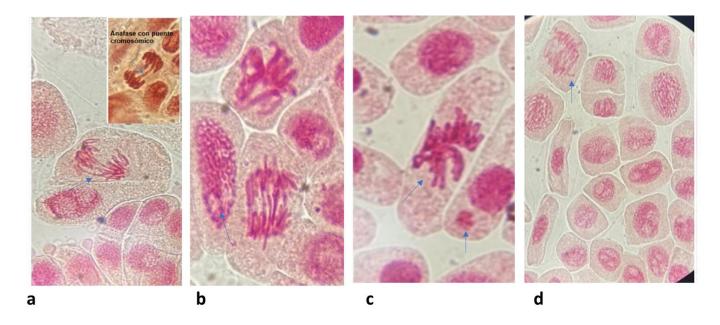
**Figure 4.** Number of *A. cepa* cells during the rainy season (24h) in different phases of mitosis: prophase, metaphase, and telophase, as a result of exposure to water from various collection sites during the rainy season (exposure period: 24h). Results are presented as mean  $\pm$  standard deviation. 'Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .



**Figura 5.** Número de células de *A. cepa* en época de lluvia 48 h en las diferentes fases de la mitosis, profase, metafase, anafase y telofase, resultado de la exposición al agua de diferentes sitios colectados en la época lluviosa (periodo de exposición: 48 h). Resultados presentados como media  $\pm$  desviación estándar. <sup>c</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

**Figure 5.** Number of *A. cepa* cells during the rainy season (48h) in different phases of mitosis: prophase, metaphase, anaphase, and telophase, as a result of exposure to water from various collection sites during the rainy season (exposure period: 48h). Results are presented as mean  $\pm$  standard deviation. Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

En las imágenes presentadas en la **Figura 6** se evidencian diversas alteraciones en las células meristemáticas de la raíz de *A. cepa* observadas en este estudio, tales como presencia de puente cromosómico, desintegración nuclear, presencia de cromosomas pegajosos, formación de micronúcleos y roturas cromosómicas. De manera interesante, al analizar el índice mitótico tras la exposición a las muestras de agua de los ríos (**Tablas 1** y **2**), se observó una disminución significativa en comparación con el control negativo, tanto en la temporada lluviosa como en la seca. Esta disminución fue especialmente pronunciada después de 48 horas de exposición, sugiriendo que la contaminación en estos cuerpos de agua tiene un efecto acumulativo adverso sobre la actividad mitótica en *A. cepa*.



**Figura 6.** Evidencias microscópicas de células meristemáticas de la raíz de *A. cepa* con aberraciones cromosómicas (1000x). **a**) anafase con puente cromosómico. **b**) Desintegración nuclear. **c**) Presencia de cromosomas pegajosos y formación de micronúcleo. **d**) Anafase con roturas cromosómicas.

**Figure 6.** Microscopic evidence of meristematic root cells of *A. cepa* with chromosomal aberrations (1000x). **a**) Anaphase with chromosomal bridge. **b**) Nuclear disintegration. **c**) Presence of sticky chromosomes and micronucleus formation. **d**) Anaphase with chromosomal breaks.

De manera similar, al evaluar la longitud de las raíces de *A. cepa* expuestas a las muestras de agua de los ríos (**Tablas 1** y **2**), se observó una reducción significativa en la longitud (cm) en comparación con los especímenes del control negativo, tanto en la temporada lluviosa como en la seca. Esta disminución en el crecimiento radicular fue más pronunciada tras 48 horas de exposición, lo que sugiere un efecto inhibidor acumulativo de los contaminantes presentes en el agua sobre el desarrollo radicular (Nunes et al. 2011).

**Tabla 1.** Parámetro del índice mitótico y longitud de las raíces de los bulbos de *A. cepa* expuestos a muestras de agua recolectadas en los diferentes grupos de estudio en la época seca. Los datos se presentan como media  $\pm$  DE. \*\*Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

**Table 1.** Mitotic index parameter and root length of *A. cepa* bulbs exposed to water samples collected from the different study groups during the dry season. Data are presented as mean  $\pm$  SD. \*\*\*Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

Periodo de exposición	Grupos de estudio	N	Índice mitótico	Longitud de la raíz (cm)
	Control negativo	5	47.3 ± 9.4	7.9 ± 1.2
24 h	Rio Calenturitas	5	10.5 ± 7.1***	$3.2 \pm 0.8^{***}$
	Rio Cesar	5	12.0 ± 5.5***	4.1 ± 0.9***
	Control positivo	5	8.5 ± 5.3***	3.0 ± 1.0***
48 h	Control negativo	5	33.9 ± 9.9	7.0 ± 1.3
	Rio Calenturitas	5	7.0 ± 5.8***	2.8 ± 1.0***
	Rio Cesar	5	8.4 ± 7.9***	$3.9 \pm 0.9^{***}$
	Control positivo	5	5.9 ± 3.5***	2.5 ± 1.7***

