

## CITO Y GENOTOXICIDAD DE PARTÍCULAS $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2$ EN CÉLULAS DE OSTEOSARCOMA HUMANO

Di Virgilio AL<sup>1,2</sup>, I Maisuls<sup>2,3</sup>, PM Arnal<sup>3</sup>. <sup>1</sup>CEQUINOR, Facultad Cs. Exactas, UNLP, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Cátedra Bioquímica Patológica, Facultad Cs. Exactas, UNLP, La Plata, Argentina. <sup>3</sup>Centro de Tecnología de Recursos Minerales y Cerámica (CETMIC), M.B. Gonnet, Argentina. e-mail: aldivirgilio@biol.unlp.edu.ar

El óxido de circonio ( $\text{ZrO}_2$ ) es un material con importantes aplicaciones biomédicas. La formación de partículas núcleo@cáscara (núcleo de un material y cáscara de otro) y su uso en sistemas de liberación controlada de drogas están en el foco del interés científico actual. Sin embargo, poco se sabe sobre su toxicidad. Aquí investigamos la cito y genotoxicidad de esferas  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2$  con cáscara cristalina ( $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$ ) y con cáscara amorfa ( $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^a$ ) en células de osteosarcoma humano en cultivo (MG-63) expuestas a un rango de 5-100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  por 24 h. Según microscopía electrónica de transmisión, ambos tipos de partículas cruzan la membrana celular y se alojan en vesículas en el citoplasma. La viabilidad celular (ensayo MTT) disminuyó sólo en células expuestas a 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$  ( $p < 0,001$ ). Asimismo, los primeros efectos genotóxicos se observaron a 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$  y 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^a$  con el daño sobre el ADN celular (ensayo Cometa). Al incrementar la concentración de  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$  a 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  y de  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^a$  a 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  se produjo un aumento de la frecuencia de micronúcleos ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, ambos tipos de partículas provocaron a partir de 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  una disminución de la relación GSH/GSSG ( $p < 0,001$ ), pero sólo  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$  a 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  produjo un aumento significativo de las especies reactivas de oxígeno ( $p < 0,01$ ). Pudo concluirse que sólo  $\text{SiO}_2@\text{ZrO}_2^c$  reduce la viabilidad celular asociada a un aumento en estrés oxidativo, sin embargo ambos materiales causan daño en el ADN indicando una cito y genotoxicidad dependiente del ordenamiento atómico en la cáscara.

## EVALUACIÓN MUTAGÉNICA Y GENOTÓXICA DE COLORANTES DE CABELLO EN CULTIVO DE CÉLULAS DE HEPG2

Tafurt-Cardona Y, P Soares-Rocha, TCC Fernandes, MA Marin-Morales. Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", câmpus de Río Claro, SP. e-mail: yalianat@hotmail.com

Según la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC), algunos colorantes de cabello y muchas de las sustancias químicas utilizadas en este proceso, son consideradas mutagénicas y carcinogénicas en ensayos *in vitro* y poblaciones expuestas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad mutagénica y genotóxica de dos colorantes usados en la composición de tintes de cabello negro, por medio del ensayo de micronúcleos (MN) y cometa en células de hepatoma humano (HepG2). Fue realizado el ensayo de citotoxicidad por MTT y seleccionadas las concentraciones empleadas en los ensayos de MN y cometa, para los colorantes Arianor Sienna Brown ( $1,56 \times 10^{-5}$  g/ml;  $7,8 \times 10^{-6}$  g/ml;  $3,9 \times 10^{-6}$  g/ml) y Cherry Red ( $2 \times 10^{-6}$  g/ml;  $2 \times 10^{-7}$  g/ml;  $2 \times 10^{-8}$  g/ml). Las medias y las unidades arbitrarias de cada tratamiento fueron sometidas al test estadístico ANOVA ( $p < 0,05$ ). Los resultados obtenidos tanto para el ensayo de MN como cometa, indican que los colorantes estudiados inducen una frecuencia significativa de alteraciones para todas las concentraciones con respecto al control negativo. Así, podemos inferir que dichos colorantes inducen daños al material genético y causan inestabilidad genómica. Los colorantes estudiados poseen un potencial mutagénico y genotóxico para células de HepG2 (ensayo *in vitro*), lo cual puede estar relacionado a la acción de la estructura AZO presente en su composición, que ha demostrado ser mutagénica y cancerígena. Agradecimientos: Edital PAEDEX/AUIP/2011

## COMPLEJOS DE Cu(II) COMO POTENCIALES ANTITUMORALES. CITO- Y GENOTOXICIDAD EN OSTEÓBLASTOS EN CULTIVO

Cadavid JF<sup>1</sup>, IE León<sup>1</sup>, SB Echeverry<sup>1</sup>, E Santi<sup>2</sup>, MH Torre<sup>2</sup>, AL Di Virgilio<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

e-mail: analauradivirgilio@hotmail.com

Muchos fármacos usados en el tratamiento de diferentes patologías son compuestos orgánicos coordinados con metales. En particular, compuestos de coordinación con cobre han mostrado interesantes propiedades antitumorales. Los efectos cito y genotóxicos de dos complejos de Cu(II) con sacarinato y glutamina [Cu(Sac)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>].2H<sub>2</sub>O (Cu-sac) y [Na<sub>2</sub>Cu(Sac)<sub>2</sub>(Gln)<sub>2</sub>].1.5H<sub>2</sub>O (Cu-sac-gln) fueron estudiados en osteoblastos en cultivo. Ambos complejos inhibieron la viabilidad en células de osteosarcoma humano (MG-63) con mayor potencia que en osteoblastos de fenotipo normal (MC3T3-E1). Sin embargo, el complejo con glutamina produjo un efecto significativo a partir de 150 µM mientras que Cu-sac causó inhibición a partir de 250 µM (p<0,01). Asimismo, el ensayo de Rojo Neutro demostró que ambos complejos ejercen un efecto citotóxico significativo a partir 500 µM (p<0,001). No obstante, en el ensayo MTT se observó que los complejos Cu-sac y Cu-sac-gln produjeron un daño citotóxico a partir de 500 µM y 100 µM respectivamente (p<0,001). Por otro lado, se investigó la genotoxicidad mediante la frecuencia de micronúcleos y por el ensayo Cometa. Ensayos preliminares revelaron un aumento significativo de las rupturas de simple y doble hebra del ADN. Paralelamente se observó un aumento significativo en los niveles de especies reactivas de oxígeno (evaluado por la oxidación de dihidrorodamina 123) a partir de 100 µM (p<0,05). Estos estudios permiten concluir que ambos complejos de Cu(II) ejercen efectos cito y genotóxicos en células tumorales en cultivo mediados por un incremento del estrés oxidativo.

