

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15	
			VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN			FECHA	03/04/2017
				PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ	APROBÓ		
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad	Líder de Calidad		

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): NICK GUILLERMO APELLIDOS: ABRIL MENDOZA

NOMBRE(S): \_\_\_\_\_ APELLIDOS: \_\_\_\_\_

FACULTAD: CIENCIAS BÁSICAS

PLAN DE ESTUDIOS: MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECTOR:

NOMBRE(S): SEIR ANTONIO APELLIDOS: SALAZAR MERCADO

NOMBRE(S): \_\_\_\_\_ APELLIDOS: \_\_\_\_\_

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): EFECTO CITOTÓXICO DEL AMONIO CUATERNARIO EMPLEANDO *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. COMO BIOINDICADORES.

El uso del amonio cuaternario de quinta generación aumentó considerablemente debido a la pandemia por covid-19, debido a su capacidad virucida. El objetivo de la investigación correspondió a determinar el efecto citotóxico del amonio cuaternario de quinta generación empleando *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum* como especies bioindicadoras. Para ello, se sometieron bulbos de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris* y *P. sativum* en diferentes concentraciones del amonio cuaternario (0,1, 0,5, 1, 10, 20, 30, 40 y 50ppm) y en una solución testigo de agua destilada durante 72 horas. Posteriormente se realizaron los respectivos análisis macroscópicos y microscópicos. De acuerdo con los resultados, *A. cepa* comprendió la mayor reducción de longitud radicular en el tratamiento T9 (50 ppm), no registrando índice mitótico en los T8 (40 ppm) y T9 (50 ppm). Se identificaron anomalías celulares en las tres especies bioindicadoras, presentándose el mayor índice de micronúcleos en el T9 (50 ppm), comprendiendo *A. cepa* la mayor tasa relativa de anormalidad (25,28%). Se concluyó que en todos los tratamientos aplicados en las tres especies bioindicadoras, el amonio cuaternario de quinta generación ocasionó efectos citotóxicos sobre las células meristemáticas apicales, demostrando que *A. cepa* fue la especie más sensible.

PALABRAS CLAVES: AMONIO CUATERNARIO, BIOINDICADORES, CITOTOXICIDAD, ÍNDICE MITÓTICO, MICRONÚCLEOS

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 57 PLANOS:    ILUSTRACIONES:    CD ROOM:

EFFECTO CITOTÓXICO DEL AMONIO CUATERNARIO EMPLEANDO *Allium cepa* L.,  
*Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. COMO BIOINDICADORES.

NICK GUILLERMO ABRIL MENDOZA

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DIVISIÓN DE POSGRADOS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2021

EFFECTO CITOTÓXICO DEL AMONIO CUATERNARIO EMPLEANDO *Allium cepa* L.,  
*Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. COMO BIOINDICADORES.

NICK GUILLERMO ABRIL MENDOZA

Proyecto de investigación presentado para optar por el título de Magister en Ciencias Biológicas

DIRECTOR

SEIR ANTONIO SALAZAR MERCADO

MSc Biólogo

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DIVISIÓN DE POSGRADOS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2021

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ACTA DE SUSTENTACIÓN TRABAJO DE GRADO**  
**MODALIDAD INVESTIGACIÓN**

Fecha: 23 de diciembre de 2021

Hora: 3:00 p.m.

Lugar: Sesión Virtual Mediante Google Meet.

**Título del Trabajo:** EFECTO CITOTÓXICO DEL AMONIO CUATERNARIO EMPLEANDO *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. COMO BIOINDICADORES

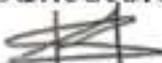
Nombre del estudiante	Código	Calificación	
		Letra	Número
NICK GUILLERMO ABRIL MENDOZA	2400015	CUATRO, CUATRO	4,4

Observaciones: Aprobado.

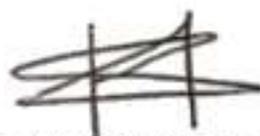
**Jurados:**

  
RUBEN DARIO CARRENO CORREA 4,4 (Cuatro, cuatro)  
Nota

  
HERNANDO AUGUSTO MEZA OSORIO 4,4 (Cuatro, cuatro)  
Nota

  
SEIR ANTONIO SALAZAR MERCADO 4,4 (Cuatro, cuatro)  
Nota

DIRECTOR (A):   
SEIR ANTONIO SALAZAR MERCADO

  
**Vº.Bº SEIR ANTONIO SALAZAR MERCADO**  
Director Comité Curricular  
Maestría en Ciencias Biológicas

## **DEDICATORIA**

A Dios padre y a la vida por permitirme seguir formándome como profesional y llevar a cabo esta investigación.

A mi padre por su apoyo incondicional, por sus enseñanzas de perseverancia, por guiarme, escucharme y trasmitirme el ánimo en no dejarme vencer frente a los obstáculos.

A mi madre Q.E.P.D por demostrarme su amor y alentarme en todo momento a salir adelante.

A mis abuelos por su apoyo y por brindarme sus importantes consejos en los momentos buenos y en los más difíciles.

A Angélica Padilla Sierra, mi compañera de vida, por su amor, por su apoyo incondicional, por su paciencia, por motivarme a salir adelante y brindarme consejos cuando los necesito.

A Belén Consuelo Pabón por su importante apoyo para lograr esta meta.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresa sus agradecimientos a:

La Universidad Francisco de Paula Santander por permitirme cursar la maestría.

Al director del proyecto, el profesor Seir Antonio Salazar Delgado por su apoyo, asesoría y orientación en la investigación.

A los profesores jurados del proyecto por las importantes sugerencias y recomendaciones brindadas.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
Introducción	12
1.1 Objetivos	18
1.2.1 Objetivo General	18
1.2.2 Objetivos Específicos	18
2. Estado del Arte	19
3. Materiales y Métodos	24
3.1 Tipo de Investigación	24
3.2 Población y Muestra	24
3.2.1 Población	24
3.2.2 Muestra	24
3.3 Fases de la Investigación	24
3.3.1 Ensayo de Toxicidad	24
3.3.2 Germinación de Semillas y Crecimiento Radicular	26
3.3.3 Índice Mitótico	27
3.3.4 Anomalías Celulares	27
3.3.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico	28
4. Resultados y Discusión	29

4.1 Resultados	29
4.1.1 Longitud Radicular	29
4.1.2 Índice Mitótico	33
4.1.3 Anomalías Celulares	36
4.1.4 Índice de Micronúcleos	41
4.2 Discusión	42
4.2.1 Longitud Radicular	42
4.2.2 Índice Mitótico	44
4.2.3 Anomalías Celulares	45
4.2.4 Índice de Micronúcleos	46
5. Conclusiones	48
Referencias Bibliográficas	50

## Lista de Figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Bulbos de <i>A. cepa</i> expuestos a la acción del amonio cuaternario	25
Figura 2. Semillas de <i>L. culinaris</i> expuestas a la acción del amonio de amonio cuaternario	25
Figura 3. Semillas de <i>P. sativum</i> expuestas a la acción del amonio de amonio cuaternario	26
Figura 4. Raíces de <i>A. cepa</i> en diferentes concentraciones de amonio cuaternario	30
Figura 5. Raíces de <i>L. culinaris</i> en diferentes concentraciones de amonio cuaternario	31
Figura 6. Raíces de <i>P. sativum</i> en diferentes concentraciones de amonio cuaternario	32
Figura 7. Interfase y fases de la mitosis en <i>A. cepa</i> .	34
Figura 8. Interfase y fases de la mitosis en <i>L. culinaris</i>	35
Figura 9. Interfase y fases de la mitosis en <i>P. sativum</i>	35
Figura 10. Anomalías celulares en <i>A. cepa</i>	38
Figura 11. Anomalías celulares en <i>L. culinaris</i>	39
Figura 12. Anomalías celulares en <i>P. sativum</i>	39

## Lista de Tablas

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Longitud radicular y porcentaje de crecimiento relativo de las raíces en <i>A. cepa</i> , <i>L. culinaris</i> y <i>P. sativum</i>	33
Tabla 2. Índice mitótico y porcentaje de inhibición de mitosis en <i>A. cepa</i> , <i>L. culinaris</i> y <i>P. sativum</i>	36
Tabla 3. Anomalías celulares en <i>A. cepa</i> , <i>L. culinaris</i> y <i>P. sativum</i>	40
Tabla 4. Índice de micronúcleos y tasa relativa de anormalidad en <i>A. cepa</i> , <i>L. culinaris</i> y <i>P. sativum</i>	42

## Resumen

El amonio cuaternario es un tensioactivo y desinfectante de amplio espectro, debido a su capacidad bactericida, fungicida y virucida, se aumentó su uso durante la pandemia por la COVID-19. Plantas como *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum* son excelentes modelos biológicos reportados para determinar la citotoxicidad de compuestos químicos, debido a su alta sensibilidad. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto citotóxico del amonio cuaternario de quinta generación empleando las tres especies mencionadas como bioindicadores. Se expusieron bulbos de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris* y *P. sativum* en diferentes concentraciones de amonio cuaternario de quinta generación (0,1, 0,5, 1, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm) y en una solución testigo de agua destilada durante 72 horas, por 3 y 5 réplicas respectivamente. Al término del tiempo de exposición de las especies, se realizó la respectiva tinción y el montaje. Los hallazgos de este estudio demostraron que *A. cepa* evidenció la mayor reducción de la longitud radicular en el T9:50 ppm, no registró índice mitótico en los T8:40 ppm y T9:50 ppm y alcanzó el 100% de inhibición mitótica en los T8:40 ppm y T9:50 ppm. Hubo presencia de anomalías celulares en las tres especies bioindicadoras, mostrándose el mayor índice de micronúcleos en el T9:50 ppm de las tres especies, registrando *A. cepa* la mayor tasa relativa de anormalidad (25,28%). Se concluyó que el amonio cuaternario de quinta generación en todas las concentraciones ocasionó efecto citotóxico sobre las células meristemáticas apicales de las tres especies, siendo *A. cepa* la especie más sensible.

**Palabras claves:** Amonio cuaternario, Bioindicadores, citotoxicidad, índice mitótico, micronúcleos.

## Introducción

El amonio cuaternario es una familia de compuestos químicos que comprende en su estructura básica un catión de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), el cual al ser modificados comprende una gama distinta de agentes desinfectantes. Estos compuestos químicos son solubles en agua y alcohol, actúan principalmente en medio alcalino, pero también puede actuar en medio ácido (Diomedi et al., 2017), a su vez tienen propiedades tensioactivas (Gerba, 2015) y tienen presión de vapor muy baja (DeLeo et al., 2020). Los compuestos de amonio cuaternario son conocidos por la sigla QACs, por sus iniciales en inglés (Hora et al., 2020).

Los QACs comprenden distintas generaciones de antisépticos producto de su modificación, el de primera generación tiene al cloruro de Benzalconio que presenta un grupo alquilo con más números de carbonos permitiéndoles una mayor potencia antimicrobiana, en los últimos años es utilizado como antiséptico y se emplea constantemente en la desinfección de centros hospitalarios. Los de segunda generación comprenden al cloruro de etilbencilo y los de tercera generación son mezclas de moléculas de los de primera y segunda generación, estos presentan un amplio espectro desinfectante y la resistencia microbiana se ve reducida frente al uso repetido de un solo compuesto. Los de cuarta generación como es el caso del cloruro de didecil-dimetilamonio, caracterizados por su alta tolerancia frente al agua dura y a las cargas de las proteínas, son conocidos también como cadena gemela debido a sus cadenas di-alquílicas lineales. Son usados mayoritariamente en las industrias de alimentos, textiles y papel. Mientras que los de quinta generación proceden de mezclas de moléculas de los QACs de segunda y cuarta generación, estos se caracterizan por manifestar rendimientos microbiocidas altos, específicamente en condiciones ambientales complejas y son de uso seguro. Otra característica

de los QACs es que a medida que van avanzando las generaciones, su uso es más seguro (Diomedi et al., 2017). De acuerdo con la formulación de los QACs, estos tienen sus ventajas y desventajas para situaciones específicas con fines de desinfectante o sanitizante (Gerba, 2015).

Es de resaltar que los QACs presentan compuestos desinfectantes con diversos usos en una variedad de productos comerciales y de limpieza (DeLeo et al., 2020), es decir en los productos domésticos e industriales los QACs se aplican ampliamente (Zhang et al., 2015), también son usados para la limpieza y desinfección de superficies de paredes, puertas, pisos y vidrios de centros clínicos y hospitalarios, del mismo modo para camas, mesas, monitores, atriles, máquinas de imagenología y de diálisis, entre otras, así como artículos no críticos esfigmomanómetros, oxímetros de pulso, entre otros. Los QACs tienen un alto reconocimiento de no ser corrosivos para los metales. (Diomedi et al., 2017).

De acuerdo con el modo de acción de los QACs, estos agentes activos interactúan con la membrana de las bacterias y los lípidos de los virus (Gerba, 2015). Según la Agencia de protección ambiental de Estados Unidos (EPA por sus iniciales en inglés) los QACs están en la lista de productos desinfectantes para uso contra la COVID-19.