<sup>\*\*\*</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo = H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Tabla 2.** Parámetro del índice mitótico y longitud de las raíces de los bulbos de *A. cepa* expuestos a muestras de agua recolectadas de los diferentes grupos de estudio en la época lluviosa. Los datos se presentan como media  $\pm$  DE. \*\*\*Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

**Table 2.** Mitotic index parameter and root length of *A. cepa* bulbs exposed to water samples collected from the different study groups during the rainy season. Data are presented as mean  $\pm$  SD. Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

Periodo de exposición	Grupo de estudio	n	Índice mitótico	Longitud de la raíz (cm)
24 h	Control negativo	5	45.2 ± 10.1	9.0 ± 0.5
	Rio Calenturitas	5	10.9 ± 5.9***	$3.9 \pm 0.9^{***}$
	Rio Cesar	5	12.4 ± 6.7***	$4.8 \pm 0.5^{***}$
	Control positivo	5	9.1 ± 4.2***	3.2 ± 1.0***
48 h	Control negativo	5	39.2 ± 11.2	7.5 ± 1.0
	Rio Calenturitas	5	7.9 ± 3.6***	3.0 ± 1.6***
	Rio Cesar	5	$9.9 \pm 6.0***$	4.0 ± 1.5***
	Control positivo	5	6.8 ± 3.3***	2.9 ± 1.9***

<sup>\*\*\*</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo = H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Las **Tablas 3** y **4** presentan los resultados obtenidos durante las temporadas seca y lluviosa en relación con la formación de micronúcleos (**Figura 6c**). Se observó una notable inducción de micronúcleos en los bulbos expuestos al agua de ambas localidades, tanto después de 24 como de 48 horas de exposición. Del mismo modo, se registró una significativa muerte celular, evidenciada por la desintegración nuclear observada (**Tablas 3** y **4**).

**Tabla 3.** Parámetro de formación de micronúcleos y muerte celular en bulbos de *A. cepa* expuestos a muestras de agua recolectadas para los diferentes grupos de estudio en la época seca. Los datos se presentan como media  $\pm$  DE. \*\*\*Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

**Table 3.** Micronucleus formation and cell death parameters in *A. cepa* bulbs exposed to water samples collected for the different study groups during the dry season. Data are presented as mean  $\pm$  SD. Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

Periodo de exposición	Grupo de estudio	n	Formación de micronúcleos	Muerte celular (desintegración nuclear)
24 h —	Control negativo	5	0.9 ± 0.3	0.7 ± 0.3
	Rio Calenturitas	5	5.3 ± 3.3***	7.3 ± 5.4***
	Rio Cesar	5	4.2 ± 2.7***	6.7 ± 4.7 ***
	Control positivo	5	8.0 ± 6.4***	8.9 ± 4.9 ***
48 h —	Control negativo	5	1.0 ± 0.7	0.9 ± 0.2
	Rio Calenturitas	5	7.4 ± 2.7***	8.4 ± 6.5***
	Rio Cesar	5	5.3 ± 2.9***	7.6 ± 5.5 ***
	Control positivo	5	10.3 ± 5.9***	12.0 ± 7.8 ***

<sup>\*\*\*</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo = H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Tabla 4.** Parámetro de formación de micronúcleos y muerte celular en bulbos de *A. cepa* expuestos a muestras de agua recolectadas para los diferentes grupos de estudio en la época lluviosa. Los datos se presentan como media  $\pm$  DE. \*\*\*Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo =  $H_2O_2$ .

**Table 4.** Micronucleus formation and cell death parameters in A. cepa bulbs exposed to water samples collected for the different study groups during the rainy season. Data are presented as mean  $\pm$  SD. Significant p < 0.001 compared to the negative control; ANOVA, Dunnett's post hoc test. Negative control = water; Positive control =  $H_2O_2$ .