## CONTAMINANTES PRIORITARIOS EN EL AIRE DE VILLA DEL ROSARIO-NORTE DE SANTANDER Y SU EFECTO GENOTÓXICO

Quijano Parra A<sup>1,2</sup>, J Quijano Vargas<sup>1</sup>, I. Meléndez Gélvez<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Investigación en Química. Universidad de Pamplona, Colombia. <sup>2</sup>Grupo de Investigación en Biología Molecular. Universidad de Pamplona, Colombia.

e-mail: imgelvez@unipamplona.edu.co

Las partículas en suspensión se componen de mezclas químicas complejas, que pueden contener mutágenos y carcinógenos como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). La inhalación de partículas en suspensión (PM<sub>2,5</sub>) causa enfermedades respiratorias, cardíacas y pulmonares. Los HAP son considerados como la principal causa de la acción mutagénica indirecta de las partículas en suspensión. Estos HAP se forman principalmente a través de un proceso de combustión incompleta de los combustibles fósiles. La materia orgánica de los filtros de PM 2.5 se extrajo inicialmente con diclorometano obteniéndose un extracto global. Este se separó en tres fracciones por cromatografía en columna. La identificación en los extractos de los 16 HAP considerados como contaminantes prioritarios se determinó por cromatografía de gases (CG). Los efectos genotóxicos de los extractos de los filtros fueron evaluados con el ensayo cometa. Se encontró actividad genotóxica asociada con el aire recogido cerca de una avenida muy concurrida de Villa del Rosario- Norte de Santander -Colombia. A través de los análisis logramos identificar los HAP: benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno y dibenzo(a,h)antraceno. Los HAP identificados en el material particulado PM<sub>2,5</sub> para la ciudad de Villa del Rosario, se encuentran en el grupo de contaminantes cuyo estudio debe ser monitoreado permanentemente por su peligrosidad mutagénica y genotóxica.

## MCTA 5

**EVALUACIÓN DEL RANGO FISIOLÓGICO DE ZINC EN NIÑOS. INESTABILIDAD ASOCIADA A SU DEFICIENCIA Y EXCESO**

Padula G<sup>1,2</sup>, MV Ponzinibbio<sup>2</sup>, AI Seoane<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata-CONICET.  
e-mail: giselpadula@yahoo.com.ar

El Zinc (Zn) juega un papel vital en el crecimiento de los niños y participa en la síntesis y manutención del ADN. Las actuales recomendaciones de ingesta de este nutriente no tienen en cuenta los niveles requeridos para el mantenimiento de la estabilidad genómica. El objetivo del trabajo es analizar el efecto de la suplementación *in vitro* con Zn, con el propósito de evaluar el rango fisiológico normal recomendado para niños (80-280 ug/dl), así como la deficiencia y el exceso. Para lograr la deficiencia de Zn, el medio HAMF12 (HF12) fue quelado (HF12Q). Los linfocitos fueron aislados de donantes sanos y cultivados durante 5 días en 6 frascos: 1-Control (HF12: 60 ug/dl So4Zn); 2-Deficiente (HF12Q); 3-80 Zn (HF12Q + 80 ug/dl So4Zn); 4-180 (HF12Q + 180 ug/dl So4Zn); 5-280 (HF12Q + 280 ug/dl So4Zn); 6-380 (HF12Q + 380 ug/dl So4Zn). Se utilizaron los ensayos de Micronúcleo y Cometa Cualitativo. Las diferencias fueron evaluadas con 2 ( $p < 0,05$ ). La frecuencia de micronúcleos (MNi) fue significativamente mayor en los grupos Deficiente, 280 y 380, respecto de los grupos Control, 80 y 180, los cuales presentaron frecuencias similares. La frecuencia de MNi del grupo 380 fue significativamente superior a la observada en los grupos 280 y Deficiente. El Índice de Daño, resultó significativamente más alto en el grupo Deficiente respecto de todos los demás. Solo la dosis de 380 presentó frecuencias significativamente aumentadas en relación a los grupos Control, 80, 180 y 280. Tanto la deficiencia de Zn como el exceso provocan un aumento de la inestabilidad genómica.

## MCTA 6

**ESTUDIO COMPARATIVO DE BIOMARCADORES DE GENOTOXICIDAD POR AFLATOXINA B1 EN UNA POBLACIÓN PORCINA**

Wittouck P<sup>1</sup>, F Ronchi<sup>1</sup>, A Bonvillani<sup>1</sup>, L Cabrera<sup>1</sup>, S Watson<sup>1</sup>, MI Ortiz<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Fac. de Agronomía y Veterinaria, UNRC. <sup>2</sup>Fac. Cs. Ex., Fco-Qca y Naturales, Dpto. de Cs. Naturales, UNRC.  
e-mail: pwittouck@ayv.unrc.edu.ar