Debido a la pandemia por el virus SARS-CoV-2 causante de la COVID-19, el uso de los QACs es probable que hayan aumentado en el hogar, el trabajo y la industria, debido a su capacidad de inactivar el virus y de esta forma mitigar la propagación de la infección. Sin embargo, por el alcance de la pandemia, el uso seguirá aumentando (Hora et al., 2020).

Los QACs desinfectantes son en su mayor parte biodegradables (Diomedi et al., 2017), sin embargo, por sus estructuras químicas, por la concentración de oxígeno disuelto y la

formación de complejos con tensioactivos anionicos, la degradación aeróbicamente de los QACs se ve afectada, a pesar de que se consideren biodegradables (Zhang et al., 2015).

Los QACs después de su uso, suelen ser eliminados en los sistemas de tratamiento de aguas residuales por medio del desagüe. Por tal razón en el medio acuático, recae el potencial de mayor efecto ambiental, en los efluentes tratados y en los suelos que podrían estar modificándose con biosólidos de aguas residuales. (DeLeo et al., 2020). Es de resaltar que debido su fuerte absorción y resistencia a la biodegradación en anóxico y condiciones anaeróbicas, los QACs se han detectado en gran abundancia en muestras de sedimentos y lodos (Zhang et al., 2015). Según Mulder et al., (2018) los QACs que son cargados positivamente son absorbidos prioritariamente en minerales de suelos arcillosos, donde estos quedan en las regiones de las capas intermedias de silicatos estratificados, de esta forma reduciendo su toxicidad aguda y aumentando su persistencia. Sin embargo, la liberación de estos QACs puede mantener potencialmente los niveles de concentración.

Algunos microorganismos como bacterias han desarrollado resistencia a antibióticos, debido al uso excesivo de los QACs en el sector doméstico y en el industrial (Zhang et al., 2015).

Según Hora et al., (2020), es importante evaluar los impactos ambientales por el elevado uso de los QACs, los cuales pueden estar permitiendo la proliferación de resistencia a los antibióticos en algunas bacterias, el impacto en la biota presente en aguas superficiales e interrumpiendo las operaciones en la unidad de tratamiento de aguas residuales y en la formación de subproductos de desinfección como la nitrosamina.

Para los peces, dafnidos, algas, rotíferos y microorganismos empleados en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, los QACs son considerados tóxicos (Zhang et al., 2015).

En un estudio sobre la influencia del adyudante de amonio cuaternario y silicio orgánico sobre la actividad del insecticida acetamiprid, en el organismo *D. magna*, cinco tensioactivos de amonio cuaternario mostraron toxicidades extremadamente altas, mientras que para el organismo *B. rerio* mostraron toxicidad alta (Li et al., 2017).

Para detectar mutágenos ambientales, se utilizan con frecuencia las plantas superiores, dado que son conocidas como excelentes modelos genéticos para estos estudios de seguimiento (Leme y Marín, 2009). Los bioensayos con semillas de plantas vasculares son consideradas como una excelente herramienta para la evaluación de riesgos ambientales debido a su mayor sensibilidad (Pentreath et al., 2015). *Allium cepa* L. es una de las especies vegetales más empleadas para la identificación de distintos cambios genéticos causados por agentes químicos (Causil et al., 2017). A su vez esta planta es reconocida por su uso para evaluar daños en el ADN, ya sea alteraciones en el ciclo mitótico o por la presencia de aberraciones cromosómicas (Leme y Marín 2009).

El potencial citotóxico y genotóxico en células de los meristemos apicales de *A. cepa* ha sido evaluada en aguas de ríos y sedimentos, un reporte describe que el agua recolectada en los sitios más cercanos a la ruptura de una presa del río Paraopeba (Minas Gerais, Brasil) generó mayor frecuencia de daño genético y una menor tasa de división celular con respecto a las muestras tomadas río arriba, en el caso las muestras con sedimentos colectadas, la tasa de división celular y el daño genético fue reportada en los muestreos más cercanos a la presa. Otros resultados fueron las concentraciones de metales disueltos y en el agua total con respecto al índice mitótico manifestando una asociación negativa. En las células expuestas de *A. cepa* expuestas a sedimentos la frecuencia de aberraciones y el índice mitótico se asociaron

negativamente con los niveles de la mayoría de elementos en las fracciones biodisponibles y totales (Da Silva et al., 2021).

Por otra parte, *Lens culinaris*, es una especie bioindicadora eficaz para evaluar efectos citogenotóxicos de cualquier sustancia potencialmente tóxica (Salazar y Quintero, 2020), esta especie también ha sido empleada para determinar el efecto citotóxico del pesticida malatión, encontrándose anomalías como micronúcleos e indicando que es una especie bioindicadora de alto grado de toxicidad a nivel celular (Salazar y Quintero, 2020). *L. culinaris* es una especie recomendada para establecer comparaciones con múltiples bioindicadores debido a su alternativa práctica y económica (Salazar y Quintero, 2021).

En el caso del *Pisum sativum*, Salazar et al., (2019) afirman que es una especie modelo experimental factible para evaluar el efecto citotóxico de cualquier sustancia citotóxica, dado que un estudio evaluaron el efecto citotóxico del hipoclorito de sodio a partir de diferentes concentraciones, encontrando una inhibición de la mitosis superior al 50% y la presencia de anomalías cromosómicas en todas las concentraciones evaluadas, tales como cromosomas rezagados, rupturas cromosómicas y muesca nuclear, también encontraron que en las concentraciones de 2.0 y 1.6 mgL<sup>-1</sup> hubo presencia de micronúcleos, permitiéndoles determinar que el hipoclorito de sodio es una sustancia química altamente citotóxica.

Esta investigación se plantea debido a la escasa información disponible y estudios comparativos sobre el efecto citotóxico del amonio cuaternario en células apicales de plantas bioindicadoras, dado que este compuesto ingresa al ambiente como residuos de actividades industriales, agrícolas y de limpieza, los cuales han venido en aumento debido al alto índice de uso por el crecimiento demográfico y por la pandemia causada por la COVID-19. Por tal razón el objetivo

general de la presente investigación será determinar el efecto citotóxico del amonio cuaternario empleando *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med., y *Pisum sativum* L. como bioindicadores.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo General

Determinar el efecto citotóxico del amonio cuaternario empleando *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. como bioindicadores.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Evaluar la longitud radicular y el porcentaje de crecimiento relativo de los meristemos radiculares de *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. sometidos a diferentes concentraciones de amonio cuaternario.

Determinar el índice mitótico y las anomalías celulares presentes en las células de los meristemos radiculares de *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. obtenidas de las diferentes concentraciones de amonio cuaternario.

Evaluar los porcentajes de inhibición mitótica en células radiculares de *Allium cepa* L., *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. obtenidas de las diferentes concentraciones de amonio cuaternario.

## 2. Estado del Arte

El amonio cuaternario es un compuesto químico ampliamente usado para labor de limpieza y desinfectante en diversos campos de la actividad humana, como en el sector de salud, agrícola, industrial, domestico, entre otros. El potencial citotóxico de algunas generaciones de los QACs ha sido evaluado en diferentes microorganismos, invertebrados, organismos acuáticos a nivel mundial, sin embargo, en semillas de plantas bioindicadoras son pocos los registros. Según Di Nica et al., (2017) en un estudio de investigación donde evaluaron la toxicidad de los QACs, individualmente y mezclados, utilizaron la bacteria bioluminiscente *Aliivibrio fischeri*, donde encontraron una toxicidad aguda considerable en todos los QACs, tanto a nivel individual como en diferentes combinaciones de mezclas binarias, los resultados que publicaron registraron valores de IC50 (Índice de citotoxicidad medio) inferiores a 1 mg L-1. También obtuvieron que el cloruro de hexadecil trimetil amonio (ATMAC-16) tuvo comportamiento narcótico polar manifestando una baja reactividad con la membrana celular bacteriana.

Por otra parte en una investigación realizada por Li et al., (2018) evaluaron los efectos sinérgicos de los QACs con el indoxacarb que es un plaguicida, en los insectos lepidópteros *Spodoptera exigua* y *Agrotis ipsilon*, y el organismo acuático, *Daphnia magna*, donde lograron determinar que cinco QACs evaluados aumentaron la toxicidad del indoxacarb en los dos insectos, siendo el cloruro de bencil dimetil tetradecilamonio (TDBAC) y el cloruro de Benzododecinio (DDBAC) los de mayor significancia para *S. exigua*. Es de resaltar que, en esta investigación, los QACs más efectivos con el sinergismo con el indoxacarb, generaron mayor toxicidad, bien sea únicamente o conjuntamente en la *D. magna*. Sin embargo, resaltaron que este tipo de investigaciones que busca promover la eficacia del manejo de plagas a partir de la búsqueda de sinergismos, los riesgos toxicológicos para los organismos acuáticos no deben

pasarse por alto. En las células del ser humano también han evaluado la citotoxicidad de los QACs, Debbasch et al., (2001) realizaron un estudio del efecto del amonio en una línea de células epiteliales conjuntivales humanas (Chang), donde el cloruro de Benzalconio (BAC), Bromuro de Benzododecinio (BOB) y cetramida (Cet) fueron los más citotóxicos, también evidenciaron la presencia de un mecanismo de apoptosis en concentraciones bajas de amonio cuaternario y presencia de un mecanismo necrótico en concentraciones más altas de amonio cuaternario.

En un estudio más reciente Bravo y Garrido (2020) lograron determinar la respuesta celular del amonio cuaternario en preparaciones dentales, donde comprobaron que a mayor concentración del compuesto químico y mayor tiempo de exposición, ocurrió una disminución de la cantidad de células. Para las células madre que obtuvieron de las pulpas dentales de terceros molares, el amonio cuaternario con concentración 1 % fue citotóxico, mientras que la concentración al 2% la citotoxicidad fue mayor y manifestó menos cantidad de células.

Según Biczak et al., (2017) en un estudio en donde los QACs estructuralmente diferentes se aplicaron en forma de pulverización foliar y aplicación al suelo en tres especies de malezas, galan soldado (*Galinsoga parviflora Cav*) pata de ganso blanca (*Chenopodium álbum L.*) y acedera común (*Rumex acetosa L.*) siendo la aplicación al suelo la que mayor presentó fuertes propiedades herbicidas de los compuestos examinados, presentándose inhibición del crecimiento brotes y raíces de plantas. De acuerdo con la actividad herbicida, el compuesto Tetrafluoroborato de tetrahexilamonio [THA] [BF<sub>4</sub>] demostró ser más débil en comparación con los compuestos Tetrafluoroborato de tetrabutilamonio [TBA] [BF<sub>4</sub>] y Hexafluorofosfato de tetrabutilamonio [TBA] [PF<sub>6</sub>] que demostraron ser los más fuertes. La inhibición de la longitud de los brotes y

raíces, el cambio en el contenido de peso seco y la disminución en los pigmentos de asimilación fue ocasionada por la mayor concentración de QACs.

Según Bickzak et al., (2018) en un estudio en donde evaluaron el efecto de tres QACs como el tetrametilamonio [TMA] [PF<sub>6</sub>], tetrabutilamonio [TBA] [PF<sub>6</sub>] y tetrahexilamonio [THA] [PF<sub>6</sub>] hexafluorofosfatos en *Hordeum vulgare* (Cebada de primavera) *Raphanus sativus* L. subvar. *Radicula Pers.* (Rábano común), estos QACs demostraron exhibir una alta fitotoxicidad, siendo *Hordeum vulgare* la más sensible a estos compuestos químicos. Entre otros resultados observaron acumulación de flúor en las células de ambas especies, disminución del peso fresco e inhibición en el crecimiento de las plantas y sus raíces. La interacción entre las dos especies de plantas terrestres y los QACs con anión hexafluorofosfato diferenciados por el número de átomos en los sustituyentes alquilo, dependió principalmente por la concentración utilizada de estos compuestos químicos, la longitud del sustituyente y la especie vegetal.

En plantas de trigo cultivadas hidropónicamente, Li et al., (2019) examinaron los efectos de tres QACs típicos, los cuales son el cloruro de dodeciltrimetilamonio (DTAC), cloruro de dodecildimetilbencilamonio (DBAC) y cloruro de dimetilamonio (DDAC), donde observaron hormesis y fitotoxicidad después de 14 días de exposición. A medida que aumentaron las concentraciones de 0.05 a 0.8 mg L<sup>-1</sup> el peso fresco de los brotes y raíces aumentó gradualmente. Sin embargo, la inhibición severa del crecimiento de las plantas al disminuir el peso fresco de los brotes y raíces, la longitud total de la raíz y el contenido del pigmento fotosintético, fue debido a las concentraciones más altas de QACs. Según los resultados que obtuvieron, estos pueden usarse para evaluar el riesgo de la toxicidad de los QACs con el medio ambiente y de acuerdo con el orden de fitotoxicidad en las plántulas de trigo, el DDAC fue

menor que DTAC y estos dos menores que DBAC, esto dependió de las concentraciones aplicadas y sus características.