Periodo de exposición	Grupo de estudio	N	Formación de micronúcleos	Muerte (desintegración nuclear)
24 h	Control negativo	5	0.8 ± 0.5	0.5 ± 0.1
	Rio Calenturitas	5	4.4 ±2.2***	$6.4 \pm 3.3^{***}$
	Rio Cesar	5	$3.3 \pm 2.9^{***}$	5.5 ± 2.9***
	Control positivo	5	8.5 ± 5.3***	8.5 ± 6.2***
48 h	Control negativo	5	0.9 ± 0.6	0.8 ± 0.1
	Rio Calenturitas	5	7.0 ± 5.3***	7.8 ± 4.3***
	Rio Cesar	5	$4.0 \pm 3.0^{***}$	6.7 ± 3.5***
	Control positivo	5	9.8± 7.8***	10.2 ± 5.8 ***

<sup>\*\*\*</sup>Significativo p < 0.001 en relación con el control negativo; ANOVA, post hoc de Dunnett. Control negativo = agua; Control positivo = H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

El análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica (Tabla 5) reveló la presencia de elementos como arsénico (As) y mercurio (Hg) en el Río Calenturitas durante la temporada seca, mientras que en la temporada lluviosa se detectó únicamente mercurio. En el caso del Río Cesar, tanto en la temporada seca como en la lluviosa, se encontraron concentraciones de estos elementos que superan los límites permitidos para aguas de afluentes, lo que evidencia un grave problema de contaminación que persiste independientemente de las variaciones estacionales.

**Tabla 5.** Análisis por Espectrofotometría de absorción atómica de elementos químicos en las muestras de agua colectada en época seca y lluviosa en el Río Calenturitas y Río Cesar. Los valores son media ± DE.

**Table 5.** Analysis by Atomic Absorption Spectrophotometry of chemical elements in water samples collected during the dry and rainy seasons in the Calenturitas River and Cesar River. The values are mean  $\pm$  SD.

Localidad	Época del año	Elemento	mg/L
RÍO CALENTURITAS —	época seca —	Arsénico	<b>0.02</b> ± 0.001
		Cadmio	0.003 ± 0.01
		Mercurio	<b>0.003</b> ± 0.001
		Plomo	0.01± 0.003
	época lluviosa –	Arsénico	0.001 ± 0.00
		Cadmio	0.003 ± 0.001
		Mercurio	<b>0.002</b> ± 0.00
		Plomo	0.01± 0.001
RÍO CESAR —	época seca –	Arsénico	0.001 ± 0.00
		Cadmio	0.05 ± 0.001
		Mercurio	<b>0.002</b> ± 0.001
		Plomo	0.01± 0.00
	época lluviosa —	Arsénico	0.001 ± 0.00
		Cadmio	0.05 ± 0.002
		Mercurio	<b>0.002</b> ± 0.00
		Plomo	0.01 ± 0.001

Los valores son media ± DE

# Discusión

La alarmante presencia de contaminantes en cuerpos de agua representa una amenaza silenciosa para la biodiversidad y la salud humana (Lin et al. 2022). En este contexto, nuestro estudio se centró en la evaluación del potencial genotóxico del agua de los ríos Cesar y Calenturitas en la región de La Loma, Colombia, utilizando *A. cepa* como modelo experimental. Los resultados evidenciaron un impacto significativo en el crecimiento y la división celular de *A. cepa* tras la exposición al agua recolectada.

Estos resultados son consistentes con lo descrito por Ibáñez et al. (2022) sobre los efectos genotóxicos de aguas superficiales usadas para riego y de Nunes et al. (2011), quienes evaluaron muestras de agua recolectadas en un río bajo efectos de vertimientos y actividades antropogénicas.

Las alteraciones cromosómicas observadas en este estudio, como los puentes cromosómicos, desintegración nuclear, cromosomas pegajosos y formación de micronúcleos, han sido ampliamente documentadas como indicadores de daño genético (Kassa 2021). Las roturas cromosómicas pueden ocurrir cuando los agentes genotóxicos interfieren con la estructura del ADN, provocando la ruptura de la doble hélice durante la replicación o la división celular (Sabeen et al. 2020). Los cromosomas pegajosos son el resultado de la condensación anormal de la cromatina, a menudo debido a la acción de sustancias químicas que alteran las proteínas histonas o los enlaces en el ADN (Banti y Hadjikakou 2019; Kassa 2021; Wijeyaratne y Wadasinghe 2019a).

La desintegración nuclear observada en este estudio es indicativa de muerte celular (Sabeen et al. 2020), evidenciando el potencial genotóxico y citotóxico de los contaminantes presentes en el agua de los ríos estudiados. Además, los puentes cromosómicos en anafase son típicos de fusiones incorrectas entre cromosomas o entre fragmentos cromosómicos, lo que sugiere fallos en los mecanismos de reparación del ADN (Banti y Hadjikakou 2019; Kassa 2021). Estos puentes pueden generar tensiones mecánicas durante la división celular, lo que podría llevar a roturas adicionales y a la perpetuación del daño en las células hijas (Banti y Hadjikakou 2019; Wijeyaratne y Wadasinghe 2019b).

