



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA



INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA



RIESGO GENOTOXICOLÓGICO EN POBLACIONES DE VICUÑAS
(*Vicugna vicugna*) EXPUESTAS A MINERÍA AURÍFERA

Tesis de Maestría

Postulante:

Lic. Liz Helen Romero Patzi

Tutora: Ph. D. Gloria Rodrigo Lira

Asesor: Ing. Oscar Loayza Cossio

La Paz – Bolivia

2023

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

RIESGO GENOTOXICOLÓGICO EN POBLACIONES DE VICUÑAS
(*Vicugna vicugna*) EXPUESTAS A MINERÍA AURÍFERA

Tesis de Maestría

Postulante:

Lic. Liz Helen Romero Patzi

La Paz, diciembre de 2023

Ph.D. Gloria Rodrigo Lira

Tutora

Ing. Óscar Loayza Cossio

Asesor

M.Sc. Winder A. Canezo Gómez

Director Carrera de Biología

Ph.D. Robert B. Wallace

Tribunal

Ph.D. Isabel Morales Belpaire

Tribunal

I

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mi familia, en especial a mi esposo, por todo el apoyo incondicional y la paciencia que tiene conmigo, que permitió que pudiera concluir mis estudios de maestría. También la dedico a mi mamá que a lo lejos sigue apoyándome y alentándome para superarme cada día.

II

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, doctora Gloria Rodrigo Lira, que siempre tiene mucha disposición y apertura con sus estudiantes, gracias a su apoyo y guía fue posible esta tesis.

A mi asesor, Ing. Óscar Loayza Cossio, cuyo apoyo permitió que tuviera los fondos necesarios para poder llevar a cabo esta tesis.

Al equipo veterinario de la WCS, dirigido por el MVZ José Luis Mollericona, quien estuvo conmigo en todo el proceso de toma de muestras en campo. También agradecer a las pasantes de veterinaria en ese entonces, que ahora ya son colegas, Cinthia y Jhoana, con quienes nos hicimos compañía en los viajes.

A mi querida amiga y colega Lic. Grizel Carvajal, que me acompañó, ayudó y con quien me perdí en los inicios de los viajes a campo.

A la WCS por la disposición y financiación del proyecto.

A todos ellos, ¡muchas gracias!

Lic. Liz Helen Romero Patzi

INDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. MÉTODOS	6
2.1. Área de estudio.....	6
2.2. Especie de estudio	8
2.3. Toma y procesamiento de muestras	9
2.3.1. Muestras de mucosa bucal.....	10
2.3.2. Muestras de Sangre.....	10
2.4. Análisis de micronúcleos y anomalías nucleares	10
2.5. Análisis de datos	11
3. RESULTADOS.....	11
3.1. Mucosa bucal.....	12
3.1.1. Micronúcleos.....	13
3.1.2. Anomalías nucleares	16
3.1.3. Microcuencas	20
3.2. Linfocitos.....	22
3.2.1. Micronúcleos.....	23
3.2.2. Anomalías nucleares	27
3.2.3. Microcuencas	31
4. DISCUSIÓN.....	31
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
6. BIBLIOGRAFÍA.....	37

Índice de figuras

Figura 1. Formación de micronúcleos	4
Figura 2. Mapa de derechos mineros y actores productivos mineros en el área de manejo de vicuña ANMIN Apolobamba	7
Figura 3. Mapa del área de muestreo.....	8
Figura 4. Tipos de daño en células bucales	12
Figura 5. Frecuencia de micronúcleos en células bucales por comunidad.....	14
Figura 6. Frecuencia de un micronúcleo en células bucales por comunidad	15
Figura 7. Frecuencia de dos micronúcleos en células bucales por comunidad	16
Figura 8. Frecuencia de anomalías nucleares en células bucales por comunidad.....	19
Figura 9. Frecuencia de anomalías nucleares desglosadas en células bucales entre comunidades	20
Figura 10. Frecuencia de daño genotóxico en células bucales vicuñas por microcuencas .	21
Figura 11. Tipos de daño encontrados en linfocitos.....	22
Figura 12. Frecuencia de micronúcleos en linfocitos por comunidad.....	24
Figura 13. Frecuencia de un micronúcleo en linfocitos por comunidad	25
Figura 14. Frecuencia de dos micronúcleos en linfocitos por comunidad	26
Figura 15. Frecuencia de anomalías nucleares en linfocitos por comunidad	27
Figura 16. Frecuencia de anomalías nucleares desglosadas en linfocitos entre comunidades	30
Figura 17. Frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares en células bucales y linfocitos	30
Figura 18. Frecuencia de daño genotóxico en linfocitos de vicuñas por microcuencas	31

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de diferentes tipos de anomalías nucleares	4
Tabla 2. Número de muestras planteadas y obtenidas en las comunidades de la zona de aprovechamiento de vicuña en el ANMIN Apolobamba	6
Tabla 3. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de micronúcleos en células bucales.	13
Tabla 4. Resultados de GLM para micronúcleos en células bucales.....	13
Tabla 5. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para los micronúcleos en células bucales	15
Tabla 6. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de anomalías nucleares en células bucales	17
Tabla 7. Resultados de GLM para las anomalías nucleares	18
Tabla 8. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para las anomalías nucleares en células bucales	19
Tabla 9. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de micronúcleos en linfocitos	23
Tabla 10. Resultados de GLM para los micronúcleos en linfocitos	23
Tabla 11. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para micronúcleos en linfocitos	25
Tabla 12. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para un micronúcleo en linfocitos	26
Tabla 13. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de anomalías nucleares en linfocitos	28
Tabla 14. Resultados de GLM para anomalías nucleares en linfocitos.....	29
Tabla 15. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para anomalías nucleares en linfocitos	29

RESUMEN

La vicuña (*Vicugna vicugna*) es un pequeño camélido silvestre nativo de Sudamérica, cuya fibra tiene un gran valor económico. Luego de un periodo de estar al borde de la extinción, sus poblaciones se recuperaron gracias a las políticas de conservación conjuntas de Argentina, Bolivia, Chile y Perú. En Bolivia, el ANMIN Apolobamba es un área clave para su conservación y actualmente es una de las regiones más importantes de aprovechamiento de la fibra de individuos de vicuña mantenidos en silvestría, llevado a cabo por comunidades indígenas de la región. La vicuña es un recurso cultural y económico importante para las comunidades locales y puede ser un indicador de la salud del ecosistema, por lo que su conservación es crucial. Sin embargo, esta especie enfrenta varias amenazas como la cacería ilegal, el desplazamiento de las poblaciones y la contaminación en la zona, principalmente a causa de la actividad minera aurífera, que afecta a bofedales y fuentes de agua. El aumento de las actividades mineras en Apolobamba han llevado a que ésta sea una región con niveles altos de contaminación por mercurio, lo que representa un riesgo para la salud de las vicuñas, poblaciones humanas y ecosistemas terrestres. En este sentido, conocer los efectos de la contaminación minera en la salud animal, en especial en poblaciones de especies que están bajo protección y tienen importancia económica como la vicuña, es crucial ya que permitirá tomar acciones para asegurar su conservación y dará indicios de la salud del ecosistema y de posibles riesgos para la salud humana. Para conocer el estado actual de las poblaciones, en esta tesis se usaron marcadores de genotoxicidad, como son los micronúcleos (MN) y anomalías nucleares (AN), que permiten detectar daños en el ADN, provocados por agentes exógenos. El estudio se realizó en el área de manejo de vicuñas dentro del ANMIN Apolobamba, donde se tomaron y analizaron muestras de células bucales y sangre (linfocitos) de vicuñas en 13 comunidades manejadoras de vicuña (10 individuos por comunidad). Los resultados muestran en células bucales una frecuencia media de 0,48% MN y 14,91% AN, mientras que en linfocitos la frecuencia media es de 0,32% MN y 57,13% AN. Una mayor frecuencia de MN en células bucales era esperada ya que son la primera barrera de inhalación o ingesta de agentes genotóxicos, sin embargo, una mayor frecuencia de AN en linfocitos indica una posible prevalencia del daño. Además, se observó un gradiente de la frecuencia de MN que concuerda con la actividad minera en la zona de conservación de vicuñas a nivel de microcuencas y comunidades, pero a pesar de este resultado, es posible que no sea la única causa de este daño, ya que las vicuñas están expuestas a mezclas de sustancias químicas ambientales, que pueden incluir trazas de microplásticos y contaminantes orgánicos persistentes que se han detectado en la zona. Estos resultados son importantes y son una línea base para poder monitorear a futuro el estado de las poblaciones de vicuña, y que además sean biomonitores y centinelas de la contaminación ambiental.

1. INTRODUCCIÓN

La vicuña (*Vicugna vicugna*) es el camélido silvestre más pequeño, nativo de Sudamérica, conocido por su fibra que es una de las más finas del mundo (Castillo 2009, MMAyA 2012, Grigione *et al.* 2018). La caza indiscriminada por su fibra la llevó al borde de la extinción en la década de los 60's, pero fue posible recuperar sus poblaciones gracias a las políticas de protección y conservación que tomaron en conjunto Argentina, Bolivia, Chile y Perú (Acebes *et al.* 2018, Grigione *et al.* 2018). En Bolivia, la conservación de la vicuña es uno de los pocos ejemplos de conservación exitosos, y fue posible gracias a la creación de la “Reserva Nacional de Fauna Ulla Ulla” posteriormente redelimitada, recategorizada y red denominada como “Área Natural de Manejo Integrado Nacional Apolobamba” (ANMIN Apolobamba) (MMAyA 2012, Vilá 2012, Beltrán-Saavedra *et al.* 2020). La recuperación de las poblaciones de vicuña, ha permitido establecer un sistema de aprovechamiento y comercio de la fibra a partir de la esquila de individuos mantenidos en silvestría, generando ingresos económicos para las comunidades indígenas que forman parte del Programa Nacional para la Conservación y Aprovechamiento Sostenible de la vicuña (Acebes *et al.* 2018, MMAyA 2012, Grigione *et al.* 2018, UNEP-WCMC 2021).

La vicuña se ha convertido en un recurso cultural y económico importante para las comunidades locales y puede ser un indicador de la salud del ecosistema, por lo que su conservación es crucial para mantener sus poblaciones saludables, garantizar la sostenibilidad de su aprovechamiento a largo plazo y contribuir a la conservación del ecosistema (Baldo *et al.* 2013, Risco-Castillo *et al.* 2014). El ANMIN Apolobamba se ha convertido en una región importante para la conservación y aprovechamiento de la vicuña; sin embargo, la cacería ilegal aún es una amenaza para esta especie y a ésta se suman el desplazamiento de las poblaciones y la contaminación en la zona, principalmente a causa de la actividad minera aurífera, que afecta a bofedales y fuentes de agua (Acosta *et al.* 2011, Beltrán-Saavedra *et al.* 2020).

La minería aurífera en Apolobamba ha aumentado en los últimos años, registrándose un incremento en las operaciones activas legales e ilegales de 55 en 2010 a 156 en 2017 (SERNAP 2011, 2018), a causa de la demanda global de oro y en especial del mercado asiático (Bocángel 2007, Sonter *et al.* 2018, Rodríguez *et al.* 2020). En el área de conservación de las vicuñas, existe actividad ganadera como la cría de camélidos domésticos (alpacas principalmente y llamas en menor medida) y en menor proporción ovinos, actividad piscícola, pero la minería es la principal actividad económica (MMAyA - SERNAP 2016), donde Puyo Puyo es uno de los distritos mineros más importante junto a Antaquilla y Suches (Salinas 2021) (Fig. 2). Años atrás, la minería en la zona era artesanal y a pequeña escala (Enríquez 2001, Acosta *et al.* 2011, MMAyA - SERNAP 2016, Beltrán-Saavedra *et al.* 2020), sin embargo, actualmente es en su mayoría de tipo aluvial, a cielo abierto con uso de maquinaria pesada y remoción de considerables volúmenes de tierra, y es llevada a cabo por cooperativas locales que extraen oro por amalgamación con mercurio (Acosta *et al.* 2011, Salinas 2021). Este tipo de minería ha provocado niveles altos de contaminación por

mercurio en ríos del ANMIN Apolobamba, así como niveles altos de acumulación de mercurio en plantas del sector, representando un alto riesgo para las poblaciones humanas y ecosistemas terrestres (Acosta *et al.* 2011).