Por otra parte, en las plantas bioindicadoras de *Allium cepa*, *Lens culinaris* y *Pisum sativum* se han realizado estudios que evalúan el potencial citotóxico de compuestos químicos. Salazar et al., (2020), evaluaron el efecto citogenotóxico del propanil en células de meristemos apicales de plantas de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris*, donde realizaron 6 tratamientos con el compuesto químico con las siguientes concentraciones 2, 4, 6, 8, 10 y 12 mg L<sup>-1</sup> encontrando que a partir de 2 mg L<sup>-1</sup> disminuyó el crecimiento de las raíces y el 12 mg L<sup>-1</sup> disminuyó más del 60% del ciclo celular. Sin embargo, todos los tratamientos evidenciaron una disminución del desarrollo de las raíces y la mayor parte de estos manifestaron anomalías cromosómicas, como cromosomas pegajosos en metafase, células binucleadas y ausencia de núcleo. Otras anomalías como la presencia de micronúcleos y los resultados de *L. culinaris* demostraron la alta citogenotoxicidad del compuesto químico y la viabilidad de esta planta como bioindicador para evaluar cualquier sustancia potencialmente citogenotóxica. El estudio comparativo evidenció que la mitosis en *L. culinaris* presentó mayor inhibición que en *A. cepa*.

En el caso del *P. sativum*, Salazar et al., (2019) la consideraron como una especie modelo factible para evaluar el efecto citotóxico de cualquier sustancia citotóxica. En la investigación la planta resultó ser un bioindicador eficaz para evaluar el efecto citotóxico de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio. En este estudio emplearon semillas de *P. sativum* expuestas a diferentes concentraciones del compuesto químico (0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 2 mg L<sup>-1</sup>), donde midieron el crecimiento de las raíces pasadas 24 h, 48 h y 72 h, luego hallaron el índice mitótico (IM) y a partir de 5000 células por tratamiento a las 72 horas, determinaron las anomalías cromosómicas. En los resultados obtenidos en la investigación, observaron una

disminución en el crecimiento de las raíces en las concentraciones 0.4, 1.6 y 3 mg L<sup>-1</sup> y una inhibición de la mitosis superior al 50% en todas las concentraciones evaluadas. Entre las anomalías cromosómicas presentes en todas las concentraciones evaluadas encontraron cromosomas rezagados, muesca nuclear y rupturas cromosómicas. Mientras que la presencia de micronúcleos en las concentraciones de 2.0 y 1.6 mg L<sup>-1</sup> les permitió determinar que este compuesto es altamente citotóxico.

### 3. Materiales y Métodos

#### 3.1 Tipo de Investigación

La presente investigación es de enfoque cuantitativa con componente deductivo dado que se usó la experimentación para relacionar variables dependientes (Citotoxicidad) e independientes (Concentraciones de amonio cuaternario en diferentes plantas) con la respectiva recolección de datos donde posteriormente se realizó el análisis empleando métodos estadísticos.

#### 3.2 Población y Muestra

##### 3.2.1 Población

Bulbos de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris* y *P. sativum*

##### 3.2.2 Muestra

3 bulbos de *A. cepa* y 6 semillas de *L. culinaris* y *P. sativum* por cada tratamiento de amonio cuaternario más un grupo control que comprende agua destilada (9 tratamientos) en 5 repeticiones. Para un total de 28 bulbos de *A. cepa*, 30 semillas de *L. culinaris* y 30 semillas de *P. sativum*.

#### 3.3 Fases de la Investigación

##### 3.3.1 Ensayo de Toxicidad

Se expusieron 9 tratamientos con las siguientes concentraciones de amonio cuaternario: 0,1, 0,5, 1, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm o mg L<sup>-1</sup> (Hora et al., 2020; DeLeo et al., 2020; Gerba, 2015; Cooper, 1988) y un control positivo (Agua destilada) en bulbos de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris* y *P. sativum*. Siguiendo el protocolo usado por Causil et al., (2017), se empleó 3 bulbos

de *A. cepa* en cada tratamiento por 3 réplicas (28 bulbos en total) en recipientes plásticos limpios con 25 mL de cada concentración (Figura 1). Para *L. culinaris* y *P. sativum* se aplicó el método propuesto por Salazar et al., (2020) con algunas modificaciones, donde se expusieron 6 semillas en cada tratamiento por 5 réplicas (30 semillas por cada especie) en cajas de Petri de 100 mm de diámetro y se situaron en papel filtro de 90 mm de diámetro con nivel de porosidad equivalente al papel Whatman® N°3. Posteriormente se adicionaron 25 mL de cada una de las concentraciones a cada caja de Petri y se sellaron con papel Parafilm®, luego se ubicaron en la oscuridad durante 72 horas a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  para evitar la desecación. En el control positivo se emplearon semillas germinadas en cajas de Petri con 25 mL de agua destilada (Figura 2 y 3).



**Figura 1.** Bulbos de *A. cepa* expuestos a la acción del amonio cuaternario



**Figura 2.** Semillas de *L. culinaris cepa* expuestas a la acción del amonio cuaternario



**Figura 3.** Semillas de *P. sativum* expuestas a la acción del amonio cuaternario

### 3.3.2 Germinación de Semillas y Crecimiento Radicular

La germinación de una semilla comienza con la absorción de agua, cuando la semilla seca está en reposo y culmina cuando hay presencia de la protuberancia de la radícula por medio de las capas que la envuelven (Tuan et al., 2019). Para evaluar la toxicidad de compuestos orgánicos e inorgánicos, se hace uso de la prueba de germinación de semillas y elongación de raíces (Di Salvatore et al., 2008).

Una vez el tiempo estimado de la exposición con cada uno de los tratamientos de amonio cuaternario, se realizó el conteo de semillas germinadas y aquellas que logren una longitud mayor a 1mm serán tenidas en cuenta (Di Salvatore et al., 2008). El crecimiento radicular de las tres especies bioindicadoras se evaluó al final de la exposición en cada una de las soluciones a las que fueron expuestas, donde se realizó la medición de la longitud de la radícula de las plantas. De acuerdo con Bosker et al., (2019) los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de crecimiento relativo de las raíces (RRG por sus siglas en inglés) y se expresaron con la fórmula:

$$RRG(\%) = \frac{\text{Mean root length in concentration}}{\text{Mean root length in control}} \times 100$$

### 3.3.3 Índice Mitótico

El índice mitótico (IM) es aquel que permite conocer si hay presencia o inhibición de la división celular, cuando hay alteraciones inhibitorias el IM es inferior al valor del control negativo, en cambio si el IM es superior indica un incremento en la división celular debido a las sustancias químicas empleadas en el ensayo (Restrepo et al., 2012).

Para el protocolo de tinción, una vez pasadas las 72 horas después de la siembra, se aplicó el protocolo empleado por Causil et al., (2017) con modificaciones, donde las puntas de las raíces de las tres especies bioindicadoras de tamaño aproximado de 1 mm, se enjuagaron con agua del grifo, se sometieron en HCl 2 N por 15 minutos y se tiñeron durante 10 minutos con el compuesto aceto-orceína. Luego se dispusieron en un portaobjetos y se ejerció presión con un cubreobjetos para lograr hacer visible cada fase celular mediante la dispersión de las células (Salazar et al., 2019; Salazar y Maldonado, 2020) en el microscopio (OPTIKA C-B 10).

Para el índice mitótico se analizaron 1000 células por 5 réplicas (5000 células por tratamiento) empleando la siguiente formula:

$$\text{Mitotic index (\%)} = \frac{\text{Number of dividing cells}}{\text{Total number of cells}} \times 100$$

### 3.3.4 Anomalías Celulares

Las aberraciones cromosómicas son cambios cromosomales que las estructuras genéticas sufren o el total de cromosomas, lo cual puede generarse por agentes químicos o físicos de manera espontánea (Restrepo et al., 2012).

Para determinar las clases de anomalías que se presentaron, se empleó la siguiente fórmula aplicada en la metodología de Salazar y Maldonado, (2020).

$$\text{Relative abnormality rate (\%)} = \frac{\text{Total number of abnormal cells}}{\text{Total number of cells observed}} \times 100$$

Durante la mitosis quedan fuera del núcleo, unos fragmentos o cromosomas completos, los cuales se denominan micronúcleos (Torres y Ramos, 2013). El índice de micronúcleos (MNI por sus siglas en inglés) se determinó mediante la fórmula empleada por Scherer et al., (2019)

$$\text{MNI} = \frac{\text{Total of cells with micronucleus}}{\text{Total of cells observed}} \times 100$$

### 3.3.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se realizó un diseño de bloques completamente al azar con bulbos de *A. cepa* y semillas de *L. culinaris* y *P. sativum* expuestos a 9 tratamientos que comprende diferentes concentraciones de amonio cuaternario más un grupo control (Agua destilada), en un tiempo de exposición de 72 horas. Para el análisis estadístico sobre los datos obtenidos de la germinación, crecimiento radicular, índice mitótico y anomalías celulares se empleó un análisis de varianzas (ANOVA) y la prueba de rango múltiple HSD (Honestly Significant Difference) de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) mediante el software estadístico Statgraphics Centurion® versión XVII.