La reducción en la longitud de las raíces de *A. cepa* tras la exposición a las muestras de agua contaminada sugiere un efecto inhibidor acumulativo de los contaminantes sobre el desarrollo radicular (Nunes et al. 2011). Esta reducción no solo compromete la estabilidad y la absorción de nutrientes en las plantas, sino que también puede ser un indicador temprano de toxicidad ambiental, sugiriendo posibles efectos adversos sobre los ecosistemas acuáticos en su conjunto (Akinboro et al. 2011; Kassa 2021). No obstante, aunque el ensayo con *A. cepa* es una herramienta útil para detectar genotoxicidad, algunos estudios (Bonciu et al. 2018; Wijeyaratne y Wadasinghe 2019a; Alias et al. 2023) han señalado limitaciones en la extrapolación de estos hallazgos a organismos de mayor complejidad biológica. Esto resalta la necesidad de complementar estos resultados con estudios en otros modelos biológicos para obtener una visión más integral del impacto ambiental de estos contaminantes. Adicionalmente, la significativa inducción de micronúcleos en los bulbos expuestos al agua de ambas localidades refuerza la hipótesis de que los contaminantes presentes en estos cuerpos de agua pueden generar inestabilidad genética.

Ha sido ampliamente descrito que la formación de micronúcleos es un indicador clave de daño en el ADN y de posibles efectos mutagénicos (Banti y Hadjikakou 2019; Fenech et al. 2020). Asimismo, la desintegración nuclear observada sugiere pudo haber ocurrido un daño genético tan severo que activó los mecanismos de apoptosis. Este proceso es un mecanismo para eliminar células irreparablemente afectadas, previniendo así la proliferación de células con alteraciones genéticas que podrían comprometer la integridad del organismo (De Zio et al. 2013).

Otro punto importante en este estudio fue evaluar si existían variaciones en la concentración de contaminantes dependiendo de la época seca o lluviosa. Aunque se podría pensar que durante la época lluviosa los contaminantes provenientes de actividades antropogénicas se diluyen más debido al aumento del caudal de los ríos y, por ende, se esperarían menores efectos, los hallazgos indicaron lo contrario. Esto podría deberse a varios factores. En primer lugar, es posible que, aunque haya una mayor dilución de contaminantes individuales, el aumento del volumen de agua también arrastre una mayor cantidad de contaminantes desde diversas fuentes, resultando en una carga total elevada de sustancias nocivas. Además, ciertos contaminantes, pese a su dilución, pueden mantener su capacidad de interferir en procesos biológicos críticos como la división celular, tal como ha sido reportado por otros estudios (Dutta et al. 2018; Kassa 2021).

Otro factor a considerar es la posibilidad de un vertimiento constante de contaminantes que ocurre independientemente de la época del año. Esto sugiere que, incluso con la dilución adicional en la temporada lluviosa, la presencia continua de estas sustancias tóxicas puede seguir siendo suficientemente alta como para provocar efectos adversos significativos. Este fenómeno también podría estar influenciado por la presencia de contaminantes persistentes o bioacumulativos que no se diluyen fácilmente o que incluso pueden concentrarse en ciertos ambientes acuáticos (Pelcová et al. 2022). Además, la interacción entre diferentes tipos de contaminantes en condiciones de mayor caudal podría generar nuevos metabolitos tóxicos o sinergias que intensifiquen los efectos nocivos sobre las células (Lin et al. 2022).

La presencia de mercurio y arsénico en estas aguas es alarmante debido a sus efectos tóxicos y persistentes en la salud ambiental y humana. El mercurio es un potente neurotóxico que se libera al ambiente principalmente a través de la minería de oro y carbón, acumulándose en los ecosistemas acuáticos en forma de metilmercurio, una de sus formas más tóxicas (Novo et al. 2021). Este compuesto se bioacumula en la cadena alimentaria, afectando gravemente a los organismos acuáticos y provocando daños neurológicos en humanos, especialmente en niños y fetos (Al-Sulaiti et al. 2022). En Colombia, la minería ilegal de oro utiliza mercurio para amalgamar el oro, liberando este metal tóxico al medio ambiente (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible 2018). Como agente genotóxico, el mercurio puede inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), causando daño en el ADN, proteínas y lípidos, lo que puede llevar a mutaciones y muerte celular. También puede unirse al ADN, alterando su estructura y afectando la replicación y reparación, lo que puede resultar en mutaciones carcinogénicas o

teratogénicas (Wyatt et al. 2017). Asimismo, se ha asociado con alteraciones en la expresión génica y la inducción de aberraciones cromosómicas, contribuyendo al desarrollo de cáncer y defectos congénitos (Harding et al. 2018; Muñoz et al. 2023).