La aflatoxina B1 (AFB1) es una micotoxina con efecto genotóxico. Su presencia se relaciona con la contaminación de las raciones porcinas. El objetivo de este trabajo es evaluar si el conteo de aberraciones cromosómicas (AC) y de micronúcleos (MN) en células binucleadas (BN) serían "biomarcadores" alternativos a la cuantificación de Aductos por HPLC para monitorear el impacto de la AFB1 en la higiene ambiental de la cría porcina. Se evaluó 4 grupos (5 animales c/u) de cerdos Landrace x Yorkshire. Los Grupos I, II y III se alimentaron durante 15 días con: 20, 40 y 50 ppb de AFB1, respectivamente. El Grupo IV, control, recibió dieta normal. Se realizó cultivo de linfocitos de sangre periférica en medio RPMI 1640. En los Grupos I y II, se analizó la frecuencia de células con AC y en el Grupo III, el número de MN en células BN. El grupo IV no mostró niveles significativos de AC ni MN en células BN. El análisis comparativo (Test de Análisis de Variancia Bivariante) del grupo control con los grupos tratados mostró un incremento significativo de las frecuencias de células con AC ( $p < 0,01$ ) dependiente de la dosis y la presencia de MN en Células BN ( $p < 0,05$ ). Los grupos II y III mostraron además signos clínicos de aflatoxicosis y una disminución de la ganancia de peso ( $p < 0,01$ ). Cabe destacar que la AFB1 incrementó el daño cromosómico, aún a la dosis permitida por la FAO. Los biomarcadores utilizados en esta experiencia podrían ser una importante herramienta alternativa de monitoreo ambiental en poblaciones porcinas por ser técnicas simples, económicas y altamente sensibles.

## ACTIVIDAD GENOTÓXICA INDUCIDA POR EXTRACTOS DE FRESAS CULTIVADAS EN PAMPLONA, COLOMBIA

Pabuena Arévalo DE<sup>1</sup>, E Pardo Pérez<sup>2</sup>, I Meléndez Gélvez<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Investigación en Biología Molecular, Universidad de Pamplona, Colombia. <sup>2</sup>Sección de Genética Departamento de Biología, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

e-mail: dparevalo89@gmail.com

Muchos pesticidas han sido clasificados como cancerígenos según la Agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer, ya que su principal efecto es inducir daño estructural o funcional en el material genético. Los agricultores en su afán de erradicar las plagas de los cultivos exceden la cantidad sugerida, esto hace que queden residuos en partes de la planta. El objetivo fue evaluar los posibles efectos sobre el ADN en linfocitos humanos expuestos a extractos de fresas sometidas a diferentes tipos de fumigación. Se ensayaron dos extractos productos de dos muestreos en un cultivo de fresas fumigada con diferentes tipos de pesticidas y un extracto orgánico (sin pesticidas). Para evaluar la actividad genotóxica se utilizó el ensayo cometa, la toxicidad se determinó mediante la prueba exclusión con azul de tripano. La viabilidad superó el 80%; lo que garantiza que el daño celular es producto de los compuestos presentes en los extractos. Los resultados del ensayo cometa indicaron que existe un efecto genotóxico dependiente de la dosis para los extractos 1 y 2 con un  $P < 0,05$  según la prueba Tukey. El extracto orgánico comparado con el control negativo no mostró diferencias significativas con un  $P > 0,05$ . Los resultados obtenidos confirman la presencia de compuestos en extractos de fresas fumigados con pesticidas que inducen lesiones primarias en el ADN de linfocitos humanos. Dado que la fresa es un producto de alto consumo en nuestra región, el consumo de ésta podría convertirse en un factor de riesgo para la población.

## EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE UN HERBICIDA A BASE DE GLIFOSATO EN ERITROCITOS DE *Piaractus mesopotamicus*

Leveroni FA, MC Pastori, JD Caffetti. Laboratorio de Citogenética Gral., Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM-IBS-CONICET.

e-mail: flaviaa.leveroni@gmail.com

Mundialmente se reconoce el uso de plaguicidas a fines de incrementar la producción agrícola. En el ambiente acuático, los herbicidas son los más peligrosos ya que a través del suelo pueden escurrirse hacia los ríos. En Misiones se emplean herbicidas a base de glifosato en cultivos de tabaco, siendo *Roundup* la fórmula de preferencia. Si bien se demostró que dicho compuesto es más tóxico que el glifosato puro, poco se sabe sobre sus efectos en peces. En este trabajo, se evaluó la genotoxicidad de *Roundup* mediante los ensayos Cometa, Micronúcleos (MN) y Anomalías nucleares (AN) en eritrocitos de *Piaractus mesopotamicus*. Para ello, ejemplares de dos criaderos se mantuvieron en condiciones de detoxificación. Posteriormente, fueron expuestos 96 horas a 2,75 mg/L de *Roundup*. Simultáneamente, se realizó un control negativo y otro positivo con Etilmetanosulfonato. Para evaluar el daño genotóxico se aplicaron los ensayos cometa, MN y AN. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el test de Kruskal-Wallis. Los eritrocitos tratados con *Roundup* presentaron frecuencias significativamente elevadas de MN y AN ( $p < 0,01$ ) respecto al control negativo. Además, los diversos tamaños de micronúcleos evidenciaron daños clastogénicos y aneugénicos. También se encontraron índices de daño significativamente elevados ( $p < 0,05$ ) para *Roundup* con el ensayo cometa. Estos resultados coinciden con lo observado por varios autores en otros peces, demostrando nuevamente que fórmulas herbicidas como ésta pueden inducir genotoxicidad en organismos que no son blancos de dichos tratamientos.

## EVALUACIÓN DEL DAÑO GENÉTICO EN PERSONAL DE LABORATORIOS OCUPACIONALMENTE EXPUESTOS

Barra Andrade L, S Duk Palacios, C Márquez Urrizola, B Inzunza Melo.