Se conoce que la minería puede afectar negativamente al medio ambiente, degradando el suelo, fragmentando hábitats naturales, removiendo la biota de un área y con ella sus funciones ecosistémicas, afectando también a especies animales, incluyendo a la vicuña, que son vulnerables a la perturbación y la alteración de su hábitat (Lloyd 2002, Acosta *et al.* 2011, Mata *et al.* 2016). Pero el mayor efecto de la minería es la contaminación de suelos, agua y aire, ya que los residuos mineros que normalmente se desechan en el ambiente contienen contaminantes, que no sólo tienen efecto a nivel local, sino que pueden llegar a afectar regiones enteras, los contaminantes incluyen ácidos y metales pesados principalmente el mercurio (Lloyd 2002, Acosta *et al.* 2011, Sonter *et al.* 2018). En vicuñas del ANMIN Apolobamba se encontraron niveles de mercurio total (THg) en sangre entre 0,10 µg/l y 0,15 µg/l (Beltrán-Saavedra *et al.* 2020), que están por debajo del límite permisible para humanos según la OMS (10 µg/l) (Ramírez, 2008), aunque se desconoce el límite permisible para vicuñas u otro camélido. De cualquier manera, es posible que esté existiendo una respuesta biológica de la vicuña ante estos niveles de mercurio y se desconoce el riesgo que representa en su salud.

Los metales pesados pueden ser genotóxicos, y entre éstos el mercurio tiene mayor potencial genotóxico que el cobre y el cadmio (Bolognesi *et al.* 1999, Calao y Marrugo 2015), esto implica que tiene capacidad de provocar daños en el ADN y afectar la integridad de la célula (Saks *et al.* 2017). La genotoxicología estudia estos daños, mediante el uso de biomarcadores de genotoxicidad (Calao y Marrugo 2015, Sánchez 2022) y entre éstos el ensayo de micronúcleos (MN) y anomalías nucleares (AN) es uno de los métodos más utilizados para detectar daños en el ADN, provocados por agentes exógenos (Noriega *et al.* 2005, Holland *et al.* 2008, Cedano *et al.* 2012, Torrez-Bugarín *et al.* 2018, Sánchez 2022). Este ensayo es una prueba sencilla, ya que permite identificar las alteraciones al material genético de manera visual a partir de cualquier muestra de tejido que se divida (Cedano *et al.* 2012, Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, Sánchez 2022), siendo poco invasivo. Además, es eficiente y de bajo costo, ya que no involucra muchos materiales o tecnología compleja para llevarlo a cabo (Sánchez 2022).

La aparición de MN y AN se ha estudiado ampliamente en humanos para conocer efectos de contaminación ambiental, estilos de vida, nutrición, efectos de la radiación, riesgos ocupacionales, etc. y su relación con la aparición de enfermedades y riesgo de cáncer (Nersesyan *et al.* 2022). En otras especies, la aparición de MN y AN se ha estudiado para conocer efectos de la contaminación y detectar agentes genotóxicos, principalmente en peces (Bolognesi *et al.* 1999, Fox 2001), aunque también hay estudios en moluscos, aves, roedores, murciélagos y otros mamíferos (Fox 2001, Regoli *et al.* 2006, Calao-Ramos *et al.* 2021, Di Ianni *et al.* 2022), así como en plantas (Steinkellner *et al.* 1998).

Los micronúcleos, también conocidos como cuerpos Howell-Jolly en hematología (Torrez-Bugarín *et al.* 2018), son biomarcadores de genotoxicidad que se forman cuando fragmentos de cromosomas o cromosomas completos quedan fuera del núcleo en la división celular de manera espontánea o causada por agentes genotóxicos (Zalacain *et al.* 2005, Holland *et al.* 2008, Fenech *et al.* 2011, Cedano *et al.* 2012, Díaz *et al.* 2013, Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013) (Fig. 1). Por otro lado, existen otras AN indicadoras de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular, éstas se observan como alteraciones morfológicas en el núcleo, así como en el tamaño, densidad y distribución de la cromatina (Fenech *et al.* 2011, Torrez-Bugarín & Ramos-Ibarra 2013), diferentes AN pueden tener orígenes diferentes (Tabla 1). Estos tipos de biomarcadores además de reflejar daños en el ADN, son indicadores de disfunción celular y representan un marcador de enfermedades crónicas en estado inicial (Fenech *et al.* 2011, Sánchez 2022). Si el daño se encuentra en el ADN de células somáticas puede llegar a ser maligno o cancerígeno en eucariotas, y si el daño sucede en el ADN de células germinales puede causar mutaciones hereditarias o enfermedades congénitas, además de anomalías en el desarrollo (Saks 2017).

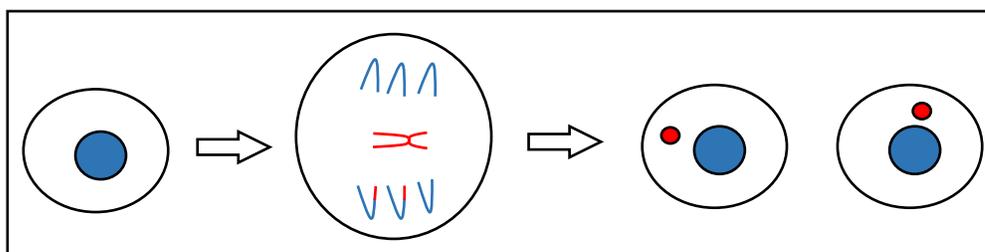


Figura 1. Formación de micronúcleos. En rojo: fragmento de cromosoma y cromosoma entero que queda fuera del núcleo (Elaboración propia).

Tabla 1. Descripción de diferentes tipos de anomalías nucleares (Elaboración propia).

Tipo de AN	Descripción	Bibliografía
Células binucleadas	Defectos en la citocinesis y en la estabilidad genética.	Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, Fenech <i>et al.</i> 2016, Nersesyan <i>et al.</i> 2022
Brote o lobuladas	Sugieren un proceso de eliminación de material nuclear por gemación y pueden estar asociadas a procesos degenerativos en células bucales, y en linfocitos se consideran como indicadores de genotoxicidad.	Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, Fenech <i>et al.</i> 2016, Nersesyan <i>et al.</i> 2022
Puentes nucleoplasmáticos	Ocurren por la interrupción en la reparación de roturas de doble cadena de ADN y la fusión de dos regiones cromosómicas formadas, cada una de las cuales contiene un centrómero.	Fenech <i>et al.</i> 2016, Kravtsov <i>et al.</i> 2017, Nersesyan <i>et al.</i> 2022
Fusión	Ocurre entre dos cromosomas por su región telomérica con formación de cromosomas dicéntricos, cuando se interrumpe la formación de	Tian <i>et al.</i> 2016, Kravtsov <i>et al.</i> 2017

	un complejo de proteínas teloméricas, a las cuales las enzimas de reparación reconocen como roturas de doble cadena y las "cosen".	
Circular y Herradura	Son anomalías complejas que pueden generarse a partir de "fusiones".	Tian <i>et al.</i> 2016, Kravtsov <i>et al.</i> 2017
Cola	Tienen un origen similar a los MN pero no se han desprendido del núcleo.	Kravtsov <i>et al.</i> 2017
Pesa	Aparecen en células que se dividen a baja temperatura y con escasez de nutrientes, pero también pueden ser marcadores de inestabilidad genética ya que se los observó como efectos de la radiación y otras genotoxinas.	Kravtsov <i>et al.</i> 2017
Irregular	Conocidos también como linfocitos reactivos, son anomalías benignas que ocurren a causa de una respuesta antigénica o a causa de una infección viral.	Carr y Rodak 2009
Apoptosis y Necrosis	Muertes celulares que pueden ocurrir en respuesta a la citotoxicidad.	Nersesyan <i>et al.</i> 2022

La aplicación de ensayos genotóxicos en distintos tejidos puede mostrar diferentes respuestas en un mismo organismo, según la ubicación del tejido. Lo cual ya fue evaluado en peces, donde las células branquiales muestran una mayor frecuencia de MN que en sangre (Bolognesi *et al.* 1999). En mamíferos, realizar este tipo de estudios en células del epitelio bucal es una manera eficaz de detectar el daño por genotoxinas, debido a que las células bucales son la primera barrera en la inhalación o ingestión de agentes genotóxicos, y son capaces de absorberlos (Holland *et al.* 2008, Díaz *et al.* 2013, Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013). Por otro lado, realizar ensayos genotóxicos complementarios en células sanguíneas, puede mostrar la respuesta del organismo ante la genotoxina, pudiendo observarse una menor frecuencia de MN gracias a un buen control de filtrado del sistema hematopoyético, cuya eficiencia aumenta con la edad en algunos organismos (Cedano *et al.* 2012, Torrez-Bugarín *et al.* 2018). De este modo, la evaluación genotoxicológica en ambos tipos de tejidos contribuye a un mejor entendimiento de los efectos potenciales de agentes exógenos en las especies afectadas.

Conocer los efectos de la contaminación minera en la salud animal, en especial en poblaciones de especies que están bajo protección y tienen importancia económica como la vicuña, permitirá tomar acciones para asegurar su conservación. Así mismo, dará indicios de la salud del ecosistema y de posibles riesgos para la salud humana, debido a que existe un uso compartido de recursos entre la fauna silvestre, fauna doméstica y los humanos (Fox 2001, Gonzáles-Mile *et al.* 2019). En este sentido, esta tesis presenta los resultados de evaluaciones genotoxicológicas realizadas en células bucales y sanguíneas (linfocitos) colectadas de individuos capturados en el Programa Nacional para la Conservación y Aprovechamiento Sostenible de la Vicuña en el ANMIN Apolobamba. Puesto que el

mercurio es el principal desecho de la minería aurífera, y su potencial genotóxico ha sido estudiado en otras especies, se espera que en zonas cercanas a centros mineros las vicuñas presenten mayor daño en el ADN nuclear que aquellas vicuñas que se encuentren en zonas alejadas a los centros mineros. De esta manera, este estudio pretende contribuir al conocimiento del estado a nivel celular de estas poblaciones.

2. MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El estudio se realizó en el Área Natural de Manejo Integrado Nacional (ANMIN) Apolobamba, que se ubica al noroeste del departamento de La Paz y abarca 483.743 ha entre los 800 y 6.200 m de altitud. El ANMIN Apolobamba alberga más de 1.701 especies de flora y 613 especies de fauna entre sus dos ecoregiones, Yungas y Puna Norteña. La segunda incluye tres subcoregiones: Puna Húmeda, Puna Semihúmeda y Vegetación Altoandina de la Cordillera Oriental con Pisos Nivales y Subnivales (SERNAP – ANMI Apolobamba 2008). El área de manejo de vicuñas se encuentra en la ecoregión Puna Norteña, cuyo clima es frío en las cordilleras (temperatura media anual: 4.5 °C) y frío con verano templado en las mesetas (temperatura media anual: 10 °C) (SERNAP – ANMI Apolobamba 2008, MMAyA-SERNAP 2016). Esta zona se encuentra principalmente en la cuenca del río Suches, conformada por aguas de deshielo de los nevados Cololo y Caralluni, que dan paso a las lagunas Suches, Cololo, Nube y Kellu y finalmente desembocan en el río Suches, el cual vierte sus aguas en el Lago Titicaca, además, el desagüe de estos sistemas da lugar a la formación de bofedales (MMAyA-SERNAP 2016). Se reconocen 5 microcuencas nivel BL5 en la zona de manejo de vicuñas, además de un sector parte de la cuenca del río Tuichi y un sector que forma parte de la cuenca del río Mapiri (MMAyA-SERNAP 2016). Dentro del área de manejo de vicuñas se encuentran 108 áreas mineras superpuestas, en su mayoría del tipo aluvial, que se concentran en tres distritos mineros: Suches, Antaquilla y Puyo Puyo (Salinas 2021) (Fig. 2).