El arsénico, por su parte, es un metaloide tóxico que ingresa a los ríos tanto por procesos naturales como la erosión, como por actividades humanas, incluyendo la minería y el uso de pesticidas. En los ecosistemas acuáticos, afecta a los organismos al interferir con su metabolismo y provocar estrés oxidativo, reduciendo así las poblaciones de especies (Fatoki y Badmus 2022). En humanos, la exposición al arsénico, especialmente a través del agua contaminada, puede causar cáncer de piel, pulmón, vejiga y riñón, además de problemas cardiovasculares y neurotóxicos (Jomova et al. 2011). Su acción genotóxica incluye la inhibición de la reparación del ADN, alteraciones en la metilación del ADN y efectos en la división celular, lo que conduce a anomalías cromosómicas y proliferación celular descontrolada (Ganapathy et al. 2018; Huang et al. 2019).

El impacto de la presencia de estos contaminantes en el agua puede repercutir significativamente en la economía y las actividades de la población local, afectando tanto la salud humana como la sostenibilidad de los recursos naturales. En el corregimiento de La Loma se desarrollan diversas actividades socioeconómicas, predominando la agricultura con cultivos de arroz, maíz y palma de aceite, así como la minería de carbón, la ganadería y la pesca artesanal de subsistencia (Gutierres Moreno et al. 2011). Los habitantes han reportado una disminución significativa en la producción ictiológica, lo que impacta negativamente la seguridad alimentaria y la economía local. La contaminación derivada de la minería de carbón ha contribuido a la reducción de peces, llevando al abandono progresivo de esta actividad en algunos sectores debido a la escasez y la percepción de riesgo asociado al consumo de peces contaminados (Gutierres Moreno et al. 2011). Además, se han registrado denuncias de la comunidad sobre irritaciones cutáneas y afecciones respiratorias, lo que podría estar relacionado con la exposición prolongada a metales pesados y material particulado derivado de actividades mineras (León-Mejía et al. 2023a; León-Mejía et al. 2023b).

Otros factores que contribuyen a la presión sobre los cuerpos de agua incluyen los vertimientos de aguas residuales domésticas e industriales, desechos de la minería y operaciones de maquinaria pesada, además de las aguas procedentes de lagunas de oxidación de municipios cercanos a los ríos Cesar y Calenturitas (Gutierres Moreno et al. 2011). Se ha identificado también un modelo agropecuario intensivo, en el que el uso rutinario de agrotóxicos genera un arrastre constante de estos compuestos hacia los cuerpos de agua a través de la escorrentía (Gutierres Moreno et al. 2011).

Estos hallazgos se enmarcan en el contexto global del Antropoceno, una era caracterizada por la intensa influencia de las actividades humanas sobre los ecosistemas (Willcock et al. 2023). La contaminación detectada en esta región, resultado de prácticas extractivas y agroindustriales, refleja un patrón observado en diversas geografías donde se compromete la estabilidad de los sistemas eco-sociales y la capacidad de regeneración de los recursos hídricos. En este sentido, la región analizada puede ser considerada una "zona de sacrificio", dado que es un territorio sometido a una presión ambiental sostenida debido a actividades económicas que priorizan el beneficio inmediato sobre la sostenibilidad a largo plazo (Rozo Castillo 2021). La persistencia de contaminantes en los ríos Cesar y Calenturitas pone en evidencia cómo las economías extractivas no solo afectan la biodiversidad local, sino que también contribuyen al deterioro de los límites planetarios, amenazando la salud de los ecosistemas y, en última instancia, la continuidad de la vida en estas comunidades.

# Conclusión

La exposición de *A. cepa* al agua contaminada de estos ríos, con niveles significativos de mercurio y arsénico, resultó en una disminución del índice mitótico, formación de micronúcleos, desintegración nuclear (indicativo de muerte celular), disminución de la longitud de la raíz y reducción en el número de células que completaron el ciclo celular, en comparación con los controles. Estos hallazgos destacan el impacto genotóxico y citotóxico de los contaminantes presentes en los cuerpos de agua analizados, los cuales derivan de diversas actividades antropogénicas como la minería de carbón y oro, el uso intensivo de agroquímicos en cultivos de arroz, maíz y palma de aceite, el vertimiento de aguas residuales domésticas e industriales, y la ganadería extensiva.