<sup>1</sup>Universidad de Concepción, Laboratorio de Genética Toxicológica y Citogenética. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas.

e-mail: lbarra@udec.cl

En Chile son pocos los estudios que existen en la población humana para determinar daño genético, por lo que no se sabe que riesgos pueden presentar aquellas personas que trabajan en laboratorios expuestos a agentes físico-químicos. Esta investigación se plantea la hipótesis que el personal de laboratorio expuesto a agentes químicos y físicos en su lugar de trabajo presenta daño genético, por lo que se propuso como objetivo determinar este daño a través del ensayo de micronúcleos (MN). Para esto se tomaron muestras de sangre venosa a 7 trabajadores de laboratorios que se encontraban expuestos a sustancias como químicos orgánicos, inorgánicos, radiación o metales pesados. Se consideraron como controles a personas que no tenían ninguna exposición a estos agentes. Se contabilizaron un total de 2000 células por persona y se determinó el número de células binucleadas con MN (BNMN) y el total de MN en células binucleadas (MN total). Los resultados del Mann-Whitney U-test muestran diferencias significativas de MN entre el grupo control y el expuesto ( $p=0,02$ ) con una media de 18,14 BNMN para los expuestos y 5,85 para los controles. Respecto a los factores de riesgo edad y hábitos de vida no presentan diferencias significativas entre ambos grupos por lo cual no fueron un factor determinante en la cantidad de MN. Estos resultados preliminares indicarían que la utilización y manipulación de sustancias químicas o radiactivas a la cual se exponen los trabajadores en sus distintas áreas de trabajo podrían ser la principal causa del aumento de MN.

## ADAPTACIÓN DEL ENSAYO MICRONÚCLEOS CITOMA BUCAL PARA APLICARLO EN BOVINOS

Ferré DM<sup>1,3</sup>, R Carracedo<sup>1</sup>, V Lentini<sup>1</sup>, M Gonzalez<sup>2</sup>, R Ludueña<sup>2</sup>, NB Gorla<sup>1,3</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Genética, Ambiente y Reproducción, Universidad Juan Agustín Maza (UMaza), Mendoza. <sup>2</sup>Producción Bovina, Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, UMaza. <sup>3</sup>CONICET.

e-mail: dferre@mendoza-conicet.gob.ar

Los herbívoros son buenos bioindicadores ambientales debido a que son sensibles a los contaminantes y acumulan xenobióticos. En Salud Pública es importante cuantificar la exposición a genotóxicos de animales productores de alimentos destinados al consumo humano. El objetivo de este estudio fue adaptar el ensayo de micronúcleos (MN) citoma bucal, validado en humanos, para aplicarlo en bovinos, identificando el tipo y frecuencia de anomalías nucleares, según la fotogalería de núcleos anormales reportada en la bibliografía. Se obtuvieron células de epitelio bucal de 10 bovinos hembras mestizas, peso promedio 320 kg, de La Paz (Mendoza) mantenidas con alimento balanceado, alfalfa y agua de pozo, buen estado de salud y sin tratamiento sanitario en los 5 meses previos. Después de realizar la fijación Carnoy y la coloración con Giemsa de las muestras, se analizaron 2000 células por animal. Cada 1000 células analizadas, la frecuencia media  $\pm$  error estándar de células micronucleadas fue  $0,4 \pm 0,2$ , células binucleadas  $1,2 \pm 0,4$ , brotes nucleares  $0,3 \pm 0,1$ , puentes nucleoplásmicos  $0,1 \pm 0,1$ . Se destaca la frecuencia de células cariolíticas  $32,2 \pm 7,2$ , células condensadas  $22,3 \pm 4,7$ , células cariorréxicas  $14,5 \pm 6,2$ , células picnóticas  $4,8 \pm 1,2$  y la presencia de un tipo celular con núcleos lobulados ( $0,15 \pm 0,07$ ), categoría que no está presente en el ensayo de MN citoma bucal humano. Se destaca la alta frecuencia de células indicadoras de apoptosis, útiles para evaluar daño genético. Afirmamos que es posible realizar este ensayo en bovinos. No se han encontrado reportes bibliográficos previos en esta especie.



## MICRONUCLEUS TEST AND COMET ASSAY IN ERYTHROCYTES OF *Oreochromis niloticus* EXPOSED TO IMIDACLOPRID

Ansoar Rodríguez Y<sup>1</sup>, CA Christofolletti<sup>2</sup>, AC de Castro Marcató<sup>1</sup>, J Evangelista Correia<sup>1</sup>, O Correa Bueno<sup>3</sup>, O Malaspina<sup>3</sup>, CS Fontanetti<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratório de Mutagênese Ambiental, Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, Rio Claro-São Paulo, Brazil. <sup>2</sup>Fundação Hermínio Ometto, UNIARARAS, Araras-São Paulo, Brazil. <sup>3</sup>Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS), UNESP, Rio Claro-São Paulo, Brazil.  
 e-mail: yansoar@gmail.com

The indiscriminate use of pesticides has become a serious environmental concern. Among them, the insecticide imidacloprid (IMI) is one of the most used worldwide. During 2010, in Brazil, 1.934 tons of imidacloprid were sold, mostly to be used in sugarcane crops. Several studies have examined the toxicity of IMI, as well as its possible ecological effects. However, few studies have examined toxicity at the genetic level. This is one of the biggest challenges for the scientific community concerned about the impact of contaminants on the environment and human health. In this study we evaluated the effect of IMI on the genetic material of *Oreochromis niloticus* erythrocytes, exposed to different concentrations of the insecticide by using comet assay and micronucleus test. Our results demonstrated that the concentrations tested in comet assay induced primary damage to the DNA by increasing the frequency of strand breaks and alkali labile sites. We also proved the occurrence of nuclear abnormalities at the higher concentration used in the micronuclei assay. However, frequency of micronuclei does not increase at any of the concentrations tested. Therefore, imidacloprid induces primary DNA damage in the concentrations tested but no damage at the chromosome level.