## 4. Resultados y Discusión

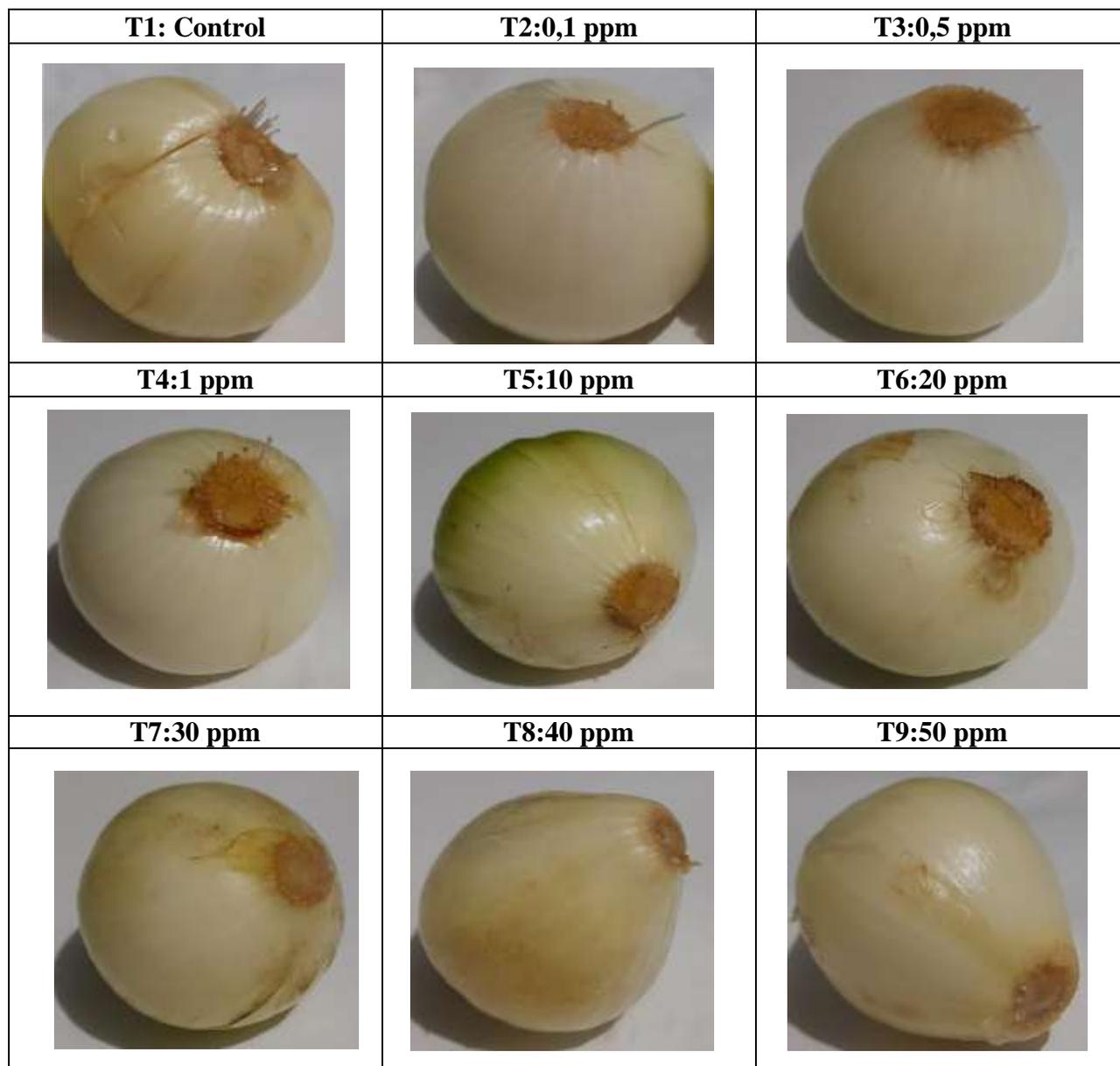
### 4.1 Resultados

#### 4.1.1 longitud Radicular

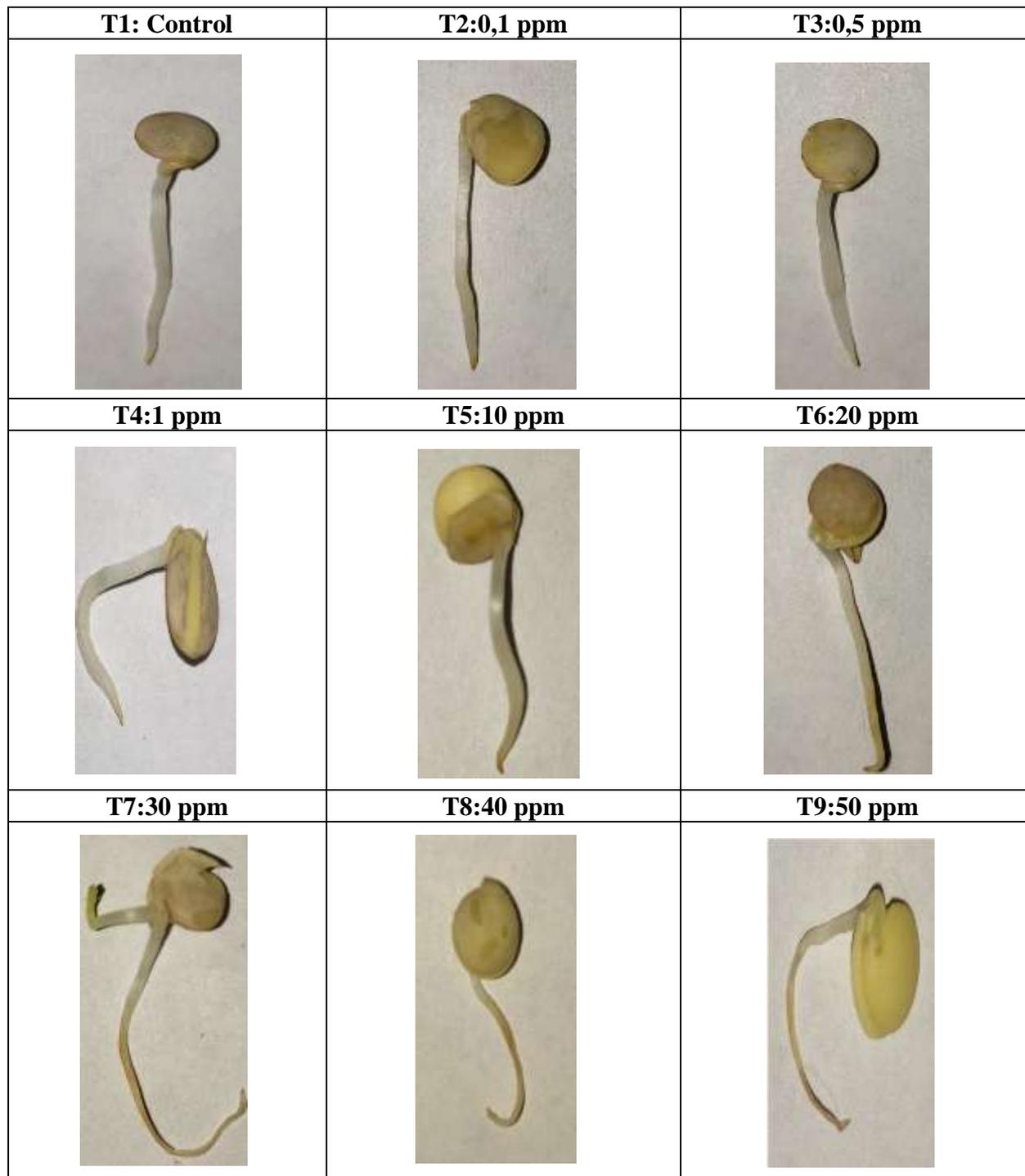
Al termino de las 72 horas de exposición de las especies *A. cepa* (figura 4), *L. culinaris* (figura 5), y *P. sativum* (figura 6), en diferentes tratamientos de amonio cuaternario (50, 40, 30, 20, 10, 1, 0,5, 0,1 ppm) más el grupo control (Agua destilada) se determinaron las longitudes radiculares presentadas y el porcentaje de crecimiento relativo de las raíces.

En el bioindicador *A. cepa* los tratamientos T9:50 ppm ( $0,1\pm 0,1$ ) y T8:40 ppm ( $0,15\pm 0,15$ ) fueron los que menor longitud radicular manifestaron sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos, mientras que en el T1: Control ( $0,36\pm 0,05$ ) existió la mayor longitud radicular y no tuvo diferencias significativas con los tratamientos T2:0,1 ppm ( $0,34\pm 0,05$ ), T3:0,5 ppm ( $0,32\pm 0,04$ ), T4:1 ppm ( $0,32\pm 0,03$ ) y T6:20 ppm ( $0,25\pm 0,02$ ). En *L. culinaris* el tratamiento donde hubo mayor inhibición radicular fue el T9:50 ppm ( $1,56\pm 0,12$ ), el cuál no tuvo diferencias significativas con los tratamientos T8:40 ppm ( $1,6\pm 0,05$ ), T6:20 ppm ( $1,7\pm 0,04$ ), T5:10 ppm ( $1,8\pm 0,16$ ), y T2:0,1 ppm ( $2,01\pm 0,16$ ). En el T1: Control ( $2,13\pm 0,04$ ) existió la mayor longitud radicular y no tuvo diferencias significativas con los T2:0,1 ppm ( $2,01\pm 0,16$ ), T3:0,5 ppm ( $2,07\pm 0,06$ ), T4:1 ppm ( $2,11\pm 0,07$ ), T5:10 ppm ( $1,8\pm 0,16$ ), T6:20 ppm ( $1,7\pm 0,04$ ) y T7:30 ppm ( $2,12\pm 0,7$ ). Por su parte en *P. sativum* el tratamiento que manifestó menor longitud radicular correspondió al T3:0,5 ppm ( $0,5\pm 0,1$ ) el cuál no tuvo diferencias significativas con el resto de tratamientos y en el T1: Control (1,3) se registró la mayor longitud radicular. De acuerdo con el porcentaje de crecimiento relativo de las raíces, en *A. cepa*, el tratamiento T2:0,1 ppm comprendió el mayor porcentaje con un valor de 94,4%, mientras que el

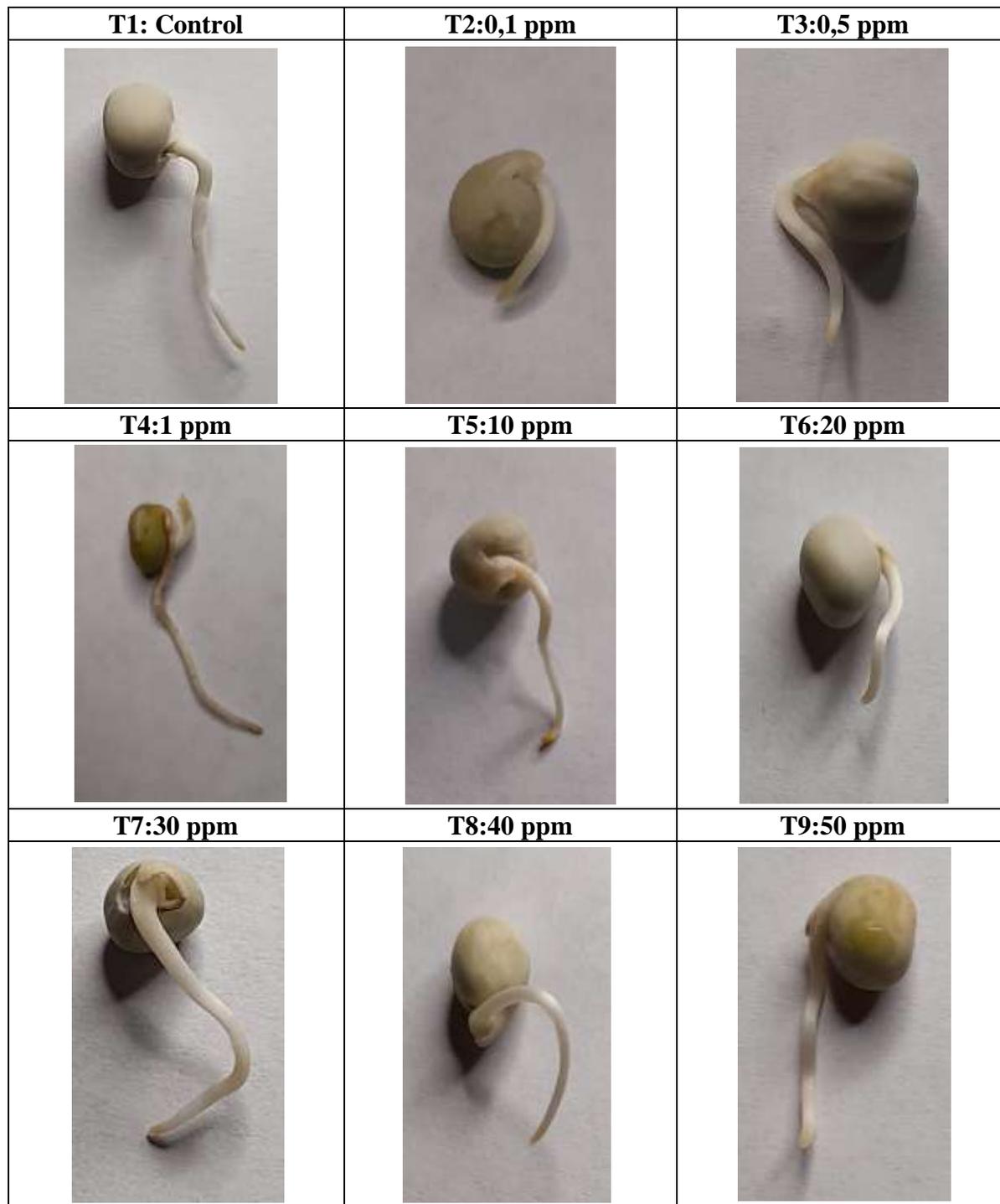
tratamiento T9:50 ppm manifestó el menor con 27.7%. En *L. culinaris*, el tratamiento T7:30 ppm registró el mayor porcentaje de crecimiento radicular con un 99,5%, mientras que el menor crecimiento correspondió al tratamiento T9:50 ppm con 73,2%. En *P. sativum* el mayor porcentaje lo evidenció al tratamiento T8:40 ppm con 61,5% y el de menor porcentaje fue el tratamiento T3:0,5 ppm con 38,4% (Tabla 1).



**Figura 4.** Raíces de *A. cepa* en diferentes concentraciones de amonio cuaternario



**Figura 5.** Raíces de *L. culinaris* en diferentes concentraciones de amonio cuaternario



**Figura 6.** Raíces de *P. sativum* en diferentes concentraciones de amonio cuaternario

**Tabla 1** Longitud radicular y porcentaje de crecimiento relativo de las raíces en *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*

Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Longitud radicular			Porcentaje de crecimiento relativo de las raíces (CRR)		
	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>
T1:Control	0,36±0,05a	2,13±0,04a	1,3a	-----	-----	-----
T2:0.1	0,34±0,05a	2,01±0,16 <sup>a,c</sup>	0,6±0,4b	94,4	94,3	46,1
T3:0.5	0,32±0,04 <sup>a,b</sup>	2,07±0,06 <sup>a,b</sup>	0,5±0,1b	88,8	97,1	38,4
T4:1	0,32±0,03 <sup>a,b</sup>	2,11±0,07 <sup>a,b</sup>	0,6±0,2b	88,8	99,1	46,1
T5:10	0,23±0,08 <sup>b,cd</sup>	1,8±0,16 <sup>a,b,c</sup>	0,59±0,1b	66,3	84,5	45,3
T6:20	0,25±0,02 <sup>a,b,c</sup>	1,7±0,04 <sup>a,b,c</sup>	0,74±0,2b	69,4	79,8	56,9
T7:30	0,2±0,01 <sup>c,d</sup>	2,12±0,7 <sup>a,b</sup>	0,73±0,22b	55,5	99,5	56,1
T8:40	0,15±0,15 <sup>d,e</sup>	1,6±0,05 <sup>b,c</sup>	0,8±0,17b	41,6	75,1	61,5
T9:50	0,1±0,1e	1,56±0,12c	0,6±0,3b	27,7	73,2	46,1

En esta tabla, los valores de medias ± DE representada con letra diferente indicarán diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

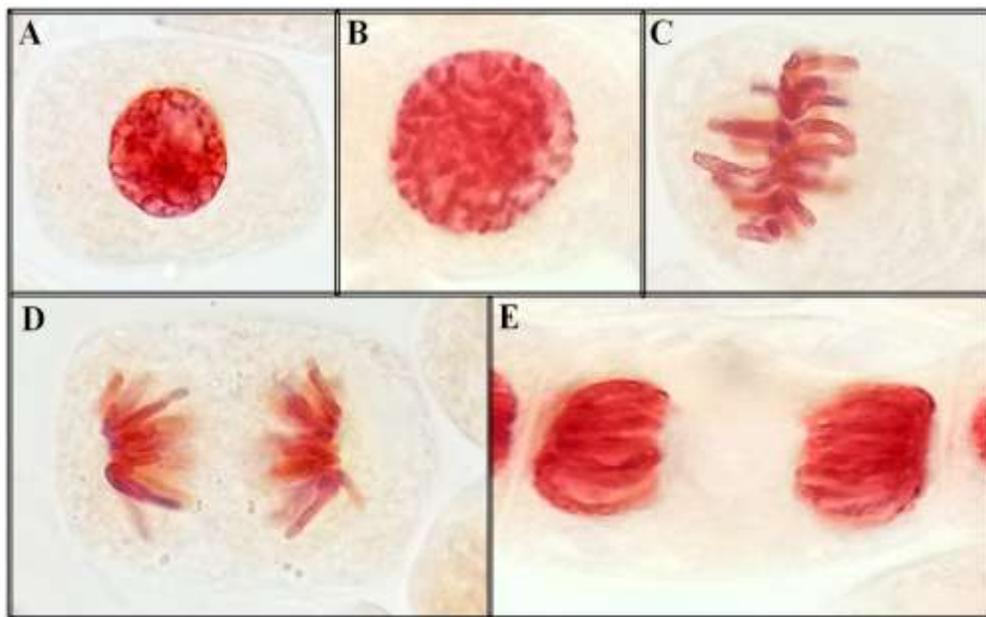
#### 4.1.2 Índice Mitótico

Se observó la presencia de la interfase y las fases de la mitosis en los tratamientos T1: Control en *A. cepa* (Figura 7), *L. culinaris* (Figura 8) y *P. sativum* (Figura 9).