La toma de muestras se realizó en 13 comunidades manejadoras de vicuña dentro del ANMIN Apolobamba, en la esquila llevada a cabo entre septiembre y noviembre del 2021 (Tabla 2, Fig. 3).

Tabla 2. Número de muestras planteadas y obtenidas en las comunidades de la zona de aprovechamiento de vicuña en el ANMIN Apolobamba.

Comunidad manejadora de vicuña	Muestras planteadas		Muestras obtenidas	
	Sangre	Bucales	Sangre	Bucales
Villa Amarka	0	10	10	10
Puyo Puyo	10	10	25	22
Ulla Ulla	0	10	10	12
Ucha Ucha	0	10	12	12

Hichocollo	0	10	20	20
Plan Aeropuerto	0	10	22	20
Nubepampa	10	10	22	22
Huacochani	0	10	26	26
Chari	10	10	10	10
Ayllu Cololo	10	10	20	22
Hilo Hilo	0	10	10	15
Apacheta	10	10	20	20
Cañuhuma	10	10	31	31

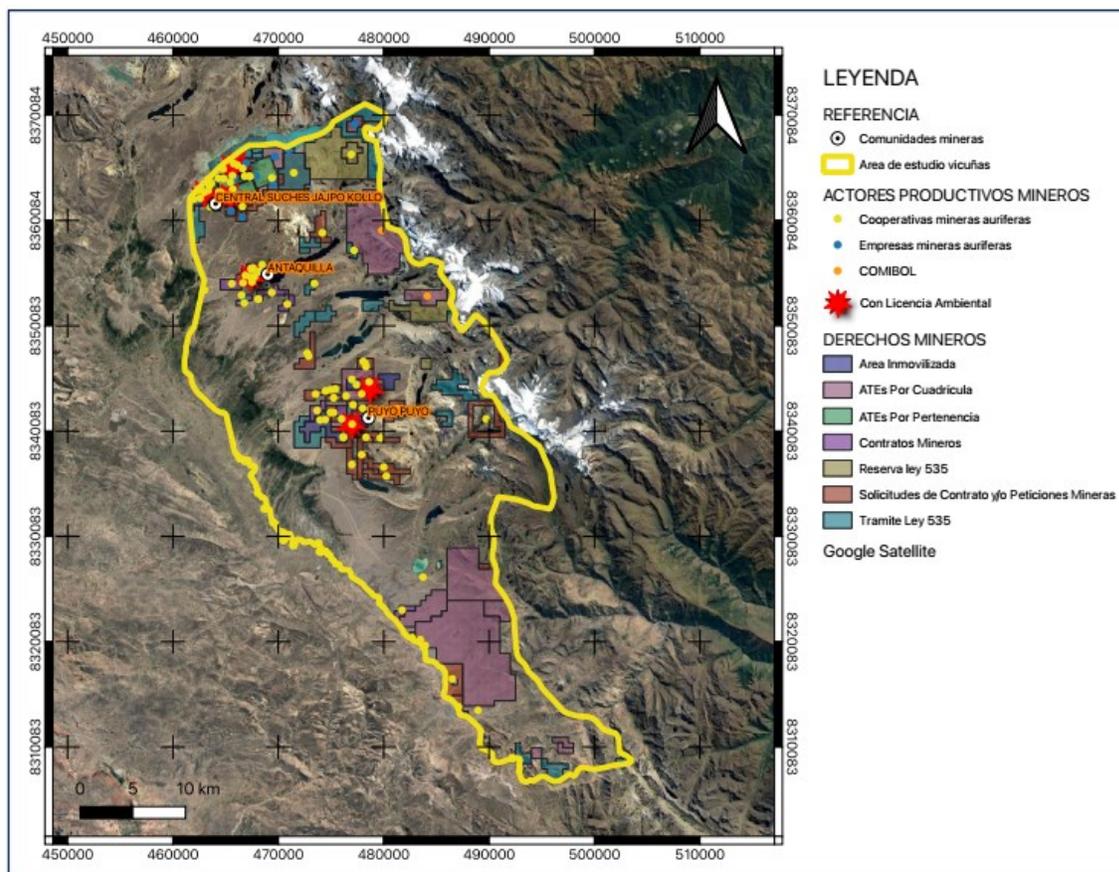


Figura 2. Mapa de derechos mineros y actores productivos mineros en el área de manejo de vicuña ANMIN Apolobamba (Fuente: Salinas 2021)

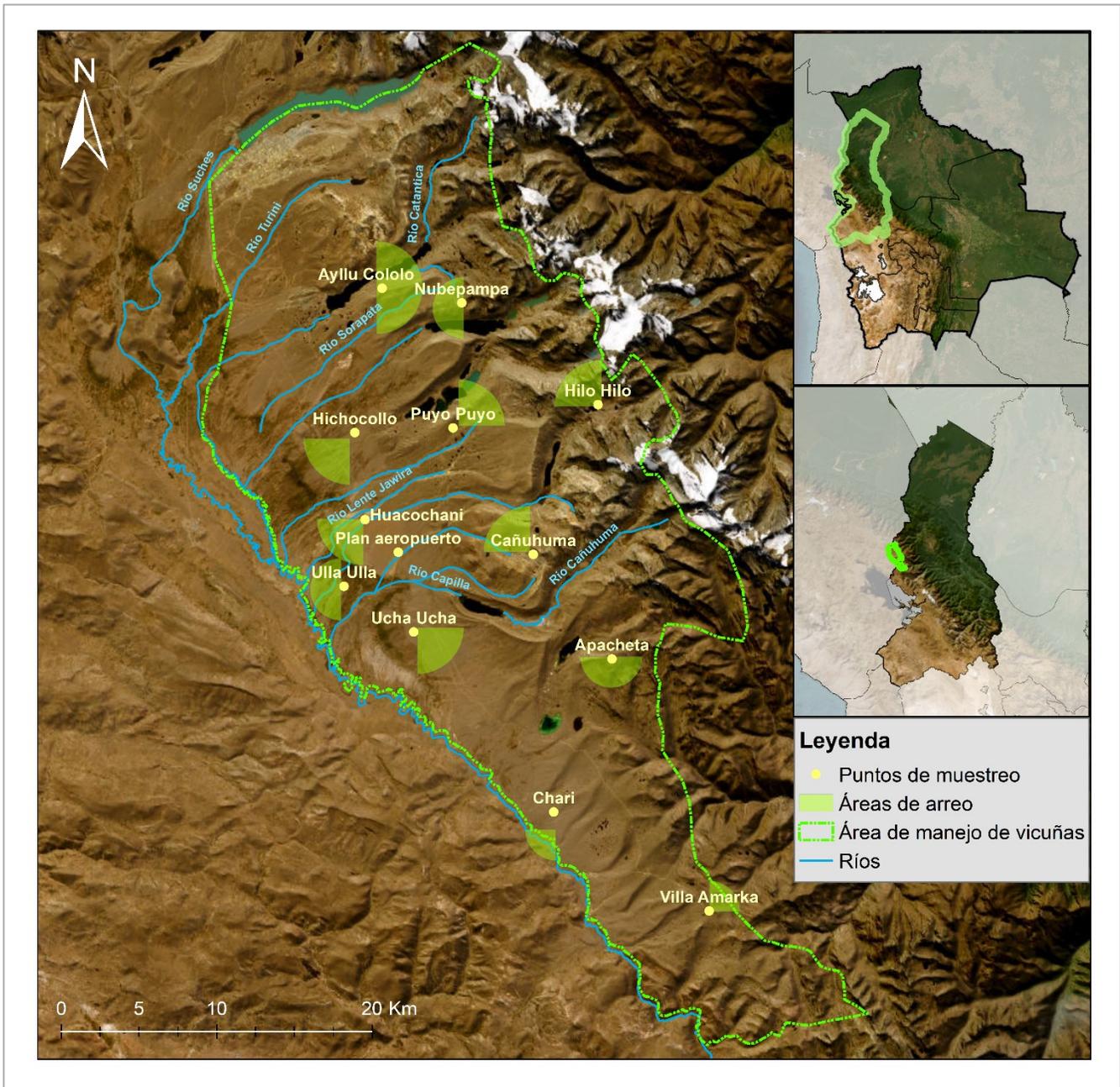


Figura 3. Mapa del área de muestreo (Elaboración propia)

2.2. Especie de estudio

La vicuña (*Vicugna vicugna*) es un camélido de apariencia grácil y estilizada, tiene cabeza pequeña, ojos grandes, cuello largo, cuerpo delgado, patas largas y delgadas (Lichtenstein 2006, Villalba *et al.* 2010), su fibra tiene un diámetro de 11-14 μm (Castillo 2009, MMAyA 2012, Vilá 2012). No tiene dimorfismo sexual, aunque los machos pueden ser un poco más grandes y se los puede diferenciar por su comportamiento (Wheeler *et al.* 2006, Villalba *et al.* 2010). Es un herbívoro que pastorea en praderas y bofedales altoandinos, de alta capacidad

selectiva y que consume gramíneas y arbustos bajos (Villalba *et al.* 2010). Las vicuñas conforman grupos familiares que usualmente consisten en un macho, dos a seis hembras y sus crías, que se mantienen todo el año en un mismo territorio. En los grupos familiares el macho delimita y defiende su territorio junto a su harén contra otros machos, mientras que también arrea a las hembras cuando se alejan de su territorio (Vilá 1995, 1999, 2000, ARCMV-ANMIN Apolobamba 2022). Diversos estudios sugieren que los grupos familiares ocupan un área de ~18 ha, aunque un estudio reciente señala que ésta área puede llegar a ser mucho mayor (~53 ha) (Vilá 1995, 1999, 2000, ARCMV-ANMIN Apolobamba 2022, Karandikar *et al.* 2023). Además de los grupos familiares, existen tropillas de machos generalmente jóvenes conformado por 6 a 22 o más vicuñas, que no conservan un solo territorio (ARCMV-ANMIN Apolobamba 2022).

La vicuña se encuentra distribuida en aproximadamente 300.000 km² en Perú, Bolivia, Chile y Argentina, entre 9° 30' y 29° 00' latitud sur, y entre 3000 a 5000 m de altitud (Grigione *et al.* 2018, Acebes *et al.* 2018). En Bolivia, se distribuye en la Puna y región altoandina de La Paz, Oruro, Potosí, Cochabamba y Tarija. Sus poblaciones se encuentran en la categoría de “Least concern (LC)” de la IUCN (Acebes *et al.* 2018), “Preocupación menor” en el Libro Rojo de la Fauna Silvestre de Vertebrados de Bolivia (MMAyA 2009) y en el Apéndice II de CITES, autorizando el manejo de esta especie para el aprovechamiento de su fibra en vivo (UNEP-WCMC 2021).

La esquila de la vicuña se realiza a nivel nacional. Se ha autorizado en Bolivia, con la aprobación del “Reglamento para la Conservación y Manejo de la Vicuña”, mediante Decreto Supremo 24529 de 21 de marzo de 1997, de inicio en áreas piloto seleccionadas dentro de las Unidades de Conservación de las Vicuñas Mauri-Desaguadero, Ulla Ulla y Sud Lípez. En 2002, con la transferencia de las poblaciones de vicuña de Bolivia del Apéndice I al Apéndice II de CITES, se ha ampliado el aprovechamiento de la fibra de vicuña a más comunidades campesinas, que hasta la actualidad han conformado once Asociaciones Regionales de Manejadores de vicuña asociadas a la Asociación Accidental Comunitaria para la Comercialización de Fibra de Vicuña Bolivia (ACOFIV-B) (ARCMV-ANMIN Apolobamba 2022). En el ANMIN Apolobamba hay 18 Comunidades Manejadoras de Vicuña afiliadas a la Asociación Regional de Comunidades Manejadoras de Vicuñas (ARCMV-ANMIN Apolobamba) y realizan la esquila de vicuñas anualmente (ARCMV-ANMIN Apolobamba 2022), adicionalmente se realiza un monitoreo de la salud de las vicuñas por parte de un equipo veterinario de la WCS.