## ANTITUMORAL AND MUTAGENIC ACTIVITIES OF THE RUTHENIUM(II) HETEROLEPTIC COMPLEX CIS-[ RuCl<sub>2</sub> (DPPB)(BIPY)]

De Grandis RA<sup>1</sup>, FA Resende<sup>1</sup>, EO Lopes<sup>1</sup>, FR Pavan<sup>1</sup>, MM Silva<sup>2</sup>, AA Batista<sup>2</sup>, EA Varanda<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química Inorgânica, UFSCAR, Brasil.  
 e-mail: degrandis.rone@fcar.unesp.br

It is possible to develop anti-cancer drugs by analyzing compounds using tumor cell lines and their ability to cause DNA damage. In view of the anti-tumor activity of metal complexes, the aim of this study was to investigate the cytotoxic and mutagenic activity of Ru(II) complex cis-[RuCl<sub>2</sub> (dppb)(bipy)] (SCAR6). Cytotoxicity was determined by resazurin test with human tumor cell lines of liver, breast and prostate. The Ames test was performed in strains TA98, TA1535, TA97a, TA100 and TA102 of *Salmonella typhimurium*, as indicators of DNA damage in the absence (-S9) and presence (+S9) of metabolic activation. The micronucleus assay (MN) was performed to evaluate the chromosomal genetic damage. The selectivity of tumor lines showed that the complex has selectivity for breast tumor cell lines (IS 18.5) and lower for liver (IS 9.1) and prostate (IS 8.9). The Ames test showed that the mutants did not increase in the absence of S9, but in the presence of S9 in strains TA97 showed mutagenicity. In the MN test, no mutation was identified in the cell lines used. Therefore, the SCAR6 complex showed selective toxicity for breast tumor cells. The mechanism induced *frameshift* mutation upon addition of S9. However, the mutagenic effect was not observed in the MN test. These results demonstrate the importance of analyzing the biological activities of inorganic compounds and confirm that this is a way for the development of anti-cancer drugs.

## MCTA 13

**INTER-RELACIÓN FUNCIONAL ENTRE DNA-PKCS Y ATM FRENTE AL DAÑO INDUCIDO POR ETOPÓSIDO EN LA FASE G<sub>2</sub>**

Palmitelli M, M de Campos Nebel, M González Cid. Laboratorio de Mutagénesis, Instituto de Medicina Experimental. CONICET-Academia Nacional de Medicina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

e-mail: micaela.palmitelli@hotmail.com

Las proteínas-quinazas DNA-PKcs y ATM protegen la integridad genómica frente a las rupturas de doble cadena (RDC). Etopósido (ETO), droga antitumoral, estabiliza los complejos ADN-topoisomerasa II generando RDC persistentes. Se evaluó el rol de DNA-PKcs y ATM en reparar las RDC inducidas por ETO en G<sub>2</sub>. La línea celular humana HeLa deficiente en ATM (ATM<sup>kd</sup>) y su control no-silenciante (NS) se obtuvieron utilizando secuencias shRNAmir y evaluaron por qRT-PCR y expresión proteica. Las células se trataron con ETO 2 µg/ml en presencia o no del inhibidor químico de DNA-PKcs, NU7026 (10µM). En ambas líneas celulares, las rupturas e intercambios cromatídicos por metafase aumentaron en relación a sus controles respectivos. El tratamiento con NU7026-ETO en células ATM<sup>kd</sup> duplicó el valor de rupturas cromatídicas inducidas en NS. En cambio, las figuras de intercambio cromatídico se mantuvieron al mismo nivel en ambas líneas celulares tratadas con ETO, con una frecuencia aumentada en NU7026-ETO. Este efecto fue acompañado de una reducción marcada de células mitóticas evaluadas por inmunomarcación (pSer10H3). Se analizaron las RDC (pSer139H2AX) persistentes en los núcleos principales de células binucleadas en G<sub>1</sub> posmitótico. El 26,8% de las células ATM<sup>kd</sup> mostró >20focos γH2AX luego del tratamiento con ETO y ese valor fue del 21,7% en NS luego de NU7026-ETO. En ausencia de ambas actividades proteicas, el 48,2% presentó >20focos γH2AX. Estos resultados indicaron que DNA-PKcs y ATM cumplen funciones complementarias para asegurar una completa y correcta reparación de las RDC inducidas por ETO.

## MCTA 14

**ECOTOXICOLOGICAL POTENTIAL OF A RIVER UNDER THE INFLUENCE OF PETROLEUM AND TEXTILE INDUSTRIES**

Suares-Rocha P, Y Tafurt-Cardona, TCC Fernandes, DF Angelis, MA Marin-Morales. 'Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" -UNESP, Rio Claro, SP, Brazil.

e-mail: psuaresrocha@yahoo.com

The Piracicaba River rises from the confluence of the Jaguarí and Atibaia rivers, in Americana (SP), considered an important industrial pole of Brazil, which concentrate an estimated population of more than 200.000 inhabitants. From the beginning of its course, the Piracicaba River presents contamination problems, related to several anthropogenic activities developed in the region (disposal of domestic, industrial and agricultural effluents). Thus, this work was aimed at assessing the ecotoxicological potential of water and sediment samples from Piracicaba River, in a region under the influence of a petroleum refinery and textile industries. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic potentials of these samples were assessed by means of Neutral Red, Comet assay and Micronucleus test, respectively, performed with permanent fish cells RTL-W1. Moreover, water quality was also evaluated by means of *Allium cepa* test, in order to assess cytotoxic, genotoxic and mutagenic potentials of these samples in plants. Results demonstrated that, for RTL-W1 cells, despite low cytotoxicity for water samples, high genotoxic and mutagenic potentials were recorded for both, sediment and water samples. Water sample inhibited the germination of *A. cepa*, demonstrating a high cytotoxic potential, but precluding results on the genotoxic and mutagenic potentials. Thus, further experiments must be performed with diluted samples. Since this pollution is certainly not restrict to this area, the study of the surroundings areas (including related tributaries) is required.