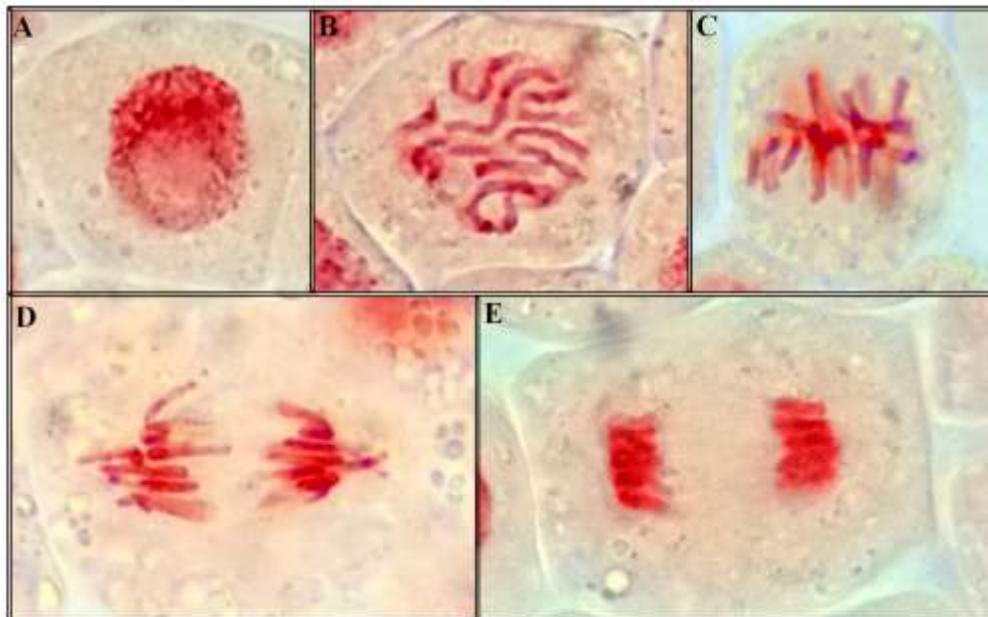
Para determinar el efecto de los tratamientos de amonio cuaternario en el ciclo celular de los meristemos apicales de *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*, se obtuvieron los índices mitóticos (IM). En *A. cepa* hubo inhibición del índice mitótico en los tratamientos T9:50ppm y T8:40 ppm. En *L. culinaris* el menor índice mitótico se presentó en el tratamiento 9:50 ppm ( $6.8 \pm 0.84$ ), no encontrándose diferencias significativas con el tratamiento T8:40 ppm ( $7.6 \pm 0.55$ ). Mientras que en *P. sativum* el menor índice mitótico se presentó en el tratamiento T9:50ppm ( $8.4 \pm 0.9$ ) sin diferencias significativas con los tratamientos T8:40 ppm ( $8.6 \pm 0.55$ ), T7:30 ppm ( $9.4 \pm 0.54$ ),

T6:20 ppm ( $9,8 \pm 0,83$ ). En las tres especies bioindicadoras el grupo control manifestó el mayor IM.

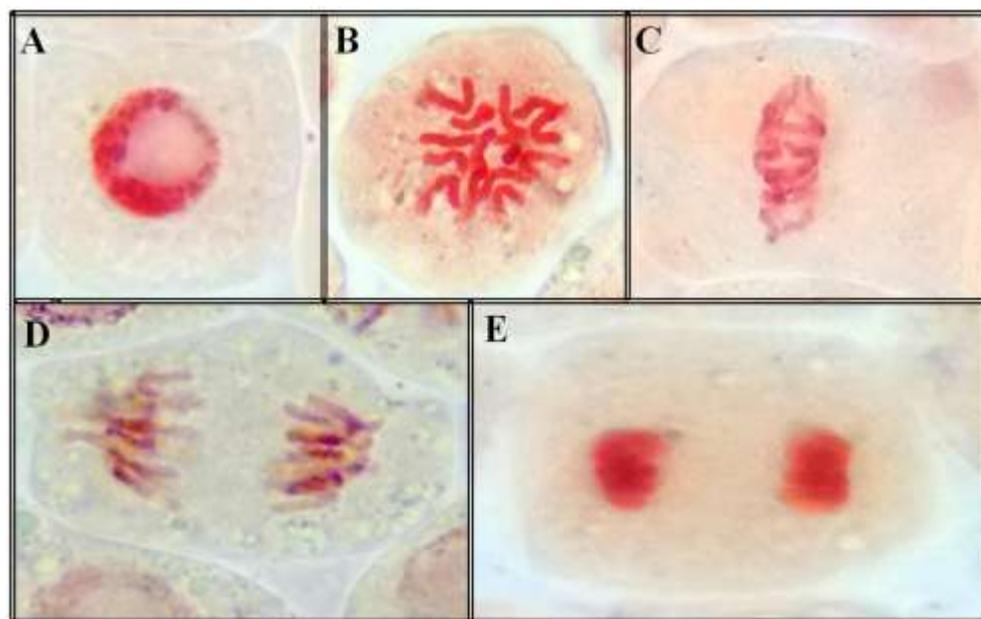
Los resultados obtenidos, determinaron que el mayor porcentaje de inhibición de mitosis en *A. cepa* se presentó en los tratamientos T8:40 ppm (100%) y T9:50 ppm (100%), en *L. culinaris* fue en el tratamiento T9:50 ppm (61%) y en *P. sativum* el tratamiento T8:40 ppm (51,2%) comprendió el mayor porcentaje (Tabla 2).



**Figura 7.** Interfase y fases de la mitosis en *A. cepa*. A= Interfase. B= Profase. C= Metafase .D= Anafase .E= Telofase. Todas pertenecientes al Tratamiento T1 (Control)



**Figura 8.** Interfase y fases de la mitosis en *L. culinaris*. A= Interfase. B= Profase. C= Metafase .D= Anafase .E= Telofase. Todas pertenecientes al Tratamiento T1 (Control)



**Figura 9.** Interfase y fases de la mitosis en *P. sativum*. A= Interfase. B= Profase. C= Metafase .D= Anafase .E= Telofase. Todas pertenecientes al Tratamiento T1 (Control)

**Tabla 2.** Índice mitótico y porcentaje de inhibición de mitosis en *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*

Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Índice Mitótico			Inhibición de mitosis (%)		
	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>
T1:Control	15,8±1,1a	17,6±0,54a	16,4±1,1a	-----	-----	-----
T2:0.1	12,2±1,3b	15,2±0,83b	15,2±1,3a,b	22,7	13,6	7,3
T3:0.5	11,2±1,3b	14,8±0,83b	13,8±0,4b,c	29,1	15,4	15,9
T4:1	10,4±0,54b	14,4±0,89b	12,6±1,1c,d	34,1	18,18	23,1
T5:10	7,2±0,84c	12,8±0,84c	11,2±0,4d,e	54,4	27,3	31,7
T6:20	6,2±1,3c	11,8±0,84c	9,8±0,83e,f	60,7	32,9	40,2
T7:30	1,8±0,85d	9,4±0,55d	9,4±0,54e,f	88,6	46,6	42,6
T8:40	0d	7,6±0,55e	8,6±0,55f	100	56,8	51,2
T9:50	0d	6,8±0,84e	8,4±0,9f	100	61	48,9

En esta tabla, los valores de medias ± DE representada con letra diferente indicarán diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.1.3 Anomalías Celulares

En *A. cepa* se presentaron anomalías como presencia de micronúcleos, células binucleadas, ausencia de núcleo, fragmentación nuclear, lesiones nucleares y núcleos alargados, (Figura 10) siendo el tratamiento T9:50 ppm donde mayoritariamente se expresaron. Mientras que otras anomalías como la anafase irregular se presentaron en el T4:1 ppm, puente de anafase en el T5:10 ppm y metafase irregular en el T4:1ppm.

Las células binucleadas (18,2±2,1), la ausencia de núcleo (23,2±2) y las lesiones nucleares (50,6±2,7) en el tratamiento T9:50 ppm comprenden diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Del mismo modo el anafase irregular (6,6±1,1) y la metafase pegajosa (16,2±0,8) en el T4:1 ppm comprendió diferencias con los demás tratamientos.

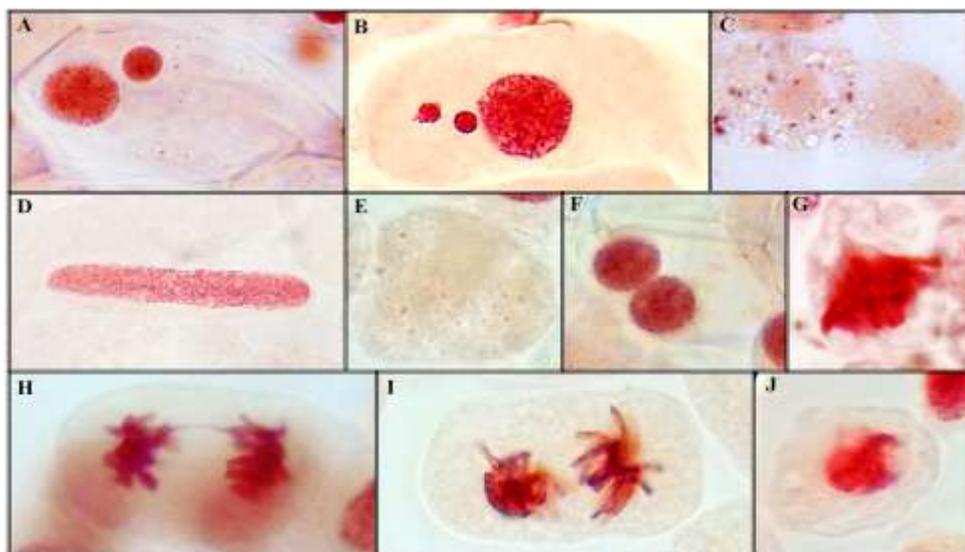
Los micronúcleos ( $58,2\pm 6,9$ ), la fragmentación nuclear ( $48,6\pm 2,5$ ) y los núcleos alargados ( $54\pm 4,9$ ) no tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T9:50 ppm y T8:40 ppm, mientras que el puente en anafase no manifestó diferencias significativas entre los tratamientos T5:10 ppm ( $7,4\pm 0,8$ ) y T4:1 ppm ( $6,2\pm 0,9$ ).

Anomalías como anafase irregular, puente de anafase y metafase pegajosa no se manifestaron en los tratamientos T9:50 ppm y T8:40 ppm.