2.3. Toma y procesamiento de muestras

La toma de muestras de las vicuñas se realizó al mismo tiempo de su captura para la esquila y monitoreo de su salud. Se tomaron muestras de dos tipos celulares para realizar el análisis de MN y AN:

2.3.1. Muestras de mucosa bucal

Se tomaron diferentes cantidades de muestras por comunidad manejadora de vicuña, pero se consideraron 10 muestras por comunidad para su análisis (130 muestras en total) (Tabla 2). Se siguió el protocolo de Holland et al. (2008), modificando el tipo de tinción: Para tomar las muestras de mucosa bucal se procedió a limpiar o raspar suavemente la mucosa del revestimiento interno de una o ambas mejillas usando un hisopo. Estas muestras se conservaron en solución salina (0,90%) hasta su análisis en laboratorio. En laboratorio las muestras se centrifugaron a 3500 rpm por siete minutos, para lavar dos veces las células en solución salina. A continuación, las células fueron transferidas a portaobjetos (25 x 75 mm), dos por individuo muestreado, mediante goteo y posterior extendido, dejando secar a temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente estas placas fueron teñidas utilizando el Kit panóptico (García *et al.* 2015), dejándolas secar a temperatura ambiente.

2.3.2. Muestras de sangre

Dada la dificultad que se tiene en la toma de muestras sanguíneas, por la rapidez con la que se realiza la esquila, y para evitar provocar mucho estrés en las vicuñas se había planteado tomar muestras en sólo 6 comunidades; sin embargo, fue posible obtener muestras en todas las comunidades, de las cuales se tomaron diferentes cantidades de muestras por comunidad, pero se consideraron 10 muestras por comunidad para su análisis (130 muestras en total) (Tabla 2). Se tomaron ~500 µl de sangre que fueron depositados en tubos Eppendorf con EDTA y conservados en frío para su traslado a laboratorio (Ferraro *et al.* 2004), posteriormente se siguió el método descrito en Noriega *et al.* (2005), modificando el tipo de tinción: Se tomó una pequeña gota de sangre total (50 µl), la cual se colocó en un portaobjetos limpio (25 x 75 mm) casi al extremo, con la ayuda de otro portaobjetos, dejando que la gota se extienda por capilaridad a lo ancho del portaobjeto deslizador, se realizó un frotis de la sangre, procurando que el extendido sea de tal grosor que las células sanguíneas no se sobrepongan ni queden muy separadas. Se prepararon dos placas por individuo muestreado. Las placas se secaron a temperatura ambiente por un día y posteriormente fueron teñidas utilizando el Kit de tinción panóptico (García *et al.* 2015), dejándolas secar al aire a temperatura ambiente.

2.4. Análisis de micronúcleos y anomalías nucleares

Todos los portaobjetos preparados se observaron bajo un microscopio compuesto equipado con una cámara, a un aumento de 100 x. Se contabilizaron 1.000 células bucales y sanguíneas (linfocitos) respectivamente por individuo (Zalacain *et al.* 2005, Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013). La frecuencia de MN observada en ambos tipos celulares se calculó según la siguiente fórmula (Drumond *et al.* 2012):

$$MN(\%) = \frac{\text{Número de células con MN}}{1000} \times 100$$

El análisis de AN complementa al análisis de MN, por lo que éstas fueron observadas a la par con los MN. En células bucales se buscó la presencia de puentes, constricciones, núcleos alargados, núcleos arriñonados, muescas, núcleos lobulados, binucleados, en profase y células apoptóticas. En linfocitos se buscó la presencia de puentes, brotes, colas, núcleos en forma de pesa, con forma irregular, fusionadas, con forma de herradura, forma circular, binucleados, células apoptóticas y células necróticas (Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, George *et al.* 2014, Fenech *et al.* 2016, Kravtsov *et al.* 2017, Nersesyan *et al.* 2022). La frecuencia de Anormalidades Nucleares para cada tipo celular fue calculada con la siguiente fórmula (Drumond *et al.* 2012):

$$AN(\%) = \frac{\text{Número de células con AN}}{1000} \times 100$$

2.5. Análisis de datos

Se comprobó la homogeneidad de la varianza y normalidad de los datos con gráficos de residuos y la prueba Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Se eligió realizar un modelo lineal generalizado (GLM) ya que es análogo a un ANOVA tradicional, pero permite el uso de datos no normales y heterocedásticos, como en este caso (Crawley 2005). Se usaron los datos de conteo de MN y AN y no así de frecuencias, para correr GLM con distribución Poisson y binomial negativo en caso de sobredispersión de datos. Para determinar el modelo que explica mejor la variación de MN y AN en células bucales y linfocitos, se usó el criterio de información de Akaike corregido (AICc), usando como factores comunidad, edad y sexo. Una vez determinado el mejor modelo, se usó una prueba post-Hoc de Tukey para determinar si existen diferencias significativas. Todas las pruebas se realizaron con el programa “RStudio v. 4.2.2”, usando los paquetes “car” y “MuMIn” para obtener los valores de AICc y los coeficientes del glm, “multcomp” para la prueba de Tukey y “ggplot2” para las gráficas.

Adicionalmente, se realizó una aproximación a nivel de microcuencas, tomando en cuenta microcuencas de nivel BL5. Para esto se obtuvieron promedios de las frecuencias de micronúcleos y anomalías nucleares para ambos tipos de tejido, de todas las comunidades dentro de cada microcuenca. En el caso de las anomalías nucleares, se consideraron los datos sólo de las AN que indican daño genotóxico para ambos tipos de tejido.

3. RESULTADOS

Se obtuvo un total de 480 muestras (242 bucales y 238 de sangre), de las cuales fueron analizadas 10 por tipo celular por comunidad (en total 130 bucales y 130 de sangre), se realizaron al menos dos placas por individuo, en las que se contaron mil células por tipo celular, pero en algunos casos para las muestras de mucosa bucal fue necesario realizar más de dos placas por la baja cantidad de células. Los tipos de daño encontrados se observan en la figura 4 (células bucales) y figura 11 (linfocitos).

Del análisis con GLM, el mejor modelo para MN y AN en células bucales y linfocitos fue el que incluye únicamente el factor comunidad y tuvo un efecto significativo sobre todos los conteos ($P < 0,001$; en todos los casos), explicando la mayor parte de la variación de MN y AN en células bucales y linfocitos de viciñas. Los coeficientes de cada modelo se encuentran en las tablas 4, 7, 10 y 14.

3.1. Mucosa bucal

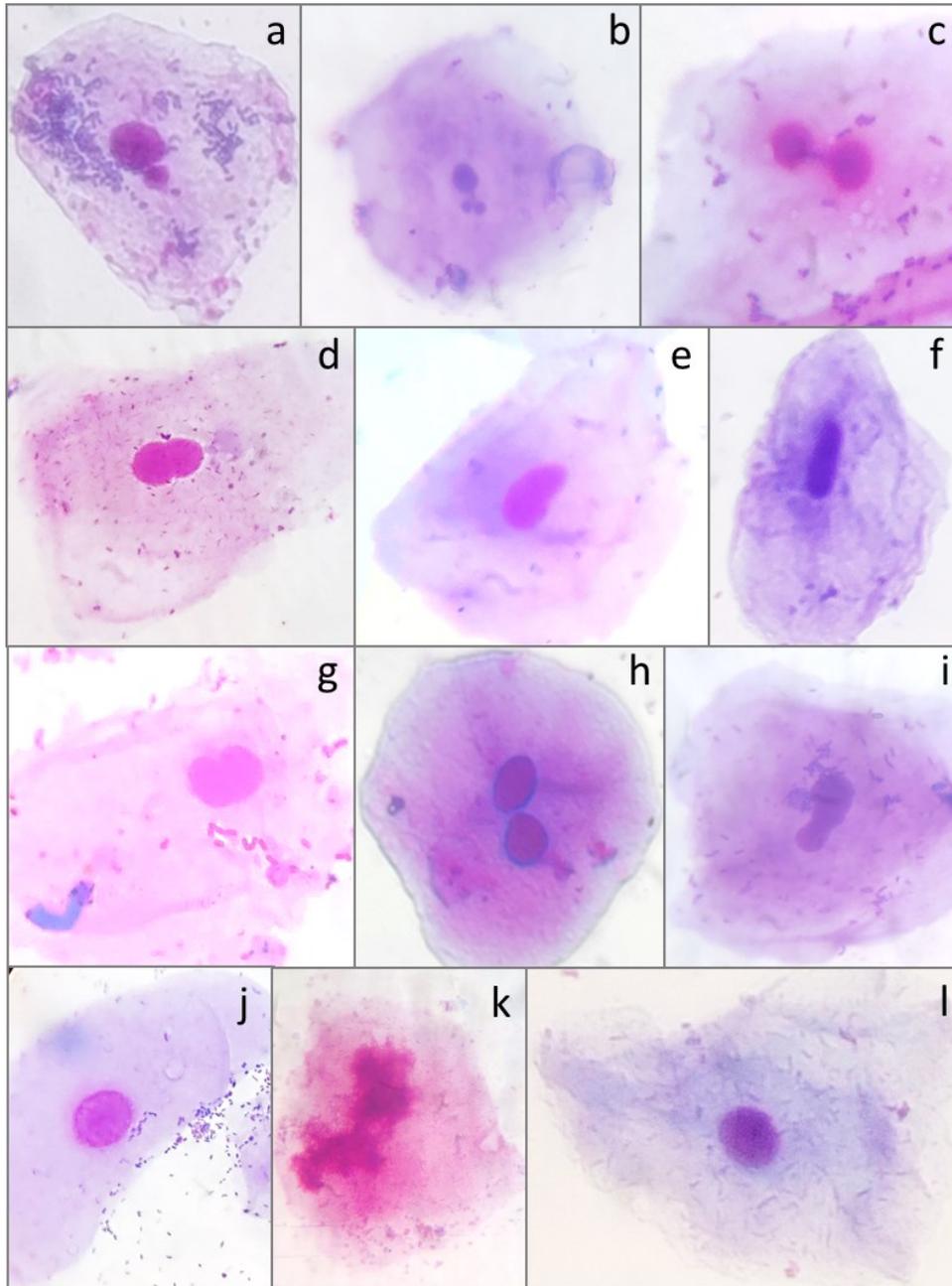


Figura 4. Tipos de daño en células bucales. a. Micronúcleo, b. Dos micronúcleos, c. Puente, d. Constricción, e. Arriñonado, f. Alargado, g. Muesca, h. Binucleado, i. Lobulado, j. Profase, k. Apoptosis, l. Célula sana.

3.1.1. Micronúcleos

Los resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de MN en células bucales se encuentran resumidos en la tabla 3. El GLM dio como resultado que el mejor modelo incluye la variable “Comunidad” (AICc = 584,90; Δ AICc null = 244,55) y que la variación es explicada en un 87,78% por esta variable (R²nagerlkerke = 0,8778). El intercepto y los coeficientes se encuentran en la tabla 4.

Tabla 3. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de micronúcleos en células bucales.