## EVALUACIÓN DEL POTENCIAL GENOTÓXICO DE LA PIOGLITAZONA EN LINFOCITOS HUMANOS IN VITRO

Morais JF<sup>1</sup>, JR Sant'Anna<sup>1</sup>, PCF Mathias<sup>2</sup>, CCS Franco<sup>3</sup>, TS Pereira<sup>1</sup>, MAA Castro-Prado<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratório de Genética de Micro-organismos e Mutagênese. <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular e Secreção, Universidade Estadual de Maringá, Paraná (Brasil).

e-mail: janicellemorais@hotmail.com

Pioglitazona (PTZ) es un hipoglucemiante oral utilizado en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, actuando como un agonista del receptor nuclear  $\gamma$  activado por un proliferador de peroxisoma (PPAR $\gamma$ ). Trabajos recientes sugieren que algunos ligantes del PPAR $\gamma$  podrían ser utilizados en el tratamiento de neoplasias. El presente estudio tuvo como objetivo investigar los potenciales citotóxicos y mutagénicos de la PTZ, utilizándose el índice mitótico (IM) y el ensayo de micronúcleos con bloqueo de citocinesis (Mnvit), respectivamente, en linfocitos humanos. PTZ, en las concentraciones de 324  $\mu$ M y 972  $\mu$ M, produjeron reducción significativa en el valor de IM, así que solamente las concentraciones de 4  $\mu$ M (concentración plasmática), 12  $\mu$ M, 36  $\mu$ M y 108  $\mu$ M de PTZ fueron sometidas a la prueba Mnvit. PTZ, en la concentración de 108  $\mu$ M, indujo aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos, en relación al control negativo. Teniendo en cuenta el potencial mutagénico de PTZ, demostrado en este estudio, y que la prueba Mnvit es un biomarcador de daño cromosómico, la utilización del PTZ como agente antineoplásico debe ser mejor evaluada, ya que este hipoglucemiante podrá actuar como inductor de tumores malignos secundarios en pacientes con cáncer. Financiado por la CAPES.

## EVALUATION OF THE CYTOTOXIC AND MUTAGENIC POTENTIALS OF TWO INSECTIDES BY MEANS OF MICRONUCLEUS TEST

Fernandes TCC, MA Marin-Morales. Universidade Estadual Paulista-UNESP/Rio Claro, Brasil, Departamento de Biologia, Laboratório de Mutagênese.

e-mail: tccfbio@rc.unesp.br

Chemical pest control has reduced the incidence of illness and increased agricultural production. However, these chemicals can remain active in the environment, affecting ecosystems. The effects of these agents on organisms can promote several changes, including cellular and DNA damage. The aim of this study was to evaluate the mutagenic potential of the insecticides Standak and Thiamethoxam, by means of Micronucleus test (MN), using HTC cell culture. Prior MN test, a cytotoxic investigation was performed, by means of MTT assay, in order to define the four highest concentrations, from field concentration, where cell viability should be greater than 80%. The concentrations set for Standak were: 0.25 g/L; 0.025 g/L; 0.0025 g/L; 0.00025 g/L; and for Thiamethoxam: 750  $\mu$ g/mL; 375  $\mu$ g/mL; 187.5 mg/mL; 93.75 mg/mL. Results showed that, despite the highest tested concentrations did not induce significant cell mortality (assessed with MTT assay), they made cells more vulnerable to the action of the reagents, promoting fragmentation after exposure to Cytochalasin B. For this reason, mutagenicity could not be assessed. No mutagenic effect was recorded for cells exposed to the remaining tested concentrations. Despite these negative results, it is important to consider the toxic action of the insecticides, specially the Standak, in non-target organisms cells, which can serve as an alert to the possibility of the hazard to the health of workers exposed to those chemicals during application of these products.



MCTA 17

## GENOTOXIC POTENTIAL OF CHEMICALLY TREATED VINASSE USING *Oreochromis niloticus* AS TEST ORGANISM

Correia JE<sup>1</sup>, CA Christofoletti<sup>2</sup>, Y Ansoar Rodríguez<sup>1</sup>, TA Guedes<sup>1</sup>, ACC Marcato<sup>1</sup>, N Riguetto Neto<sup>1</sup>, CS Fontanetti<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratório de Mutagênese Ambiental, Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brazil. <sup>2</sup>Fundação Herminio Ometto, UNIARARAS, Araras, São Paulo, Brazil.

e-mail: jorgecorreia@hotmail.com

The sugarcane is one of a major monocultures in Brazil, having a strong impact on the economy and the environment. The vinasse is a major waste generated in the processing of sugar cane into ethanol; due to its large amount of organic matter, this residue is widely used as a fertilizer in cultivation of cane sugar. However, by their physicochemical characteristics such as acid pH, high BOD, this residue has high pollution potential. Thus, the present study examined the genotoxic potential of cane sugar vinasse chemically treated with lime (CaO) to increase the pH, using the comet assay in fish (*Oreochromis niloticus*). After adjustment of vinasse to a neutral pH (pH=7), the fish were exposed to different dilutions of vinasse in water; the negative control was done in clean water and in the positive cyclophosphamide was injected. The bioassay was carried out in reply. Data were statistically analyzed by the methods Shapiro-Wilk test and ANOVA. The scores of damage and the values of comets class 3 were statistically significant compared to the negative control for all concentrations of treated vinasse, proving its genotoxic effect even after pH correction. Probably the presence of heavy metals are responsible for the toxic effect of this residue.

MCTA 18

## EVALUACIÓN DEL POTENCIAL MUTAGÉNICO DE DIAMINA PUTRESCINA MEDIANTE EL ENSAYO DE MICRÓNÚCLEOS

Campos-Pereira FD<sup>1</sup>, LC Gonçalves<sup>2</sup>, R Vaz Hara<sup>1</sup>, L Souza Franco<sup>2</sup>, RF Curtolo<sup>2</sup>, GA Alves<sup>2</sup>, GDC Severi-Aguiar<sup>2</sup>, MA Marin-Morales<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA), Universidade Estadual Paulista, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brazil. <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Fundação Herminio Ometto, UNIARARAS, Araras, São Paulo, Brazil.