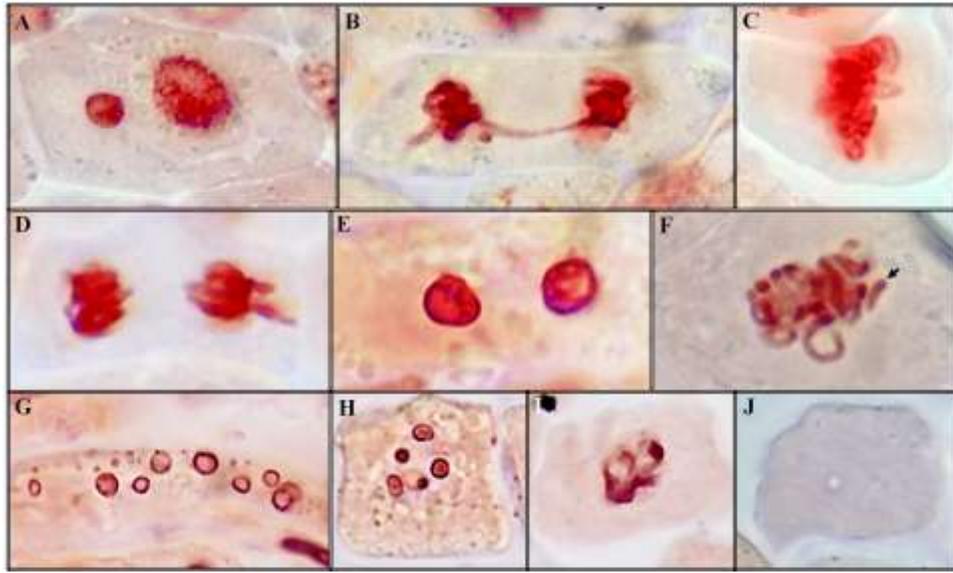
De acuerdo con las anomalías celulares ocasionados por el tensioactivo, en la especie *L. culinaris* (Figura 11), el micronúcleo fue la que se presentó mayormente, siendo el tratamiento T9:50 ppm ( $49,4\pm 3,6$ ) donde más se manifestó, sin diferencias significativas con el tratamiento T8:40 ppm ( $48,2\pm 1,1$ ). Las anomalías de células binucleadas ( $8,8\pm 0,8$ ), la ausencia de núcleos ( $7,4\pm 1,5$ ), la anafase irregular ( $24,4\pm 3,5$ ) y la metafase pegajosa ( $53,4\pm 2$ ) se presentaron con mayor proporción en el tratamiento T9:50 ppm con diferencias significativas con el resto de los tratamientos. La fragmentación nuclear ( $31,8\pm 2,3$ ), lesiones nucleares ( $12\pm 2$ ) y puente en anafase ( $3,0\pm 1$ ) se presentó con valor máximo en el T9:50 ppm, sin embargo, no presentaron diferencias significativas con el T8:40 ppm. Por su parte los cromosomas partidos se presentaron más en el T9:50 ppm ( $3,6\pm 1,1$ ) sin diferencias estadísticas con los T8:40 ppm ( $3,2\pm 1,3$ ) y T7:30 ppm ( $1,8\pm 0,8$ ). Respecto a las anomalías celulares presentes en *P. sativum* (Figura 12), los micronúcleos ( $22\pm 1,7$ ), la ausencia de núcleo ( $26,2\pm 1$ ) y la anafase irregular ( $21,8\pm 2$ ) se presentaron mayoritariamente en el tratamiento T9:50 ppm con diferencias estadísticamente significativas con el resto de tratamientos. En el T9:50 ppm fue donde más veces se encontraron células binucleadas ( $4,6\pm 0,5$ ), puente de anafase ( $5,4\pm 0,8$ ) y metafase pegajosa ( $15,6\pm 0,8$ ), no presentándose diferencias significativas con el tratamiento T8:40 ppm. La fragmentación nuclear ( $20\pm 0,9$ ) y las lesiones nucleares ( $9,4\pm 0,8$ ) son otras anomalías que también se

presentaron superiormente en el tratamiento T9:50 ppm, sin diferencias significativas con los tratamientos T8:40 ppm y T7:30 ppm. Los cromosomas rezagados se presentaron mayormente en el tratamiento T9:50 ppm ( $2,2 \pm 1$ ) sin diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos T8:40 ppm ( $1,8 \pm 0,8$ ), T7:30 ppm ( $1,6 \pm 0,5$ ) y T6:30 ( $1,0 \pm 0,7$ ) ppm.

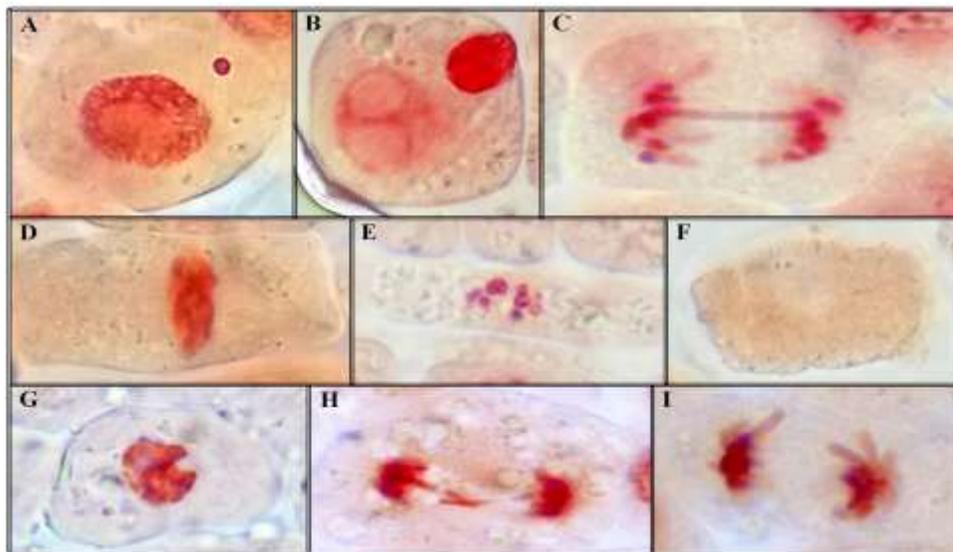
De acuerdo con las 3 especies bioindicadoras, la anomalía que más se presentó en *A. cepa* fue los micronúcleos en el tratamiento T9:50 ppm ( $58,2 \pm 6,9$ ), en *L. culinaris* fue la metafase pegajosa en el tratamiento T9:50 ppm ( $53,4 \pm 2$ ) y en *P. sativum*, fue la ausencia de núcleos en el tratamiento T9:50 ppm ( $26,2 \pm 1$ ) (Tabla 3).



**Figura 10.** Anomalías celulares en *A. cepa*. A, B= Micronúcleos. C= Fragmentación nuclear. D= Núcleo alargado .E= Ausencia de núcleo. F= Célula Binucleada. G=Metafase pegajosa. H= Puente en anafase. I= Anafase irregular. J= Lesión nuclear



**Figura 11.** Anomalías celulares en *L. culinaris*. A= Micronúcleo. B=Puente en anafase. C= Metafase pegajosa. D= Anafase irregular .E= Célula Binucleada. F= Cromosoma partido G, H=Fragmentación nuclear. I= Lesión nuclear. J= Ausencia de núcleo.



**Figura 12.** Anomalías celulares en *P. sativum*. A, B= Micronúcleos. C= Puente en anafase. D= Metafase pegajosa. E= Fragmentación nuclear. F= Célula sin núcleo G= Lesión nuclear. H= Cromosoma rezagado. I= Anafase irregular.

**Tabla 3.** Anomalías celulares en *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*

<i>Allium cepa</i> L.									
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	micronúcleo	C. Binucleada	Ausencia de núcleo	Fragmentación nuclear	Lesiones núcleo	Núcleos alargados	Anafase irregular	Puente en anafase	Metafase pegajosa
T1:Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
T2:0.1	3,8±1a	0a	3,0±0,9b	3,2±1,3 <sup>a</sup> ,b	3±0,7 <sup>a</sup> ,b	6,4±1,8b	1,6±0,5b	1,6±0,5b	8,6±0,5b
T3:0.5	7,8±1,3 <sup>a</sup> ,b	1,6±0,1ab	5,4±0,5b,c	8,4±0,5b,c	6±0,6b	9,6±0,5b,c	3,6±0,6c	3,8±0,8c	10,2±0,8b
T4:1	13,2±1,9b,c	3,6±0,2bc	5,4±0,5b,c	13±0,7c,d	10,6±2,1c	11,8±0,8b,c	6,6±1,1d	6,2±0,9d	16,2±0,8d
T5:10	16,6±1,5b,c	5,2±0,8c	6,8±1,c,d	14,4±0,5c,d	12,2±2,2c	15,2±0,7c,d	4,8±0,8c	7,4±0,8d	14,8±0,4c
T6:20	21,2±0,8c	8,4±0,5d	8,8±0,8d	19,2±0,8d	22,4±1,8d	18,4±2d	1,0±0,7 <sup>a</sup> ,b	0,6±0,5 <sup>a</sup> ,b	0,4±0,5a
T7:30	30,6±8,3d	8,8±0,8d	12,6±1,3e	31,4±7,8e	24,4±1,1d	36,6±2,1e	0,8±0,1 <sup>a</sup> ,b	0,8±0,1 <sup>a</sup> ,b	1±0,1a
T8:40	51±6,9e	15,6±1,8e	16,4±1,3f	43±4,3f	44,2±3,9e	50,4±5f	0a	0a	0a
T9:50	58,2±6,9e	18,2±2,1f	23,2±2g	48,6±2,5f	50,6±2,7f	54±4,9f	0a	0a	0a

<i>Lens. culinaris</i> Med.									
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Micronúcleo	C. Binucleada	Ausencia de núcleo	Fragmentación nuclear	Lesiones núcleo	Cromosoma partidos	Anafase irregular	Puente en anafase	Metafase pegajosa
T1:Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0,4±0,5a
T2:0.1	3,0±0,7a	1,0±0,7a	0a	1,6±0,5a	1,4±0,5a	0a	0a	0a	1,4±0,4a
T3:0.5	8,8±0,8b	2,6±0,8 <sup>a</sup> ,b	0a	2,4±0,4a	3,6±0,4b	0,4±0,5 <sup>a</sup> ,b	1,6±0,5 <sup>a</sup> ,b	0a	5,4±1,1b
T4:1	13,8±1,3c	2,4±1,1a	3,0±0,7b	17,2±2,1b	4,4±0,5b	0,2±0,4a	3,6±0,5b	0,6±0,5 <sup>a</sup> ,b	10±0,7c
T5:10	22,4±1,5d	5,2±1 <sup>a</sup> ,b	3,6±0,5b	23,2±1,3c	9,4±1,3c	1,2±0,4 <sup>a</sup> ,b	6,8±0,83c	1,0±0,7 <sup>a</sup> ,b	15±0,6d
T6:20	25,2±3,9d	6,4±1,3 <sup>a</sup> ,b	4,0±0,7b,c	24,6±3,2c,d	9,8±0,3c	1,4±0,5 <sup>a</sup> ,b	8,0±0,7c,d	1,2±0,4 <sup>a</sup> ,b,c	15,8±1,6d,e
T7:30	37,4±2,8e	7,2±1b,c	3,6±0,8b	27,0±1,2d,e	10,4±0,9c	1,8±0,8c	10,4±0,8d	1,4±0,5b,c	17,8±1,6e
T8:40	48,2±1,1f	7,2±1,6c,d	5,6±1,1c	29,6±1,1e,f	9,6±1,1c,d	3,2±1,3c,d	21,2±1,6e	2,4±0,8c,d	22,4±1,8f
T9:50	49,4±3,6f	8,8±0,8d	7,4±1,5d	31,8±2,3f	12±2d	3,6±1,1c,d	24,4±3,5f	3,0±1d	53,4±2g

<i>Pisum sativum</i> L.									
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Micronúcleo	C. Binucleada	Ausencia de núcleo	Fragmentación nuclear	Lesiones núcleo	Cromosoma rezagado	Anafase irregular	Puente en anafase	Metafase pegajosa
T1:Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
T2:0.1	0,8±0,1a	0a	0a	5,0±1,5b	2,4±1,1b	0a	0a	0a	2,0±0,7a
T3:0.5	2,2±1a	0a	6,4±1,1b	8,0±1,2bc	2,8±0,8b	0a	3,4±0,8b	1,8±0,1b	5,4±0,5b
T4:1	6,0±1,4b	0,8±0,1 <sup>a</sup>	8,6±0,5b,c	10,6±2,6c,d	3,8±1,4b	0a	4,4±0,5b	2,0±0,5b	7,8±0,8b,c
T5:10	9,2±0,8b	2,0±0,2b	10,8±1,3c,d	12,6±1,8d	6,6±1,5c	0,6±0,1 <sup>a</sup> ,b	9,0±0,7c	2,6±0,7c	9,0±1cd
T6:20	11,2±1,6c	2,2±0,4b	11,6±1,8	15,2±0,8	7,2±0,44c	1,0±0,7ab,c	9,8±0,8c	3,4±0,5c,d	11,4±2de

T7:30	13,2±3,4c	2,6±0,4b	12,4±1,9 <sup>d</sup>	18,4±0,9 <sup>e</sup>	7,6±0,8c,d	1,6±0,5bc	12,0±1,7d	4,0±0,5d	12,6±2e
T8:40	18,4±1,22d	3,8±0,4c	15,4±1,5 <sup>d</sup>	17,2±2f <sup>e,f</sup>	8,6±0,5c,d	1,8±0,8bc	16,8±2,1e	4,4±0,7d,e	13,4±2e,f
T9:50	22±1,7e	4,6±0,5c	26,2±1 f <sup>e</sup>	20±0,9f	9,4±0,8d	2,2±1c	21,8±2f	5,4±0,8e	15,6±0,8f

En esta tabla, los valores de medias  $\pm$  DE representada con letra diferente indicarán diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.1.4 Índice de Micronúcleos

Los resultados obtenidos permitieron observar que en *A. cepa* hubo mayor índice de micronúcleos, especialmente en el tratamiento T9:50 ppm ( $5,8 \pm 0,6$ ), el cual no tuvo diferencias significativas con el tratamiento T8:40 ppm ( $5,1 \pm 0,5$ ). Del mismo modo *L. culinaris* presentó el mayor índice de micronúcleos en el tratamiento T9:50 ppm ( $4,9 \pm 0,36$ ) el cual no tuvo diferencias significativas con el T8:40 ppm ( $4,2 \pm 0,1$ ). En el caso de *P. sativum*, el mayor índice lo comprendió el T9:50 ppm ( $2,2 \pm 0,1$ ) presentando diferencias estadísticamente significativas con los demás tratamientos. La tasa relativa de anormalidad fue expresada en porcentaje, siendo los tratamientos T9:50 ppm de las especies *A. cepa* (25,28%) y *L. culinaris* (19,3%) donde mayoritariamente se presentaron. En el caso de *P. sativum*, el T8:40 ppm (9,88%) fue el que presentó la mayor tasa relativa (Tabla 4).