Comunidad		1MN	2MN	Total MN
Villa Amarka	Media \pm ES (Rango)	0,08 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0	0,08 \pm 0,02 (0 - 0,20)
Puyo Puyo	Media \pm ES (Rango)	1,04 \pm 0,10 (0,50 - 1,50)	0,07 \pm 0,02 (0 - 0,20)	1,11 \pm 0,11 (0,50 - 1,50)
Ulla Ulla	Media \pm ES (Rango)	0,69 \pm 0,11 (0,30 - 1,20)	0,05 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0,74 \pm 0,11 (0,30 - 1,20)
Ucha Ucha	Media \pm ES (Rango)	0,67 \pm 0,10 (0,10 - 1,10)	0,1 \pm 0,04 (0 - 0,40)	0,77 \pm 0,12 (0,10 - 1,50)
Hichocollo	Media \pm ES (Rango)	0,53 \pm 0,11 (0,10 - 1)	0,02 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,55 \pm 0,12 (0,10 - 1,10)
Plan Aeropuerto	Media \pm ES (Rango)	0,49 \pm 0,08 (0,10 - 1)	0,03 \pm 0,02 (0 - 0,10)	0,52 \pm 0,08 (0,10 - 1)
Nubepampa	Media \pm ES (Rango)	0,16 \pm 0,04 (0 - 0,30)	0	0,16 \pm 0,04 (0 - 0,30)
Huacochani	Media \pm ES (Rango)	0,43 \pm 0,05 (0,20 - 0,70)	0,06 \pm 0,03 (0 - 0,30)	0,49 \pm 0,06 (0,30 - 0,90)
Chari	Media \pm ES (Rango)	0,75 \pm 0,09 (0,40 - 1,40)	0,09 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0,84 \pm 0,09 (0,40 - 1,50)
Ayllu Cololo	Media \pm ES (Rango)	0,14 \pm 0,04 (0 - 0,40)	0	0,14 \pm 0,04 (0 - 0,40)
Hilo Hilo	Media \pm ES (Rango)	0,47 \pm 0,10 (0,20 - 1,30)	0,06 \pm 0,03 (0 - 0,30)	0,53 \pm 0,10 (0,30 - 1,30)
Apacheta	Media \pm ES (Rango)	0,23 \pm 0,04 (0 - 0,40)	0	0,23 \pm 0,04 (0 - 0,40)
Cañuhuma	Media \pm ES (Rango)	0,14 \pm 0,04 (0 - 0,4)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,15 \pm 0,04 (0 - 0,40)
Total	Media \pm ES (Rango)	0,45 \pm 0,03 (0 - 1,50)	0,04 \pm 0,01 (0 - 0,40)	0,48 \pm 0,04 (0 - 1,50)

Tabla 4. Resultados de GLM para micronúcleos en células bucales. El mejor modelo que incluye la variable “comunidad”, se muestran los coeficientes del modelo.

	Estimados (β)	ES	Z value	Pr(> z)
Intercepto	-0,223	0,354	-0,631	0,528
Puyo Puyo	2,63	0,366	7,185	<0,001
Ulla Ulla	2,225	0,372	5,977	<0,001
Ucha Ucha	2,264	0,372	6,096	<0,001

Hichocollo	1,928	0,378	5,095	<0,001
Plan Aeropuerto	1,872	0,38	4,929	<0,001
Nubepampa	0,693	0,433	1,601	0,109
Huacochani	1,812	0,381	4,753	<0,001
Chari	2,351	0,37	6,355	<0,001
Ayllu Cololo	0,56	0,443	1,263	0,207
Hilo Hilo	1,891	0,38	4,985	<0,001
Apacheta	1,056	0,411	2,573	0,01
Cañuhuma	0,629	0,438	1,436	0,151

La frecuencia de micronúcleos promedio (1 MN + 2 MN) en células bucales es de 0,48%. Siendo Puyo Puyo la comunidad con mayor frecuencia de MN (1,11%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a todas las comunidades, excepto Ulla Ulla, Ucha Ucha y Chari (Fig. 5, Tabla 3, 5). Mientras que, Villa Amarka es la comunidad con la menor frecuencia de MN (0,08%), y es significativamente diferente ($P < 0,05$) a todas las comunidades, excepto Nubepampa, Ayllu Cololo, Apacheta y Cañuhuma (Fig. 5, tabla 3, 5).

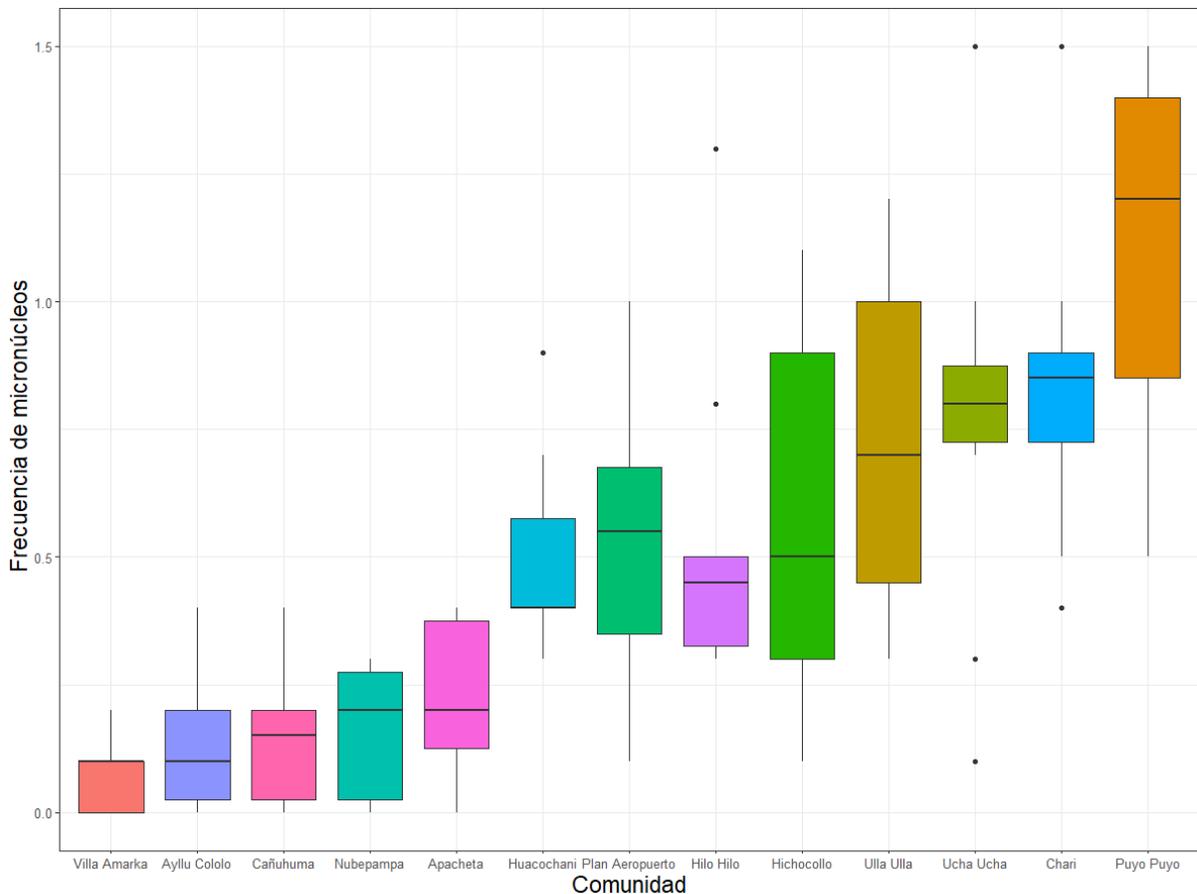


Figura 5. Frecuencia de micronúcleos en células bucales por comunidad.

Tabla 5. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para los micronúcleos en células bucales. En rojo las comunidades que muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Villa Amarka														
<0,01	Puyo Puyo													
<0,01	0,259	Ulla Ulla												
<0,01	0,178	1	Ucha Ucha											
<0,01	<0,01	0,961	0,986	Hichocollo										
<0,01	<0,01	0,813	0,895	1	Plan Aeropuerto									
0,919	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	Nubepampa								
<0,01	<0,01	0,386	0,505	0,998	1	0,036	Huacochani							
<0,01	0,59	1	1	0,750	0,471	<0,01	0,139	Chari						
0,987	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	1	0,014	<0,01	Ayllu Cololo					
<0,01	<0,01	0,685	0,794	1	1	0,011	1	0,337	<0,01	Hilo Hilo				
0,298	<0,01	<0,01	<0,01	0,039	0,1104	0,9957	0,396	<0,01	0,9572	0,177	Apacheta			
0,987	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	1	0,013	<0,01	1	<0,01	0,957	Cañuhuma		

La frecuencia de células con un solo MN en células bucales es 0,45% mientras de que de dos MN es 0,04%. Siendo la comunidad Puyo Puyo la que tiene mayor frecuencia de un MN (1,04%), significativamente diferente a todas las comunidades excepto Ulla Ulla, Ucha Ucha y Chari (Fig. 6, Tabla 3). No existen diferencias significativas para dos MN (Fig. 7).

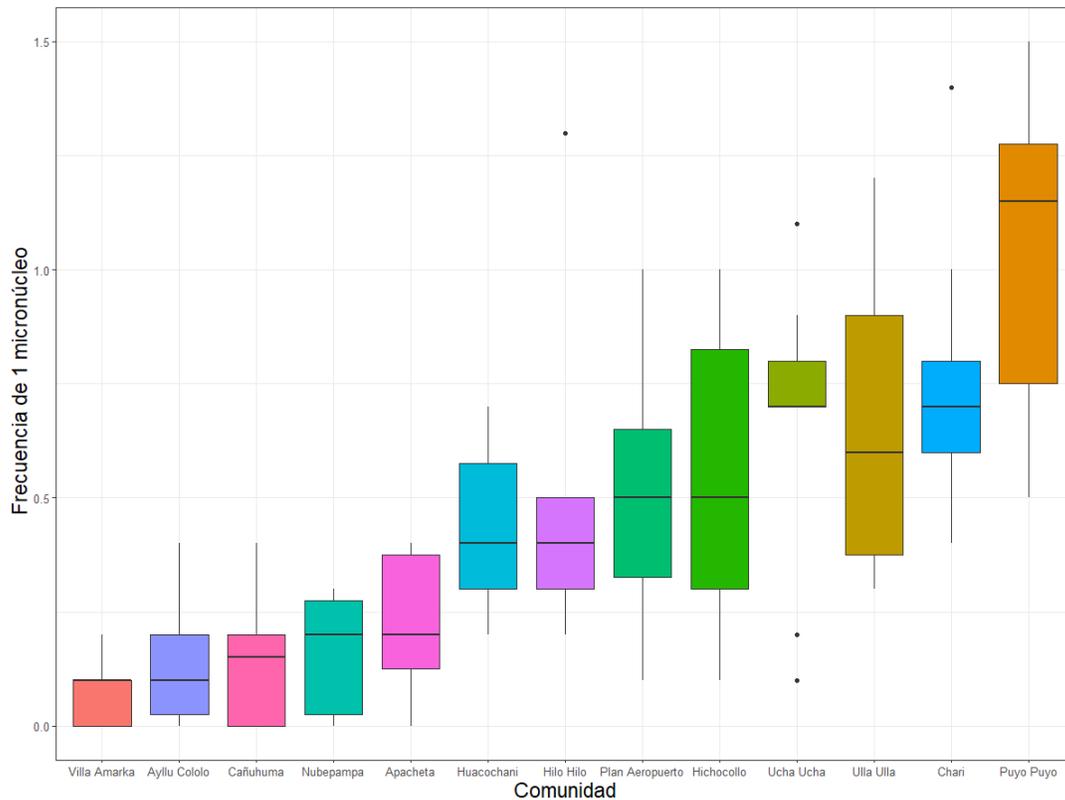


Figura 6. Frecuencia de un micronúcleo en células bucales por comunidad.