e-mail: franko\_mg@hotmail.com

Los cementerios se han convertido en una de las principales fuentes de contaminación de aguas subterráneas debido a la lixiviación por putrefacción cadavérica de un líquido llamado necrochurume. Este compuesto es eliminado durante el primer año posterior a la inhumación, el cual es rico en diversos productos químicos, entre ellos la diamina putrescina (C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>). Distintos estudios han indicado que la exposición a esta sustancia química esta asociada a riesgos para la salud humana. El potencial genotóxico de la putrescina fue evaluado mediante la prueba de micronúcleos (MN) en médula ósea de ratas Wistar. Utilizando un control negativo (Co- agua destilada), control positivo (Cp- metilmetanossulfonato-MMS, 20 mg/Kg); grupo 1 (T1- 231,5 mg/kg); grupo 2 (T2- 138,9 mg/kg) y grupo 3 (T3- 46,3 mg/kg). Se registraron por animal 2000 eritrocitos policromáticos (EPCs) con el fin de cuantificar MN. Los datos fueron sometidos al test estadístico ANOVA (p<0,05). Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas entre los grupos tratados T2 y T3 con respecto al control negativo (Co- 47,3 ± 7,76; Cp- 86,7 ± 5,74; T1- 54 ± 4,20; T2- 69,1 ± 10,97; T3- 74,5 ± 3,60). Estos datos indican el potencial mutagénico y por tanto genotóxico de esta diamina, por lo cual es importante realizar estudios con este compuesto y conocer sus mecanismos de acción con el fin de minimizar riesgos de los individuos expuestos, ya que una vez liberada la putrescina en el medio ambiente es capaz de inducir daño en el ADN. Financiado: FAPESP, FHO.

## EVALUATION OF TWO NEW PESTICIDES TOXICITY

Souza RB<sup>1</sup>, CA Christofolletti<sup>2</sup>, CP Souza<sup>1</sup>, JP Fernandes<sup>3</sup>, RM Carlo<sup>3</sup>, OC Bueno<sup>1</sup>, CS Fontanetti<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Department of Biology, Bioscience Institute, UNESP, São Paulo State University, Rio Claro, SP, Brazil. <sup>2</sup>UNIARARAS - Centro Universitário Hermínio Ometto, Araras, SP, Brazil. <sup>3</sup>Department of Chemistry, UFSCar, Federal University of São Carlos, SP, Brazil.  
e-mail: raphaelbaston@hotmail.com

Once Brazilian researchers are aware of the problems caused by the continued use of pesticides, they have developed two new products against *Atta*, popularly known as leaf-cutter ants. These new substances can replace pesticide sulfluramid, banned in many countries. They are made up of a natural product linked to metal complexes, whose formulas are (1)  $Mg_4[Mg(5-Cl-phen)(hesperetin)(H_2O)_2](CH_3COO)$  and (2)  $Mg_6[Mg(5-methyl-phen)(hesperetin)(H_2O)_2](CH_3COO)$ . In order to avoid ecotoxicological effects, genetic toxicology can be used for assessment of the toxicity of pesticides, where possible genotoxic and mutagenic effects are investigated. In this study, *Allium cepa* (onion) was used as test organism to assess possible damage to their genetic material caused by the products. Onion seeds were exposed in Petri dishes to soil containing three product concentrations (0.5, 1.0, 2.0 mg/L), to control soil and positive controls (metilmetanosulfonato and trifluralin). The results were analyzed by Kruskal-Wallis statistical test. According to the results, the product (1) was genotoxic only at 2.0 mg/L concentration and mutagenic only at 0.5 mg/L concentration. The product (2) showed no genotoxicity and mutagenicity in any of the tested concentrations. Therefore, compared to the product (1), product (2) can be considered more secure in an ecotoxicological point of view. Financial Support: FAPESP (2012/12019-5) (Brazil)

## ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN TRABAJADORES RURALES DE LA PROVINCIA DE JUJUY EXPUESTOS A PLAGUICIDAS

Suarez Mendoza ES<sup>1</sup>, GE Sadir Bianco<sup>1</sup>, H Quinteros<sup>1</sup>, T De la Puente<sup>1</sup>, M Bonillo<sup>1</sup>, N Valerio<sup>1</sup>, G Cruz<sup>1</sup>, JC De Luca<sup>2</sup>.<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Jujuy. <sup>2</sup>Instituto de Genética Veterinaria "Fernando Noel Dulout" (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata.  
e-mail: eva.rby@gmail.com

Durante el proceso de producción, los agroquímicos empleados y las modalidades de su utilización exponen a un riesgo cierto a la población y al ambiente. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar el efecto genotóxico de los plaguicidas en poblaciones rurales expuestas en Jujuy. Se analizó el daño cromosómico en linfocitos de sangre periférica. Se obtuvieron muestras de sangre de 129 personas (76 expuestos y 53 controles respectivamente). Previo a la obtención de las muestras de sangre se obtuvo el consentimiento informado de cada una de las personas que participaron en el estudio. Se contaron 200 metafases por individuo. El análisis estadístico se hizo mediante la prueba de  $\chi^2$ . Los resultados obtenidos revelaron un aumento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas en los individuos expuestos con respecto al grupo control, 5% y 1% respectivamente ( $P < 0,01$ ). Si bien el tamaño de la muestra es pequeño, los resultados obtenidos revelan un aumento significativo en la frecuencia de aberraciones en el grupo expuesto. Por otra parte los mismos indican la necesidad de mejorar las condiciones laborales de los trabajadores rurales.

## GENOTOXICITY OF THE WATERS (CAPTATION, TREATMENT AND DISCHARGE) OF A PETROLEUM REFINERY OF SÃO PAULO

Hara RV<sup>1</sup>, MP Berreta<sup>1</sup>, MM Roberto<sup>1</sup>, DF Angelis<sup>2</sup>, MA Marin-Morales<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Biology, Institute of Biosciences, UNESP, Rio Claro, SP. <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Biosciences, UNESP, Rio Claro, SP.

e-mail: raquel.hara@hotmail.com

The industries of petroleum refining release into the environment effluents rich in inorganic and organic contaminants. Among the organic chemicals released, the PAH stand out because they are associated to the increase of the incidence of several types of cancer in humans. The aim of this study was to compare the genotoxic and mutagenic potential of the captation, treatment and discharge waters of a petroleum refinery of the city of Paulínia-SP (Brazil), during two seasons (winter 2013 and summer 2014), by the *Allium cepa* test system. 8 collection sites were determined: Jaguari River (captation); raw effluent; after the biological treatment; after the stabilization pond treatment; Atibaia River upstream the effluent discharge and two sites downstream (200 and 500 m) from the effluent discharge. From the results analysis we can observe that there were no statistically significant frequencies of damages, in relation to the genotoxicity results, for any of the collections performed in this study. The same can be observed in relation to the induction of mutagenicity, where none of the samples collected were able to induce mutagenic damages in the meristematic cells of *A. cepa*. Thus, these data suggest that the effluent treatment system of the refinery has been effective in the removal of contaminants generated by the industry and that, probably; the refinery effluents are not interfering in the quality of the waters of the Atibaia and Piracicaba rivers. Moreover, the climatic factors did not influence in the contamination degree of the studied rivers.

## CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF *Euphorbia hirta* EXTRACT BY MEANS OF *Allium cepa* ASSAY

Araujo SS<sup>1</sup>, IRMR Santos<sup>1</sup>, PM Almeida<sup>1</sup>, MA Marin-Morales<sup>2</sup>, AM Benko-Iseppon<sup>1</sup>, AC Brasileiro-Vidal<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco. <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho".

e-mail: ny\_araujo@hotmail.com

*Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae) is widely used in popular medicine since it presents a variety of pharmacological effects. *E. hirta* commonly known as pill-bearing spurge, is an annual herbaceous plant with wide distribution on the tropics, used against digestive and respiratory tract disease. However, by now, there is no precise information regarding their adverse effects. Thus, the cytotoxic and genotoxic effects of *E. hirta* ethanolic extracts, were evaluated using of *Allium cepa* assay. Roots of *A. cepa* were exposed for 24 hours to different concentrations of *E. hirta* (2.5, 5.0 and 10.0 mg/mL) extract, as well as to positive controls (methyl methanesulfonate and trifluralin) and a negative control (ultrapure water). The material was fixed in Carnoy (ethanol:acetic acid 3:1, v/v) for 6-8 h, at room temperature, and stained with Schiff's reagent. The extracts of *E. hirta* did not present significant cytotoxicity compared to the negative control. Chromosomal alterations of nuclear bud type were found in all concentrations, polyploid metaphases at the concentrations 2.5 and 5.0 mg/mL, metaphases with chromosomal adherences at 5.0 mg/mL, and C-metaphases in cells exposed to the concentration of 10.0 mg/mL. Overall, no significant genotoxic effect was detected for the ethanolic extracts of *E. hirta* at the studied concentrations when compared to the negative control. Based on the obtained results, it could be inferred that the extracts of *E. hirta* did not present cytotoxic and/or genotoxic effects to the roots of *A. cepa*.

## TOXICITY OF THE FIELD CONCENTRATION OF HERBICIDE 2,4-D (2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID) COMMERCIAL

Souza CP, ACC Marcato, RB Souza, CS Fontanetti. Departamento de Biología, UNESP Rio Claro, SP, Brasil.  
e-mail: cleitonsouza\_bio@hotmail.com

*Allium cepa*, being higher plant, is recognized worldwide as an efficient bioindicator of environmental quality, because it has rapid root growth, large chromosome in small number ( $2n=16$ ), it is easy to grow and handling and it is available easily over the year. Thus, in this study has used bioassays with *A. cepa* to investigate the cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of the concentration used in the field (0.548 microlitres/ml) of the herbicide 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) commercial. The seeds were submitted to germination in Petri dishes (continuous exposure in BOD at 22° C). After 8 days of exposure, roots were collected and fixed in Carnoy (3:1) and submitted to reactive of Schiff. The slides were made with root meristems submitted to gentle crushing between slide and cover slip. Data normality was assessed using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test. Only the mitotic index was not normally distributed, so the parametric Tukey test with a significance of  $p<0.05$  for statistical analysis was used. The nonparametric Mann-Whitney test with significance of  $p<0.05$  was used for statistical analysis of rates of chromosomal aberrations and mutagenicity. The herbicide presented cytotoxicity in organism test, which therefore demonstrates that although the dosage used is effective in combating weeds, this product can harm non-target organisms.

## DETERMINACIÓN DE EFECTOS GENOTÓXICOS DE AFLUENTES DEL LAGO YPACARAÍ CON EL BIOENSAYO DEL *Allium* TEST

Fernandez V, T López, D Franco de Diana, N Bobadilla, ME López Vera, F Ramond, D López. Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Dpto. de Biología, FACEN, UNA.  
e-mail: virginiafernandezperalta@gmail.com

El Lago Ypacaraí es una Cuenca ubicada en el departamento Cordillera - Paraguay que mide, aproximadamente, 60 Km<sup>2</sup>. Esta abarca cerca de 1.000 Km<sup>2</sup>, la cuál es afectada por actividades agropecuarias y otras fuentes poluidoras. Para evaluar el efecto genotóxico de los contaminantes de este lago se ha aplicado la técnica del *Allium* test, biomonitor adecuado tanto para el análisis de toxicidad como de genotoxicidad. Se han seleccionado 4 puntos; uno del Lago Ypacaraí (LY3), otro del efluente Río Salado (RS4) y dos afluentes Arroyo Pirajú (AP2) y Arroyo Yukyry (AY1). Se ha utilizado la técnica de coloración con Orceína acética que ha permitido determinar con mayor detalle los efectos citogenéticos de los puntos ya mencionados sobre células meristemáticas de *Allium cepa*. Estos ensayos fueron realizados bajo condiciones controladas a 24, 48 y 72 horas de exposición, se midieron los Índices Mitóticos y Frecuencia de Micronúcleos. El análisis estadístico mediante el test de ANOVA determinó que a diferentes horas de exposición la diferencia de medias es significativa al nivel 0,05 en cuanto al Índice Mitótico entre las muestras AY1, AP2 y LY3 con referencia al control negativo, además se ha observado en el punto AP2 gran cantidad de MN mostrando alta genotoxicidad, verificando que el ciclo replicativo celular sigue sin interrupción acumulando aberraciones cromosómicas.