**Tabla 4.** Índice de micronúcleos y tasa relativa de anormalidad en *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*

Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Índice de micronúcleos			Tasa relativa de anormalidad		
	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>	<i>A. cepa</i>	<i>L. culinaris</i>	<i>P. sativum</i>
T1:Control	0a	0a	0a	0	0,06	0
T2:0.1	0,38±0,1a	0,3±0,07a	0,08±0,01a	3,18	0,84	1,01
T3:0.5	0,78±0,13a,b	0,9±0,08b	0,2±0,1a	4,76	2,48	3
T4:1	1,3±0,2b,c	1,4±0,1c	0,6±0,1b	8,66	5,5	4,4
T5:10	1,66±0,1 b,c	2,2±0,1d	0,9±0,01b	9,74	8,78	6,24
T6:20	2,1±0,1c	2,5±0,4d	1,1±0,1c	10,04	9,64	7,3
T7:30	3,0±0,8d	3,7±0,3e	1,3±0,3c	14,7	11,7	8,44
T8:40	5,1±0,5e	4,8±0,1f	1,84±0,12d	22,06	14,94	9,88
T9:50	5,8±0,6e	4,9±0,36f	2,2±0,1e	25,28	19,3	6,7

En esta tabla, los valores de medias ± DE representada con letra diferente indicarán diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey (P≤0.05).

## 4.2 Discusión

### 4.2.1 Longitud Radicular

Las plantas superiores son de importancia para la realización de pruebas genéticas con fines de monitoreamiento de contaminantes que están en el medio ambiente (Khanna y Sharma, 2013). Por lo tanto, para detectar mutagenos químicos, las plantas superiores son un sistema de ensayo de primer nivel (Grant, 1978).

En esta investigación se logró identificar que conforme se aumentó las concentraciones del amonio cuaternario en los tres bioindicadores, ocurría descenso del crecimiento radicular. Al igual que los resultados de Kumar y Singh (2020), donde reportaron que la tasa de crecimiento y división celular en los ápices de las raíces de *A. cepa* fueron afectadas por el malation. Es de resaltar que, de acuerdo con las tres especies, las raíces de *L. culinaris* manifestaron color marrón

en el ápice, con forma raquíca en todas las concentraciones aplicadas, resultados similares a los aportados por Salazar y Maldonado (2020) donde las raíces expuestas a concentraciones mayores de NaClO comprendían forma desvencijado y enfermiza de color amarilla. Con respecto a los resultados obtenidos de las longitudes radicales de los bulbos de cebolla, estos difieren de los reportados por Causil et al., (2017), donde después de 72 h de exposición a distintas concentraciones de NaClO, entre las más bajas, específicamente 0,2 y 1 mg L<sup>-1</sup> tuvieron mayor crecimiento radicular con respecto al grupo control. Según Khanna y Sharma (2013) si existe un 45% de la disminución de la longitud radicular, conllevará también a expresar alteraciones genéticas, presentándose en el T9:50 ppm en *A. cepa* el valor más bajo (27,7%) de porcentaje de crecimiento relativo de las raíces, mientras que en *P. sativum* se presentó en el T3:0,5 ppm (38,4%). Por otra parte, las especies reactivas de oxígeno (ROS) son considerados mensajeros que conducen a la señalización oxidativa, están involucrados con procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, llegando a regular el ciclo celular, la latencia, la germinación de las semillas, el crecimiento radicular, el tubo polínico y el desarrollo de hojas (Choudhary et al., 2020), es decir son importantes en la fisiología de las semillas (Jeevan et al., 2015). A partir del metabolismo celular vegetal, los ROS se producen de forma normal, sin embargo las tensiones ambientales conllevan a la producción excesiva, generando daño oxidativo y progresivo e inclusive la muerte celular (Sharma et al., 2012). En un estudio en plantas de arroz, revelaron que la naturaleza esencial del exceso de estrés interno de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, resultó mantener relación con los estallidos de ROS (Yang et al., 2020). Es importante destacar, que en una investigación la producción de ROS aumentada por el paraquat inhibe la protoporfirina IX, la cual es reportada por su función fundamental para el desarrollo vegetal (Salazar y Quintero, 2020).

#### 4.2.2 Índice Mitótico

El índice mitótico (IM) es un parámetro empleado para evaluar la citotoxicidad de ciertos agentes, está caracterizado por el número total de células en el ciclo celular, por tal razón si existe un aumento o disminución del IM se puede determinar el nivel de citotoxicidad del agente (Ribeiro et al., 2016), si el IM es inferior al grupo control hay presencia de alteraciones inhibitorias, producto de las sustancias químicas empleadas en la investigación (Restrepo et al., 2012). En la presente investigación se encontró que en las tres especies bioindicadoras hubo inhibición de la mitosis, dado que el índice mitótico obtenido de todas las concentraciones empleadas de amonio cuaternario (50, 40, 30, 20, 10, 1, 05, y 0,1 ppm) fueron inferiores al T1: Control (Agua destilada). Caso muy similar al estudio realizado por Salazar y Quintero, (2021) donde determinaron que a medida que aumentan las concentraciones de paraquat en células de meristemas apicales de *L. culinaris*, la división celular disminuye. En otro estudio, realizado por Haq et al., (2016) encontraron que el porcentaje de IM resultó más bajo con respecto al grupo control de todas las concentraciones estudiadas de efluentes de plantas de celulosa y papel, empleando *A. cepa*, disminuyendo progresivamente a medida que fue aumentando las concentraciones. De manera similar a Salazar et al., (2020) donde evidenciaron que el ciclo celular disminuyó el 60% en células meristemáticas de *L. culinaris* para evaluar el potencial citotóxico del propanil, en la presente investigación se identificó que la misma especie bioindicadora en el T9:50 ppm alcanzó el valor de 61%. En *A. cepa* hubo inhibición mitótica del 100% en los tratamientos T8:40 ppm y T9:50 ppm y 60,7% en el T6:20 ppm, mientras que en *P. sativum* el porcentaje más alto comprendió el 51,2% en el T8:40 ppm.

### 4.2.3 Anomalías Celulares

Las alteraciones morfológicas que ocurren en la interfase que pueden ser causadas por la acción de compuestos químicos, se denominan aberraciones nucleares, entre las que se pueden mencionar los micronúcleos, polinúcleos, núcleos desplazados o núcleos lobulados, mientras que las aberraciones cromosómicas son considerados cambios cromosomales que las estructuras genéticas sufren o el total de cromosomas, lo cual puede generarse por agentes químicos o físicos de manera espontánea (Restrepo et al., 2012). Las anomalías celulares cromosómicas que fueron encontradas en los tres biomodelos correspondieron a micronúcleos, células binucleadas, ausencia de núcleo, fragmentación nuclear, lesión nuclear, anafase irregular, puente en anafase y metafase pegajosa. Es de resaltar que las anomalías identificadas en este estudio son similares a las reportadas por Salazar y Quintero (2020), quienes expusieron semillas de *L. culinaris* en malation a diferentes concentraciones, donde tan solo difirieron por las anomalías de cromosomas partidos y puentes en anafase presentes en esta investigación. Al igual que el estudio realizado por Kundu y Ray., (2016), en esta investigación también fueron observadas anomalías como puente en anafase y micronúcleos en las tres especies bioindicadoras.

Otras investigaciones han demostrado que al exponer *A. cepa* con sustancias toxicas como el hipoclorito de sodio generan condiciones de estrés genómico que pueden estar asociados a roturas cromosómicas y a la aparición de diversas anomalías (Causil et al., 2017). Conforme hay aumento de las concentraciones de agentes mutagénicos, las anomalías aumentarán de forma exponencial (Hemachandra y Pathiratne, 2015), coincidiendo con los resultados obtenidos. En *A. cepa* la anomalía más frecuente fue la presencia de micronúcleos, los cuales pueden deberse a que se producen a partir de cromosomas intactos que no están incluidos en los núcleos hijos mientras ocurre la mitosis o también por fragmentos de cromosomas, siendo las principales

causas de formación la presencia de defectos en una o más de las proteínas del sistema mitótico, lo cual no permite segregar correctamente los cromosomas o por la falta de centrómero funcional en los fragmentos cromosómicos (Fenech et al., 2020). En *L. culinaris* la anomalía más frecuente fue la presencia de metafase pegajosa, esta podría derivarse a que la pegajosidad cromosómica puede presentarse por la despolimerización del ADN, condensación de los cromosomas o la formación excesiva de nucleoproteínas, lo cual puede conllevar a la muerte celular o la senescencia debido al efecto tóxico que provoca en la célula (Prajitha y Thoppil, 2016). En *P. sativum* la ausencia de núcleos fue la anomalía más frecuente, lo cual puede asociarse como la ausencia total de ADN en la célula (Flores et al., 2018).

En una investigación realizada por Khan et al., (2019) el aumento de división celular mitótica aberrante, la peroxidación de lípidos, la producción de enzimas de estrés y el aumento de daño del ADN fue desencadenado por el exceso de ROS, en ese caso se produjo por el uso de tratamientos de nanopartículas (NP) de anatasa (TiO<sub>2</sub>). Es de resaltar que en este estudio al existir anomalías celulares en las especies bioindicadoras en el tratamiento de 0,1 ppm de amonio cuaternario de quinta generación, la cual es la más baja, permite categorizarlo como un compuesto químico altamente citotóxico.

#### **4.2.4 Índice de Micronúcleos**

Entre los biomarcadores más estudiados para estudios de daños de ADN están micronúcleos (MN), los cuales se originan bien sea a partir de fragmentos cromosomales o cromosomas intactos que no están en los núcleos de las células hijas durante la mitosis (Fenech et al., 2020).

Los hallazgos de micronúcleos en este estudio, demostraron que *A. cepa* fue la que reportó el mayor índice, correspondiendo al tratamiento T9:50 ppm ( $5.8 \pm 0.6$ ) con una tasa relativa de anormalidad de 25,28%. Entre las razones asociadas a la formación de micronúcleos están la falta de centrómero funcional en los cromosomas completos o en los fragmentos cromosomales, o por defectos de una o más proteínas correspondientes al sistema mitótico, lo cual no le permite segregar correctamente los cromosomas, sin embargo los conocimientos actuales han demostrado que los cromosomas presentes en los MN estarían sufriendo una alta fragmentación y reorganización masiva, resaltando la posibilidad de que la formación de estos biomarcadores también sea un mecanismo asociado al impulso de la hipermutación (Fenech et al., 2020).

Los MN pueden ser inducidos por diversos factores como acumulación de daños en el ADN, aberraciones cromosómicas o por defectos en la maquinaria de reparación celular (Luzhna et al., 2013). Es de resaltar que este biomarcador provee información sobre el potencial genotóxico que desencadenan los agentes estudiados (Segovia et al., 2016) Por tal razón, este tipo de ensayo permite identificar compuestos con efectos aneugénicos y clastogénicos (Aiassa et al., 2012).

## 5. Conclusiones

Todos los tratamientos empleados de amonio cuaternario de quinta generación ocasionaron disminución de las longitudes radiculares, presentándose en *A. cepa* y *L. culinaris* menor frecuencia en el tratamiento T9:50 ppm, mientras que en *P. sativum* fue en el tratamiento T3:0,5 ppm.

El porcentaje de crecimiento relativo en *A. cepa* y *L. culinaris* fue menor en el tratamiento T9:50 ppm, mientras que en *P. sativum* fue menor en el tratamiento T3:0,5 ppm.

El índice mitótico en *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum* fue inferior en todos los tratamientos en comparación con el grupo control, notándose que disminuyó conforme se aumentó las concentraciones de amonio cuaternario de quinta generación, en *A. cepa* hubo inhibición en los tratamientos T8:40 ppm y T9:50 ppm.

Se presentaron anomalías celulares en todos los tratamientos de amonio cuaternario de quinta generación empleados en las tres especies bioindicadoras, encontrándose mayoritariamente en *A. cepa*, la presencia de micronúcleos, en *L. culinaris* metafase pegajosa y en *P. sativum* la ausencia de núcleos.