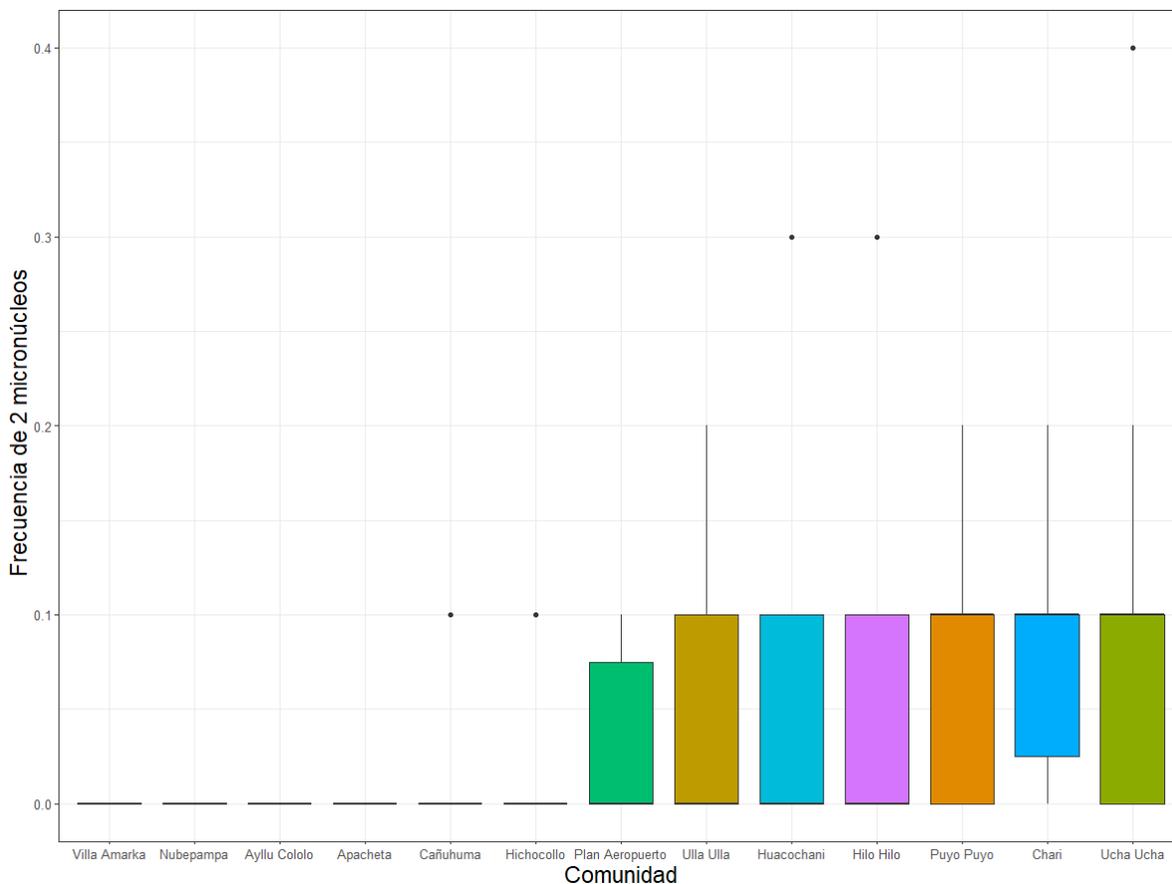


Figura 7. Frecuencia de dos micronúcleos en células bucales por comunidad.

3.1.2. Anomalías nucleares

Los resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de AN en células bucales se encuentran resumidos en la tabla 6. El GLM dio como resultado que el mejor modelo incluye la variable “Comunidad” ($AICc = 1383,20$; $\Delta AICc \text{ null} = 52,48$) y que la variación es explicada en un 45,97% por esta variable ($R^2_{\text{nagerlkerke}} = 0,4597$). El intercepto y los coeficientes se encuentran en la tabla 7.

Tabla 6. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de anomalías nucleares en células bucales.

Comunidad	Puente	Constricciones	Ariñonado	Alargado	Muesca	Lobulado	Binucleado	Profase	Apoptosis	Total AN	
Villa Amarka	Media \pm ES (Rango)	0	0,04 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0,02 \pm 0,01 (0 - 0,10)	8,05 \pm 0,67 (4,30 - 11,80)	0	0	0,6 \pm 0,15 (0,10 - 1,70)	3,64 \pm 0,70 (0 - 6,70)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	12,36 \pm 0,98 (7,10 - 17,90)
Puyo Puyo	Media \pm ES (Rango)	0	0,03 \pm 0,03 (0 - 0,30)	0,04 \pm 0,03 (0 - 0,20)	7,77 \pm 0,62 (5,30 - 11,30)	0	0,25 \pm 0,11 (0 - 1,20)	1,77 \pm 0,30 (0 - 2,90)	4,42 \pm 0,73 (2,40 - 10)	0	14,28 \pm 1,17 (8,70 - 21,70)
Ulla Ulla	Media \pm ES (Rango)	0	0,53 \pm 0,16 (0 - 1,30)	0,15 \pm 0,04 (0 - 0,40)	13,66 \pm 1,96 (5,80 - 24)	0,06 \pm 0,05 (0 - 0,50)	0,11 \pm 0,04 (0 - 0,40)	1,51 \pm 0,36 (0,40 - 3,70)	4,18 \pm 0,71 (1,50 - 8,70)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	20,21 \pm 2,67 (10,70 - 35)
Ucha Ucha	Media \pm ES (Rango)	0,02 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,67 \pm 0,13 (0 - 1,40)	0,19 \pm 0,08 (0 - 0,70)	13,94 \pm 0,72 (10,20 - 17,10)	0,08 \pm 0,04 (0 - 0,30)	0,3 \pm 0,06 (0 - 0,50)	1,44 \pm 0,24 (0,70 - 3,20)	10,89 \pm 1,93 (6,30 - 26,20)	0,03 \pm 0,02 (0 - 0,10)	27,56 \pm 1,97 (19,10 - 41,40)
Hichocollo	Media \pm ES (Rango)	0,02 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0,48 \pm 0,09 (0 - 1)	0,06 \pm 0,02 (0 - 0,20)	10,27 \pm 1,55 (5 - 19,30)	0,05 \pm 0,02 (0 - 0,20)	0,36 \pm 0,18 (0 - 1,90)	0,95 \pm 0,19 (0 - 20)	6,2 \pm 1,08 (2,80 - 12,80)	0	18,39 \pm 2,06 (11,50 - 32,90)
Plan Aeropuerto	Media \pm ES (Rango)	0	0,2 \pm 0,09 (0 - 0,80)	0,09 \pm 0,04 (0 - 0,30)	7,91 \pm 0,60 (5,10 - 10,70)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,10 \pm 0,03 (0 - 0,20)	1,23 \pm 0,26 (0,30 - 2,50)	6,09 \pm 0,83 (1 - 10,50)	0	15,63 \pm 1,50 (8 - 23,50)
Nubepampa	Media \pm ES (Rango)	0	0,13 \pm 0,07 (0 - 0,70)	0,09 \pm 0,05 (0 - 0,50)	4,07 \pm 0,39 (2,30 - 6)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,06 \pm 0,03 (0 - 0,30)	0,71 \pm 0,12 (0,20 - 1,60)	3,87 \pm 0,57 (2 - 7,10)	0	8,94 \pm 0,85 (5,80 - 13,60)
Huacochani	Media \pm ES (Rango)	0	0,19 \pm 0,06 (0 - 0,50)	0,04 \pm 0,02 (0 - 0,20)	8,69 \pm 1,12 (4,60 - 14,30)	0	0,1 \pm 0,05 (0 - 0,50)	1,12 \pm 0,23 (0,20 - 2,40)	3,2 \pm 0,33 (2,40 - 6)	0,07 \pm 0,03 (0 - 0,30)	13,41 \pm 1,22 (9,30 - 19,70)
Chari	Media \pm ES (Rango)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,44 \pm 0,12 (0 - 0,90)	0,26 \pm 0,05 (0 - 0,50)	9,61 \pm 1,39 (2,40 - 19,20)	0,08 \pm 0,03 (0 - 0,20)	0,16 \pm 0,06 (0 - 0,50)	0,99 \pm 0,28 (0,10 - 2,90)	1,95 \pm 0,65 (0,20 - 5,60)	0,08 \pm 0,05 (0 - 0,50)	13,58 \pm 2,26 (3,80 - 27,10)
Ayllu Cololo	Media \pm ES (Rango)	0	0,25 \pm 0,06 (0 - 0,70)	0,02 \pm 0,02 (0 - 0,20)	3,58 \pm 0,49 (1,60 - 6,30)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,09 \pm 0,04 (0 - 0,40)	0,66 \pm 0,15 (0,10 - 1,70)	6,92 \pm 0,88 (3 - 11,80)	0	11,53 \pm 0,73 (7,90 - 14,90)
Hilo Hilo	Media \pm ES (Rango)	0	0,11 \pm 0,05 (0 - 0,50)	0,1 \pm 0,04 (0 - 0,30)	6,44 \pm 0,46 (4,30 - 7,90)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,07 \pm 0,03 (0 - 0,20)	0,61 \pm 0,09 (0,10 - 1,10)	4,26 \pm 0,60 (2,10 - 7,20)	0	11,60 \pm 0,71 (8,10 - 15,81)
Apacheta	Media \pm ES (Rango)	0	0,09 \pm 0,03 (0 - 0,30)	0,04 \pm 0,02 (0 - 0,10)	7,26 \pm 1,21 (2,50 - 14,50)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,10 \pm 0,04 (0 - 0,30)	0,77 \pm 0,17 (0,30 - 1,80)	2,99 \pm 1,98 (0,60 - 6,50)	0	11,26 \pm 1,81 (4 - 21,50)
Cañuhuma	Media \pm ES (Rango)	0	0,31 \pm 0,11 (0 - 0,90)	0,04 \pm 0,03 (0 - 0,30)	5,93 \pm 0,63 (2,30 - 8,50)	0,01 \pm 0,01 (0 - 0,10)	0,14 \pm 0,07 (0 - 0,70)	0,88 \pm 0,10 (0,20 - 1,30)	7,82 \pm 1,07 (4,30 - 16,10)	0	15,13 \pm 1,36 (7 - 22,20)
TOTAL	Media \pm ES (Rango)	0,003 \pm 0,002 (0 - 0,20)	0,27 \pm 0,03 (0 - 1,40)	0,09 \pm 0,01 (0 - 0,70)	8,24 \pm 0,38 (1,60 - 24)	0,02 \pm 0,01 (0 - 0,50)	0,14 \pm 0,02 (0 - 1,90)	1,02 \pm 0,07 (0 - 3,70)	5,11 \pm 0,31 (0 - 26,20)	0,02 \pm 0,01 (0 - 0,50)	14,91 \pm 0,59 (3,80 - 41,40)

Tabla 7. Resultados de GLM para las anomalías nucleares. El mejor modelo que incluye la variable “comunidad”, se muestran los coeficientes del modelo.

	Estimados (β)	ES	Z value	Pr(> z)
Intercepto	4	0,1	48,031	<0,001
Puyo Puyo	0,144	0,121	1,021	0,307
Ulla Ulla	0,492	0,141	3,494	<0,001
Ucha Ucha	0,802	0,14	5,718	<0,001
Hichocollo	0,397	0,141	2,82	0,005
Plan Aeropuerto	0,235	0,141	1,662	0,096
Nubepampa	-0,324	0,143	-2,267	0,023
Huacochani	0,081	0,142	0,576	0,565
Chari	0,094	0,142	0,665	0,506
Ayllu Cololo	-0,07	0,142	-0,489	0,624
Hilo Hilo	-0,063	0,142	-0,447	0,655
Apacheta	-0,093	0,142	-0,656	0,512
Cañuhuma	0,202	0,141	1,431	0,152

La frecuencia de AN promedio (suma de todas las AN) en células bucales es de 14,92%. Siendo Ucha Ucha la comunidad con mayor frecuencia de AN (27,56%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a todas las comunidades, excepto Ulla Ulla e Hichocollo (Fig. 8, Tabla 6, 8). Mientras que, Nubepampa es la comunidad con menor frecuencia de AN (8,94%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a Ulla Ulla, Ucha Ucha, Hichocollo, Plan Aeropuerto y Cañuhuma (Fig. 8, Tabla 6, 8).