La confluencia de estas actividades en la región parece haber generado niveles significativos de mercurio y arsénico en los cuerpos de agua locales, persistiendo estos niveles elevados incluso durante la época lluviosa. Esto sugiere que los procesos de contaminación son tan extensos que mantienen concentraciones altas de tóxicos independientemente de las variaciones estacionales en el volumen de agua. Estos resultados resaltan la necesidad urgente de implementar medidas de control más estrictas, así como la importancia de investigar los efectos a largo plazo de la exposición a estos contaminantes en los ecosistemas acuáticos de Colombia.

# Contribución de los autores

León-Mejía, G.: análisis formal, conceptualización, investigación, metodología; Castro-Camacho, L.: curaduría de datos, redacción del borrador original, revisión y edición; Franco Valencia, K.: análisis formal, conceptualización, revisión y edición; Ruiz-Benítez, M.: administración del proyecto, adquisición de fondos y recursos, conceptualización; Rodríguez Tapia, J.: investigación, metodología, revisión y edición; Torres, F.: conceptualización, revisión y edición, supervisión.

# Disponibilidad de datos

Los datos que respaldan los resultados presentados en este estudio forman parte de la tesis de maestría de Luz Adriana Castro Camacho. Esta tesis se encuentra disponible en el repositorio institucional de la Universidad Simón Bolívar y puede consultarse en el siguiente enlace: https://hdl.handle.net/20.500.12442/15210

# Financiación, permisos requeridos, potenciales conflictos de interés y agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Universidad Simón Bolívar de Barranquilla, Colombia. No se requirieron permisos específicos para la realización de esta investigación. Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Agradecemos a los líderes sociales pertenecientes a la Junta de Acción Comunal de La Loma, Cesar, por su valiosa colaboración en la identificación de los sitios de toma de muestras y su orientación en el desarrollo de este trabajo.

## Referencias

- Akhtar, N., Syakir, M.I., Bhawani, S.A., Umar, K. 2021. Various Natural and Anthropogenic Factors Responsible for Water Quality Degradation: A Review. *Water* 13(19) 2660. https://doi.org/10.3390/w13192660
- 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.
- Alias, C., Feretti, D., Viola, G.V.C., Zerbini, I., Bisceglie, F., Pelosi, G., Zani, C., et al. 2023. Allium cepa tests: A plant-based tool for the early evaluation of toxicity and genotoxicity of newly synthetized antifungal molecules. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 889 503654. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503654
- Al-Sulaiti, M.M., Soubra, L., Al-Ghouti, M.A. 2022. The Causes and Effects of Mercury and Methylmercury Contamination in the Marine Environment: A Review. Current Pollution Reports 8(3) 249–272. https://doi.org/10.1007/s40726-022-00226-7
- Baines, C., Lerebours, A., Thomas, F., Fort, J., Kreitsberg, R., Gentes, S., Meitern, R., et al. 2021. Linking pollution and cancer in aquatic environments: A review. *Environment International* 149 106391. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106391
- Banti, C., Hadjikakou, S. 2019. Evaluation of Genotoxicity by Micronucleus Assay in vitro and by Allium cepa Test in vivo. BIO-PROTOCOL 9(14). https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3311
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C.S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M.C., Liu, D., Menicucci, F., et al. 2018. An evaluation for the standardization of the Allium cepa test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia* 71(3) 191–209. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496