El mayor porcentaje de inhibición mitótica en las células de los meristemos apicales de *A. cepa* y *L. culinaris* fue frecuente en el tratamiento T9:50 ppm, mientras que en *P. sativum* fue en el tratamiento T8:40 ppm.

La tasa relativa de anormalidad en células radiculares de *A. cepa* y *L. culinaris* fue mayor en el tratamiento T9:50 ppm, mientras que en *P. sativum* fue en el tratamiento T8:40 ppm, siendo *A. cepa* el bioindicador más sensible.

Se observó la presencia de micronúcleos en todos los tratamientos de amonio cuaternario de quinta generación a los que se expusieron las células meristemáticas apicales de *A. cepa*, *L. culinaris* y *P. sativum*, demostrando ser un compuesto altamente citotóxico.

*A. cepa* fue el bioindicador más sensible frente al efecto citotóxico del amonio cuaternario de quinta generación, dado que manifestó menor longitud radicular, menor porcentaje de crecimiento relativo de las raíces, menor índice mitótico, mayor porcentaje de inhibición mitótica, mayor índice de micronúcleos y mayor tasa relativa de anormalidad.

### Referencias Bibliográficas

- Aiassia, D., Mañas, F., Bosch, B., Gentile, N., Bernardi, N., Gorla, N. (2012). BIOMARCADORES DE DAÑO GENÉTICO EN POBLACIONES HUMANAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS. *Acta Biológica Colombiana*. 17(3). p.p. 485 – 510
- Biczak, R., Pawłowska, B., Płatkowski, M., Stręk, M., y Telesiński, A. (2017). Effect of Quaternary Ammonium Salts with Fluorine Atoms on Selected Weed Species. *Bull Environ Contam Toxicol*. 98(4), pp. 567–573. doi: 10.1007/s00128-017-2033-6
- Biczak, R., Telesinski, A., Pawlowska, B., Curylo, K., y Snioszek, M. (2018). PHYTOTOXICITY OF QUATERNARY AMMONIUM SALTS WITH HEXAFLUOROPHOSPHATE ANION. *Fresenius Environmental Bulletin* 27 (3) pp. 1772-1777
- Bosker, T., Bouwman, L. J., Brun, N. R., Behrens, P., y Vijver, M. G. (2019). Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere*, 226, pp. 774–781. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.163>
- Bravo, M., y Garrido, P. (2020). Respuesta celular del amonio cuaternario en diferentes concentraciones al ser utilizado como sustancia antiséptica en preparaciones dentales (tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Causil, L., Coronado, J., Verbel, L., Vega, M., Donado, K., y Pacheco, C. (2017). Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO), en células apicales de raíces de cebolla (*Allium cepa* L.) *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*. 11 (1), pp. 97-104. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5662>

- Choudhary, A., Kumar, A., y Kary, N. (2020). ROS and oxidative burst: Roots in plant development. *Plant Divers.* 42(1). p.p. 33–43. doi: 10.1016/j.pld.2019.10.002
- Cooper, j. (1988). Review of the environmental toxicity of quaternary ammonium halides. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 16, Issue 1, 65-71. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(88\)90017-6](https://doi.org/10.1016/0147-6513(88)90017-6)
- Da Silva, Tatiana., Da Silva, L., Lacerda, D., Dos Santos, C., Vaz, B., Gomes, M., Thompson, F., y De Rezende, C. (2021). Cytogenotoxicity of the water and sediment of the Paraopeba River immediately after the iron ore mining dam disaster (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). *Science of The Total Environment.* 775, pp. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145193>
- Debbasch, C., Brignole, F., Pisella, PJ., Warnet, JM., Rat, P., y Baudouin, C. (2001). Quaternary ammoniums and other preservatives' contribution in oxidative stress and apoptosis on Chang conjunctival cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 42(3), pp. 642-52.
- DeLeo, P., Huynh, C., Pattanayek, M., Schmid, K., y Pechacek, N. (2020). Assessment of ecological hazards and environmental fate of disinfectant quaternary ammonium compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 206. pp. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111116>
- Di Nica V, Gallet J, Villa S, y Mezzanotte V. (2017). Toxicity of Quaternary Ammonium Compounds (QACs) as single compounds and mixtures to aquatic non-target microorganisms: Experimental data and predictive models. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 142, pp. 567-577. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.028>
- Di Salvatore, M., Carafa A, M., y Carratù, G. (2008). Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: a comparison of two

- growth substrates. *Chemosphere* 73, pp. 1461-1464. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.07.061
- Diomedi, A., Chacón, E., Delpiano, L., Hervé, B., Jemenao, M., Medel, M., Quintanilla, M., Riedel, G., Tinoco, J., y Cifuentes, M. (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Revista chilena de infectología*. 34 (2) 156-174. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000200010>
- Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Holland, N., Bonassi, S., Kirsch, 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. p.p. 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108342>
- Flores, A., Ruiz, S., Aguiar, P., Benitez, V., Valle, M., Molina, L., Bugarín, O. (2018). Micronúcleos y anormalidades nucleares en células de la mucosa bucal de mujeres mexicanas con factores de riesgo para cáncer cervicouterino: estudio piloto. *El Residente*.13(2). p.p. 56-61.
- Gerba, C. Quaternary Ammonium Biocides: Efficacy in Application. (2015). *Appl Environ Microbiol*. 81, pp. 464–469. DOI:10.1128/AEM.02633-14
- Grant, W. (1978). Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environ Health Perspect*. 27. p.p. 37–43. doi: 10.1289/ehp.782737
- Haq, I., Kumari, V., Kumar, S., Raj, A., Lohani, M., y Bhargava, N. (2016). Evaluation of the Phytotoxic and Genotoxic Potential of Pulp and Paper Mill Effluent Using *Vigna radiata* and *Allium cepa*. *Advances in Biology*. 2016. p.p. 1-10. doi:10.1155/2016/8065736

- Hemachandra, c., y Pathiratne , A. 2016. Combination of physico-chemical analysis, *Allium cepa* test system and *Oreochromis niloticus* erythrocyte based comet assay/nuclear abnormalities tests for cyto-genotoxicity assessments of treated effluents discharged from textile industries. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 131. p.p. 54-64. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.05.010
- Hora, P., Pati, S., McNamara, P., y Arnold, W. (2020). Photochemical fate of quaternary ammonium compounds in river water. *Environmental Science Processes & Impacts*. 22. pp. 1368-1381. 10.1039/D0EM00086H
- Jeevan, S., Rajendra, S., Banerjee, R., Thammineni, C. (2015). Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. *Annals of Botany*, 116(4). p.p. 663–668. doi:10.1093/aob/mcv098
- Khan, Z., Shahwar, D., Yunus, M., & Chandel, R. (2019). Toxicity assessment of anatase (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles: A pilot study on stress response alterations and DNA damage studies in *Lens culinaris* Medik. *Heliyon*. 5 (7). e02069. p.p. 1-8. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02069
- Khanna, N. y Sharma, S. (2013). *Allium Cepa* Root Chromosomal Aberration Assay: A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research* 1(03). p.p.105-119. DOI:10.30750/ijpbr.1.3.15
- Kumar, A., y Singh, D. (2020). Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. *Scientific Reports Nature Research*. 10:886. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57840-y>
- Kundu, L., & Ray, S. (2016). Mitotic abnormalities and micronuclei inducing potentials of colchicine and leaf aqueous extracts of *Clerodendrum viscosum* Vent. in *Allium*

- cepa* root apical meristem cells. *Caryologia*. 70(1). p.p. 7-14.  
<https://doi.org/10.1080/00087114.2016.1254452>
- Leme, D., y Marin, M. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, 2(1), pp. 71-81. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002
- Li, B., Li, H., Pang, X., Cui, K., Lin, J., Liu, F., y Mu, W. (2018). Quaternary ammonium cationic surfactants increase bioactivity of indoxacarb on pests and toxicological risk to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 149, pp. 190-196.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.038>
- Li, B., Li, H., Zhang, D., Liu, F., y Mu, W. (2017). Influence of quaternary ammonium and organic silicon adjuvant on insecticidal activity of acetamiprid and environmental toxicity against aquatic organisms. *Chinese Journal of Pesticide Science*. 19(1), pp. 93-99. <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2017.0013>
- Li, Y., Zhou, C., Wang, S., Lin, Q., Ni, Z., Qiu, H., Morel, J., y Qiu, R. (2019). Phytotoxicity and oxidative effects of typical quaternary ammonium compounds on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environ Sci Pollut Res Int*. 26(25):25985-25999. doi: 10.1007/s11356-019-05822-7.
- Luzhna, L., Kathiria, P., y Kovalchuk, O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Frontiers in Genetics*. 4. p.p. 1-17.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00131>
- Mulder, I., Siemens, J., Sentek, V., Amelung, W., Smalla, K., y Jechalke, S. 2018. Quaternary ammonium compounds in soil: implications for antibiotic resistance development. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 17, pp. 159–185. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9457-7>

- Pentreath, V., González, E., Barquín, M., Ríos, S., y Perales, S. (2015). Bioensayo de toxicidad aguda con plantas nativas para evaluar un derrame de petróleo. *Rev. salud ambient*, 15 (1), pp. 4-12
- Prajitha, V. y Thoppil, J. (2016). Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*. 102. p.p. 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.06.018>
- Restrepo, R., Reyes, D., Catalina, M., Rojas, F., y Kouznetsov, V. (2012). Aberraciones cromosomales en bulbos de cebolla *Allium cepa* inducidas por moléculas híbridas 4-aminoquinolínicas. *Universitas Scientiarum* 17(3), pp. 253-261. Doi: 10.11144/javeriana.SC17-3.aceb
- Ribeiro, T., Sousa, T., Arruda, A., Peixoto, N., Gonçalves, P., Almeida, L. (2016). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. *Brazilian Journal of Biology*. 76 (1). p.p. 245-249. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.20114>
- Salazar, S. y Maldonado, H. (2020). Evaluation of the cytotoxic potential of sodium hypochlorite using meristematic root cells of *Lens culinaris* Med. *Science of the Total Environment*, 701, 134992. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134992>
- Salazar, S. y Quintero, J. (2020). Determination of malathion's toxic effect on *Lens culinaris* Medik cell cycle. *Heliyon*, 6 (9). e04846. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04846>
- Salazar, S. y Quintero, J. (2020). Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L as bioindicator. *Science of the Total Environment*. (700). 134452. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134452>

- Salazar, S. y Quintero, J. 2020. Cytogenotoxic effect of propanil using the *Lens culinaris Med* and *Allium cepa L* test. *Chemosphere*. 249. 126193. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126193>
- Salazar, S., y Quintero, J. (2021). Uso de la prueba *Lens culinaris Med* como bioindicador ambiental para identificar el efecto citogenotóxico del pesticida paraquat. *Environ Sci Pollut Res*. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14352-0>
- Salazar, S., Torres, C., y Rojas, J. (2019). Cytotoxic evaluation of sodium hypochlorite, using *Pisum sativum L* as effective bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. (173). pp. 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.027>
- Scherer, M., Sposito, J., Falco, W., Grisolia, A., Andrade, L., Lima, S., y Caires, A. (2019). Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles on meristematic cells of *Allium cepa* roots: A close analysis of particle size dependence. *Science of The Total Environment*, 660, pp. 459–467. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.444>
- Segovia, E., Arrúa, R., Barrozo, N., Duré, R., Nakayama, H., Peralta, I. (2016). Evaluación de los efectos mutagénicos/antimutagénicos de *Luehea divaricata* en ratones. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 14(3). p.p.102-106. Doi: 10.18004/Mem.iics/1812-9528
- Sharma, P., Jha, A., Dubey, R., y Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. p.p. 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Torres, O., y Ramos, M. (2013). Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. *Int. J. Morphol*, 31(2) pp. 650-657.
- Tuan, P., Sun, M., Nguyen, T., Park, S., y Ayele, B. (2019). Molecular mechanisms of seed germination. *Sprouted Grains. Nutritional Value, Production and Applications*. pp. 1-

24 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00001-4>. En Hao, Feng., Boris Nemzer., y Jonathan, W. DeVries. (Ed), Sprouted Grains. Nutritional Value, Production and Applications. (pp. 1-329). AACC. Published by Elsevier Inc. in cooperation with AACC International. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2016-0-01536-X>

United States Environmental Protection Agency (EPA). List of Disinfectants for Use Against SARS-CoV-2 (COVID-19) (accessed June 12, 2020). Available in <https://www.epa.gov/lep/pdf-list-n-disinfectants-use-against-sars-cov-2-covid-19-accessed-june-12-2020>

Yang, S., Hao, D., Jin, M., Li, Y., Liu, Z., Huang, Y., Chen, T., Su, Y. (2020). Internal ammonium excess induces ROS-mediated reactions and causes carbon scarcity in rice. *BMC Plant Biol.* 20 (1). p.p. 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02363-x>

Zhang, C., Cui, F., Zeng, GM., Jiang, M., Yang, ZZ., Yu, ZG., Zhu, MY., y Shen, LQ. (2015). Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. 2015. *Science of The Total Environment*. Volumes 518–519, pp. 352-362. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.007>