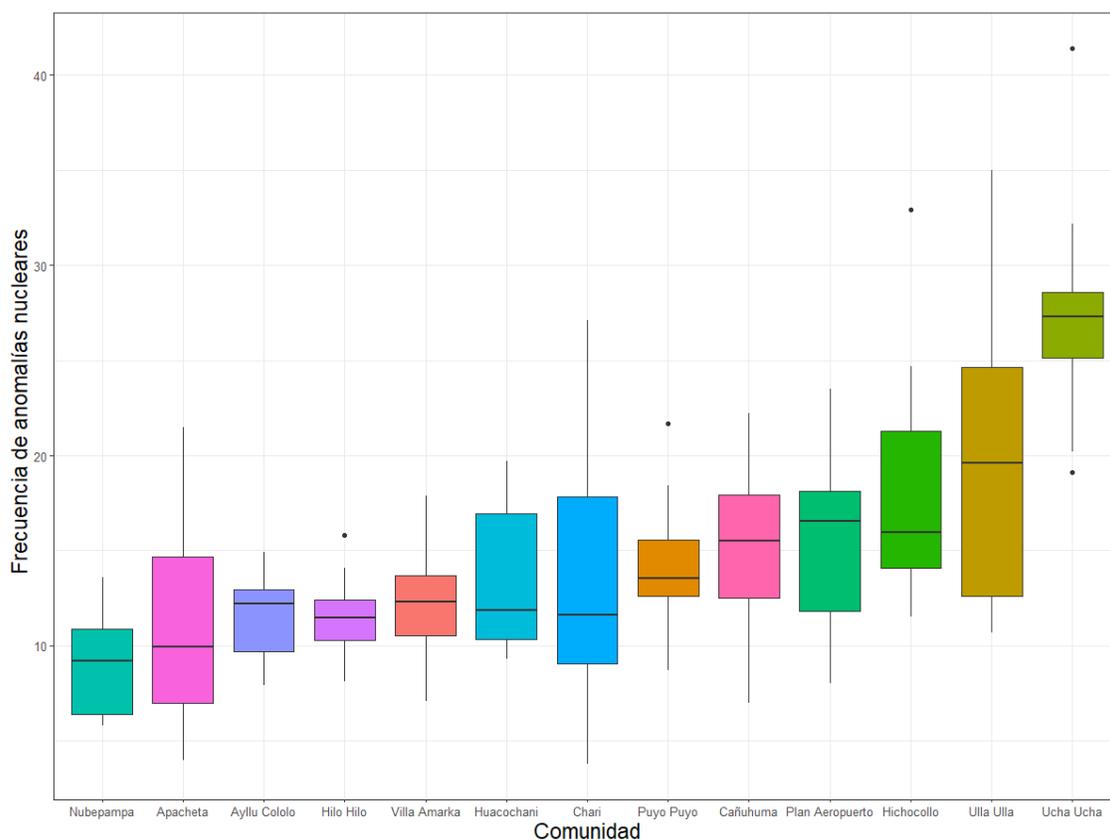


Figura 8. Frecuencia de anomalías nucleares en células bucales por comunidad.

Tabla 8. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para las anomalías nucleares en células bucales. En rojo las comunidades que muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Villa Amarka													
0,999	Puyo Puyo												
0,028	0,391	Ulla Ulla											
<0,01	<0,01	0,57	Ucha Ucha										
0,192	0,85	1	0,157	Hichocollo									
0,910	1	0,83	<0,01	0,995	Plan Aeropuerto								
0,542	0,055	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	Nubepampa							
1	1	0,15	<0,01	0,557	0,997	0,184	Huacochani						
1	1	0,19	<0,01	0,623	0,999	0,147	1	Chari					
1	0,954	<0,01	<0,01	0,050	0,627	0,861	0,998	0,995	Ayllu Cololo				
1	0,963	<0,01	<0,01	0,058	0,628	0,840	0,999	0,997	1	Hilo Hilo			
1	0,904	<0,01	<0,01	<0,01	0,504	0,927	0,991	0,984	1	1	Apacheta		
0,970	1	0,69	<0,01	0,976	1	0,0134	1,000	1,000	0,723	0,809	0,674	Cañuhuma	

En cuanto a los tipos de AN en células bucales, la anomalía más frecuente en todas las comunidades fue el núcleo alargado (8,24%), seguido de núcleos en profase (5,11%) y células binucleadas (1,02%) (Fig. 9, Tabla 6).

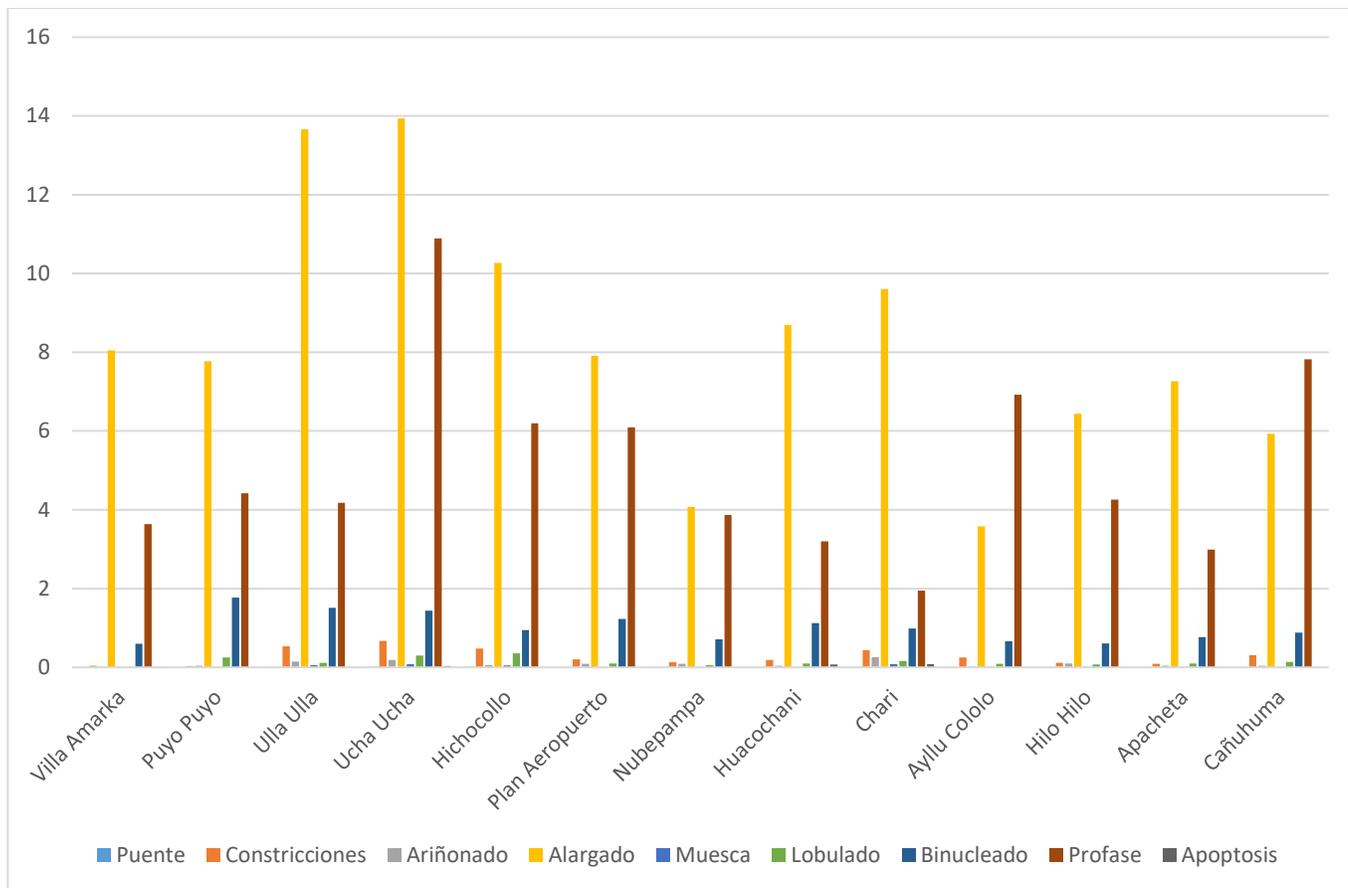


Figura 9. Frecuencia de anomalías nucleares desglosadas en células bucales entre comunidades.

3.1.3. Microcuencas

Se obtuvieron dos mapas con los promedios de MN y AN para células bucales (Fig. 10). Se observa que la microcuenca más afectada para el caso de MN es la microcuenca “Desembocadura del río Suches”, mientras que la menos afectada es la microcuenca “Collpawata” (Fig. 10a), algo similar ocurre para el caso de la frecuencia de AN que son indicadoras de daño genotóxico, donde la microcuenca más afectada es la microcuenca “Desembocadura del río Suches”, mientras que la menos afectada es la microcuenca “Río Tuichi” (Fig. 10b).

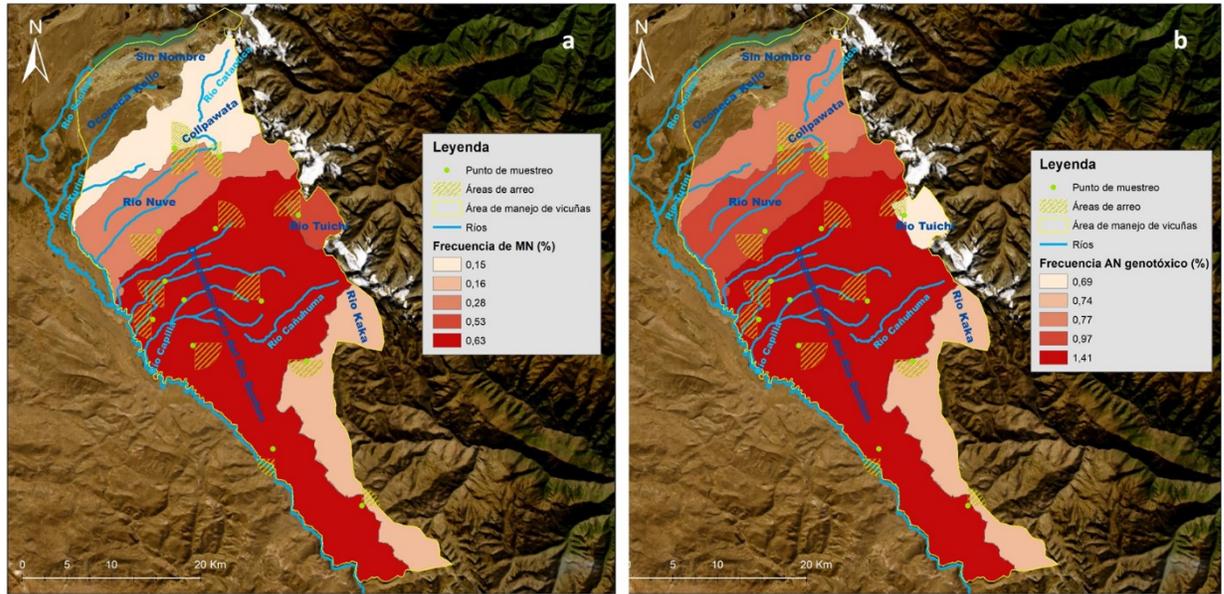


Figura 10. Frecuencia de daño genotóxico en células bucales de vicuñas por microcuencas. a: Micronúcleos, b: Anomalías nucleares indicadoras de daño genotóxico.