- Czarnek, K., Tatarczak-Michalewska, M., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Jafernik, K., Majerek, D., Blicharska, E. 2023. Bioaccumulation Capacity of Onion (Allium cepa L.) Tested with Heavy Metals in Biofortification. *Molecules* 29(1) 101. https://doi.org/10.3390/molecules29010101
- De Zio, D., Cianfanelli, V., Cecconi, F. 2013. New Insights into the Link Between DNA Damage and Apoptosis. *Antioxidants and Redox Signaling* 19(6) 559–571. https://doi.org/10.1089/ars.2012.4938
- Dourado, P.L.R., Rocha, M.P. da Roveda, L.M., Raposo, J.L., Cândido, L.S., Cardoso, C.A.L., Morales, M.A.M., et al. 2016. Genotoxic and mutagenic effects of polluted surface water in the midwestern region of Brazil using animal and plant bioassays. *Genetics and Molecular Biology* 40(1) 123–133. https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2015-0223
- Dutta, J., Ahmad, A., Singh, J. 2018. Study of industrial effluents induced genotoxicity on Allium cepa L. Caryologia 71(2) 139–145. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1447631
- Fatoki, J.O., Badmus, J.A. 2022. Arsenic as an environmental and human health antagonist: A review of its toxicity and disease initiation. *Journal of Hazardous Materials Advances* 5 100052. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100052
- Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Holland, N., Bonassi, S., Kirsch-Volders, M. 2020. Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutation Research Reviews in Mutation Research* 786 108342. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108342
- Ganapathy, S., Liu, J., Xiong, R., Yu, T., Makriyannis, A., Chen, C. 2018. Chronic low dose arsenic exposure preferentially perturbs mitotic phase of the cell cycle. *Genes and Cancer* 10(1–2) 39–51. https://doi.org/10.18632/genesandcancer.185
- GraphPad Software 2019. Prism 8.0 Software. Available from https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/
- Genchi, G., Sinicropi, M., Carocci, A., Lauria, G., Catalano, A. 2017. Mercury Exposure and Heart Diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(1) 74. https://doi.org/10.3390/ijerph14010074
- Grant, W.F. 1994. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 310(2)175–185. https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90112-0
- Gutierres Moreno, L.C., Borja Acuña, R., Villa García, O., Troncoso Olivo, W., Manjarrez García, G. 2011. Caracterización e impactos ambientales por vertimientos en tramos de la cuenca media y baja del rio cesar, valledupar. https://www.corpocesar.gov.co/riocesar.html
- Harding, G., Dalziel, J., Vass, P. 2018. Bioaccumulation of methylmercury within the marine food web of the outer Bay of Fundy, Gulf of Maine. PLOS ONE 13(7) e0197220. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197220
- Huang, H.-W., Lee, C.-H., Yu, H.-S. 2019. Arsenic-Induced Carcinogenesis and Immune Dysregulation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(15) 2746. https://doi.org/10.3390/ijerph16152746
- Ibañez Solano, D.E., Angulo Reyes, M.R. 2022. Evaluación del Riesgo Genotóxico de Aguas Superficiales y Sistemas de Riego Mediante Estudios Ecotoxicológicos Empleando Células de Raices de *Allium* cepa. *Acta Nova* 10(4), 430-442. https://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1683-07892022000200430&Ing=es&tIng=es
- Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., Rhodes, C.J., et al. 2011. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *Journal of Applied Toxicology* 31(2) 95–107. https://doi.org/10.1002/jat.1649
- Kassa, B.A. 2021. Cytotoxicity and Genotoxicity evaluation of municipal wastewater discharged into the head of Blue Nile River using the Allium Cepa test. Scientific African 13 e00911. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00911

Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L. 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. *Environment Systems and Decisions* 35(3) 334–350. https://doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2

- Kuo, C.-C., Balakrishnan, P., Gribble, M.O., Best, L.G., Goessler, W., Umans, J.G., Navas-Acien, A. 2022. The association of arsenic exposure and arsenic metabolism with all-cause, cardiovascular and cancer mortality in the Strong Heart Study. *Environment International* 159 107029. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.107029
- Leme, D.M., Marin-Morales, M.A. 2009. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682(1) 71–81. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002
- León-Mejía, G., Rueda, R.A., Pérez, J., Miranda-Guevara, A., Moreno, O.F., Quintana-Sosa, M., Trindade, C., et al. 2023a. Analysis of the cytotoxic and genotoxic effects in a population chronically exposed to coal mining residues. *Environmental Science and Pollution Research* 30(18) 54095–54105. https://doi.org/10.1007/s11356-023-26136-9
- León-Mejía, G., Vargas, J.E., Quintana-Sosa, M., Rueda, R.A., Pérez, J.P., Miranda-Guevara, A., Moreno, O.F., et al. 2023b. Exposure to coal mining can lead to imbalanced levels of inorganic elements and DNA damage in individuals living near open-pit mining sites. *Environmental Research* 227 115773. https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115773
- Lin, L., Yang, H., Xu, X. 2022. Effects of Water Pollution on Human Health and Disease Heterogeneity: A Review. Frontiers in Environmental Science 10. https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.880246
- Lu, Y., Song, S., Wang, R., Liu, Z., Meng, J., Sweetman, A.J., Jenkins, A., et al. 2015. Impacts of soil and water pollution on food safety and health risks in China. *Environment International* 77 5–15. https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.12.010
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. 2018. Entra en vigencia prohibición del mercurio en la minería de oro en Colombia. *Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible*.
- Miranda-Guevara, A., Muñoz-Acevedo, A., Fiorillo-Moreno, O., Acosta-Hoyos, A., Pacheco-Londoño, L., Quintana-Sosa, M., De Moya, Y., et al. 2023. The dangerous link between coal dust exposure and DNA damage: unraveling the role of some of the chemical agents and oxidative stress. *Environmental Geochemistry and Health* 45(10) 7081–7097. https://doi.org/10.1007/s10653-023-01697-3
- Muñoz, N.C., González-Álvarez, D., Jaramillo, A.C., Soto-Ospina, A., Ruiz, Á.A. 2023. Toxicological risk in individuals exposed to methylmercury and total mercury through daily-consumed foodstuffs in one of the mining regions of Bajo Cauca, Antioquia, Colombia. *Emerging Contaminants* 9(2) 100226. https://doi.org/10.1016/j.emcon.2023.100226
- Novo, J.P., Martins, B., Raposo, R.S., Pereira, F.C., Oriá, R.B., Malva, J.O., Fontes-Ribeiro, C. 2021. Cellular and Molecular Mechanisms Mediating Methylmercury Neurotoxicity and Neuroinflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 22(6) 3101. https://doi.org/10.3390/ijms22063101
- 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
- Oubane, M., Khadra, A., Ezzariai, A., Kouisni, L., Hafidi, M. 2021. Heavy metal accumulation and genotoxic effect of long-term wastewater irrigated peri-urban agricultural soils in semiarid climate. Science of The Total Environment 794 148611. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148611
- Pathiratne, A., Hemachandra, C.K., De Silva, N. 2015. Efficacy of Allium cepa test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. *Environmental Monitoring and Assessment* 187(12) 730. https://doi.org/10.1007/s10661-015-4954-z
- Pelcová, P., Kopp, R., Ridošková, A., Grmela, J., Štěrbová, D. 2022. Evaluation of mercury bioavailability and phytoaccumulation by means of a DGT technique and of submerged aquatic plants in an aquatic ecosystem situated in the vicinity of a cinnabar mine. *Chemosphere* 288 132545. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132545
- Quiroz-Arcentales, L., Hernández-Flórez, L.J., Agudelo Calderón, C.A., Medina, K., Robledo-Martínez, R., Osorio-García, S.D. 2013. PM10 exposure-related respiratory symptoms and disease in children living in and near five coal-mining areas in the Cesar department of Colombia. *Revista de Salud Pública (Bogotá, Colombia)* 15(1) 66–79.
- Rozo Castillo, L.M. 2021. ¿Zona de sacrificio? Impactos sociales y ambientales de la industria petrolera en el municipio de Castilla la Nueva, Meta para el periodo 2000–2020. Tesis de grado. *Universidad de los Andes*. https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/5b8e3c32-0806-4228-bcc0-42714a3b152f/content
- Sabeen, M., Mahmood, Q., Ahmad Bhatti, Z., Faridullah, Irshad, M., Bilal, M., Hayat, M.T., et al. 2020. Allium cepa assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(5) 1368–1374. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.011
- Sidabutar, N.V., Namara, I., Hartono, D.M., Soesilo, T.E.B. 2017. The effect of anthropogenic activities to the decrease of water quality. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 67 012034. https://doi.org/10.1088/1755-1315/67/1/012034
- Wijeyaratne, W.M.D.N., Wadasinghe, L.G.Y.J.G. 2019a. Allium cepa Bio Assay to Assess the Water and Sediment Cytogenotoxicity in a Tropical Stream Subjected to Multiple Point and Nonpoint Source Pollutants. *Journal of Toxicology* 2019 1–10. https://doi.org/10.1155/2019/5420124
- Wijeyaratne, W.M.D.N., Wadasinghe, L.G.Y.J.G. 2019b. Allium cepa Bio Assay to Assess the Water and Sediment Cytogenotoxicity in a Tropical Stream Subjected to Multiple Point and Nonpoint Source Pollutants. *Journal of Toxicology* 2019 1–10. https://doi.org/10.1155/2019/5420124
- Willcock, S., Cooper, G.S., Addy, J., Dearing, J.A. 2023. Earlier collapse of Anthropocene ecosystems driven by multiple faster and noisier drivers. *Nature Sustainability* 6(11) 1331–1342. https://doi.org/10.1038/s41893-023-01157-x
- Wyatt, L.H., Luz, A.L., Cao, X., Maurer, L.L., Blawas, A.M., Aballay, A., Pan, W.K.Y., et al. 2017. Effects of methyl and inorganic mercury exposure on genome homeostasis and mitochondrial function in Caenorhabditis elegans. *DNA Repair* 52,31–48. https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2017.02.005