3.2. Linfocitos

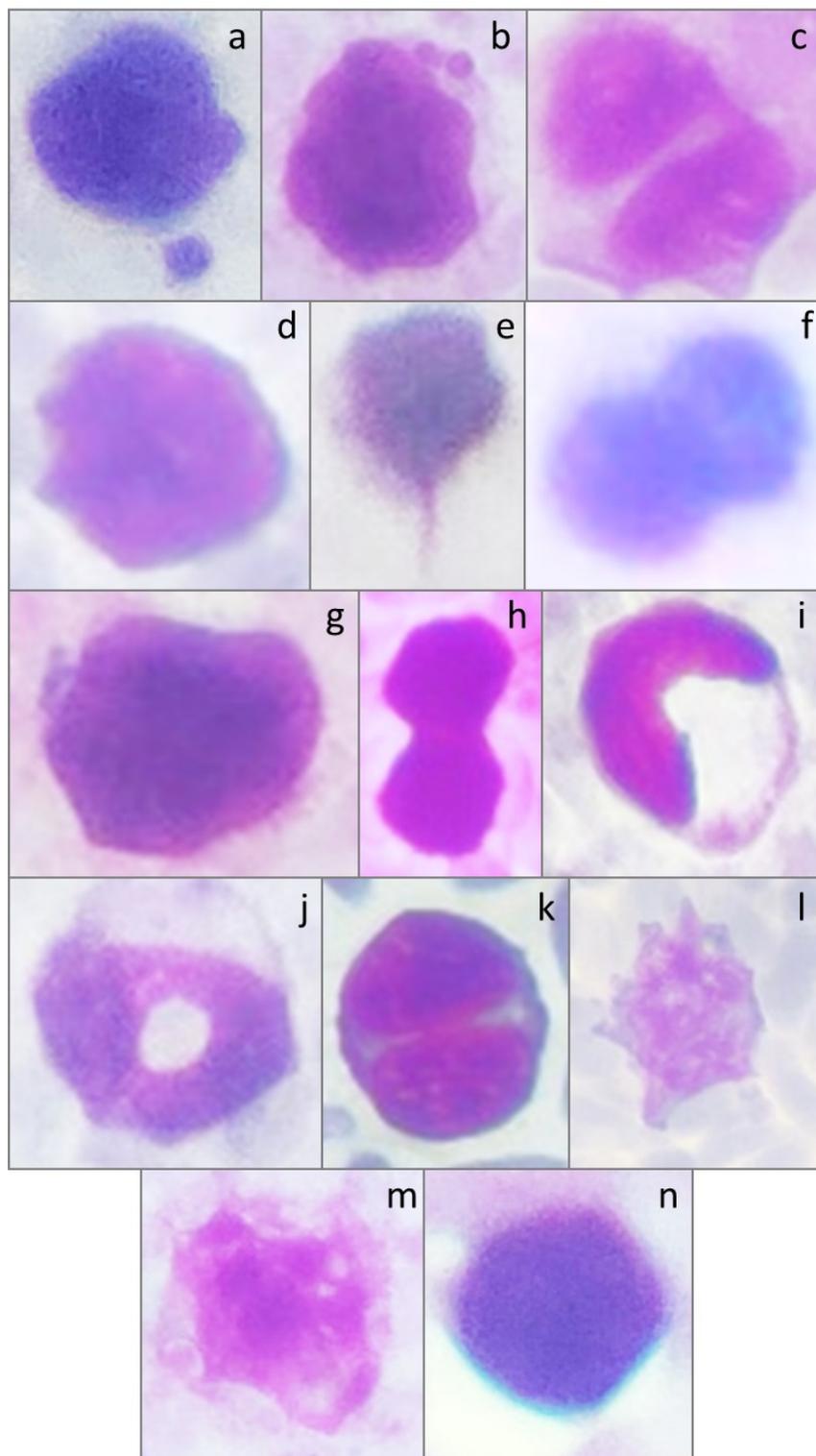


Figura 11. Tipos de daño encontrados en linfocitos. a. Micronúcleo, b. Dos micronúcleos, c. Puente, d. Brote e. Cola, f. Pesa, g. Irregular, h. Fusión, i. Herradura, j. Circular, k. Binucleado, l. Apoptosis, m. Necrosis, n. Célula sana.

3.2.1. Micronúcleos

Los resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de MN en linfocitos se encuentran resumidos en la tabla 9. El GLM dio como resultado que el mejor modelo incluye la variable “Comunidad” (AICc = 526,50, Δ AICc null = 87.41) y que la variación es explicada en un 60,33% por esta variable (R²nagerlkerke = 0,6033). El intercepto y los coeficientes se encuentran en la tabla 10.

Tabla 9. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de micronúcleos en linfocitos.

Comunidad		1MN	2MN	Total MN
Villa Amarka	Media \pm ES (Rango)	0,33 \pm 0,06 (0,10 – 0,70)	0	0,33 \pm 0,06 (0,10 – 0,70)
Puyo Puyo	Media \pm ES (Rango)	0,62 \pm 0,07 (0,30 – 0,90)	0,05 \pm 0,02 (0 – 0,20)	0,67 \pm 0,08 (0,30 – 1,10)
Ulla Ulla	Media \pm ES (Rango)	0,66 \pm 0,12 (0,20 – 1,40)	0,05 \pm 0,02 (0 – 0,20)	0,71 \pm 0,14 (0,20 – 1,60)
Ucha Ucha	Media \pm ES (Rango)	0,32 \pm 0,04 (0,20 – 0,60)	0,03 \pm 0,05 (0 – 0,10)	0,35 \pm 0,05 (0,20 – 0,70)
Hichocollo	Media \pm ES (Rango)	0,27 \pm 0,05 (0 – 0,50)	0,01 \pm 0,01 (0 – 0,10)	0,28 \pm 0,06 (0 – 0,60)
Plan Aeropuerto	Media \pm ES (Rango)	0,18 \pm 0,04 (0 – 0,30)	0	0,18 \pm 0,04 (0 – 0,30)
Nubepampa	Media \pm ES (Rango)	0,29 \pm 0,06 (0,10 – 0,70)	0	0,29 \pm 0,06 (0,10 – 0,70)
Huacochani	Media \pm ES (Rango)	0,21 \pm 0,05 (0 – 0,50)	0	0,21 \pm 0,05 (0 – 0,50)
Chari	Media \pm ES (Rango)	0,21 \pm 0,05 (0 – 0,40)	0	0,21 \pm 0,05 (0 – 0,40)
Ayllu Cololo	Media \pm ES (Rango)	0,37 \pm 0,07 (0 – 0,70)	0	0,37 \pm 0,07 (0 – 0,70)
Hilo Hilo	Media \pm ES (Rango)	0,24 \pm 0,05 (0 – 0,50)	0,01 \pm 0,01 (0 – 0,10)	0,25 \pm 0,05 (0 – 0,50)
Apacheta	Media \pm ES (Rango)	0,07 \pm 0,02 (0 – 0,20)	0	0,07 \pm 0,02 (0 – 0,20)
Cañuhuma	Media \pm ES (Rango)	0,24 \pm 0,07 (0 – 0,70)	0	0,24 \pm 0,07 (0 – 0,70)
Total	Media \pm ES (Rango)	0,31 \pm 0,02 (0 – 1,40)	0,01 \pm 0,00 (0 – 0,20)	0,32 \pm 0,02 (0 – 1,60)

Tabla 10. Resultados de GLM para los micronúcleos en linfocitos. El mejor modelo que incluye la variable “comunidad”, se muestran los coeficientes del modelo.

	Estimados (β)	ES	Z value	Pr(> z)
Intercepto	1,204	0,183	6,594	<0,001

Puyo Puyo	0,698	0,219	3,178	0,001
Ulla Ulla	0,756	0,218	3,472	<0,001
Ucha Ucha	0,049	0,249	0,196	0,844
Hichocollo	-0,174	0,263	-0,664	0,507
Plan Aeropuerto	-0,626	0,298	-2,067	0,039
Nubepampa	-0,139	0,260	-0,535	0,593
Huacochani	-0,462	0,284	-1,624	0,104
Chari	-0,462	0,284	-1,624	0,104
Ayllu Cololo	0,104	0,246	0,425	0,671
Hilo Hilo	-0,288	0,271	-1,062	0,288
Apacheta	-1,561	0,42	-3,718	<0,001
Cañuhuma	-0,328	0,274	-1,2	0,23

La frecuencia de micronúcleos promedio (1 MN + 2 MN) en linfocitos es de 0,32%. Siendo Ulla Ulla la comunidad con mayor frecuencia de MN (0,71%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a todas las comunidades, excepto Puyo Puyo, Ucha Ucha y Ayllu Cololo (Fig. 12, Tabla 9, 11). Por otro lado, Apacheta es la comunidad con menor frecuencia de MN (0,07%), significativamente diferente ($P < 0,05$) a Villa Amarka, Puyo Puyo, Ulla Ulla, Ucha Ucha, Nubepampa y Ayllu Cololo.

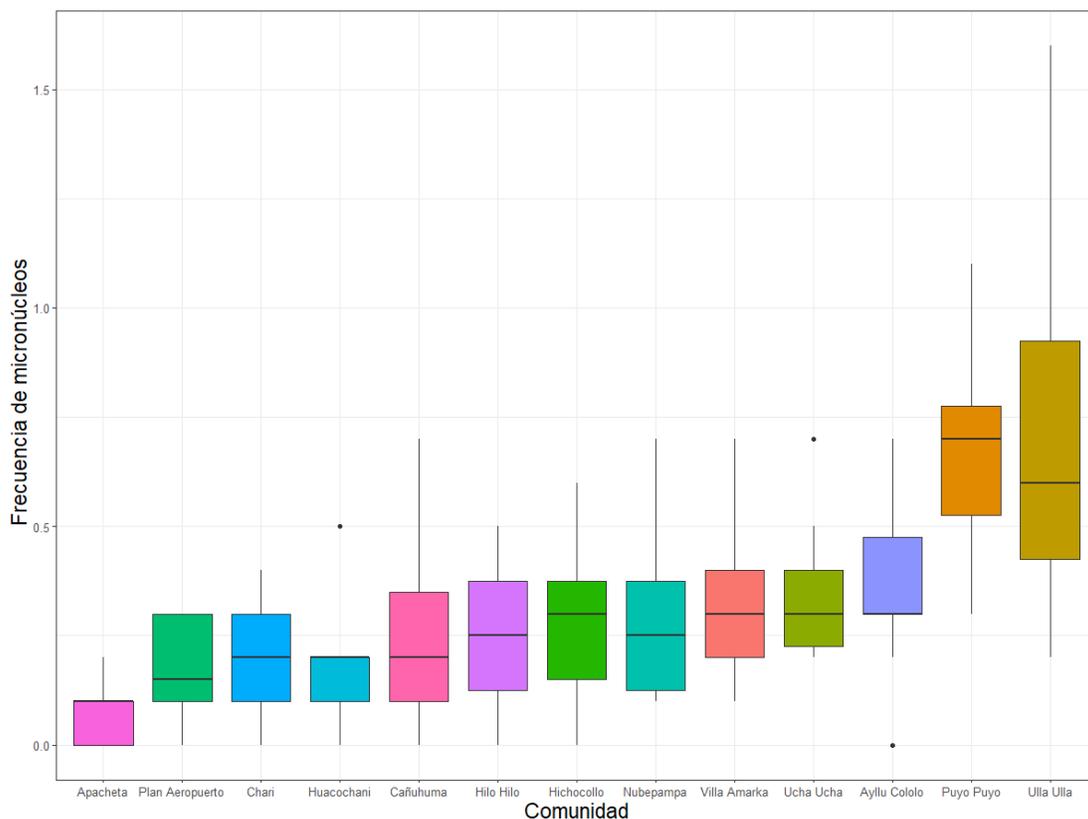


Figura 12. Frecuencia de micronúcleos en linfocitos por comunidad.

Tabla 11. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para micronúcleos en linfocitos. En rojo las comunidades que muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Villa Amarka																				
0,069	Puyo Puyo																			
0,028	1	Ulla Ulla																		
1	0,08	0,032	Ucha Ucha																	
1	<0,01	<0,01	1	Hichocollo																
0,67	<0,01	<0,01	0,502	0,96	Plan Aeropuerto															
1	<0,01	<0,01	1	1	0,927	Nubepampa														
0,915	<0,01	<0,01	0,811	0,999	1	0,996	Huacochani													
0,916	<0,01	<0,01	0,811	0,999	1	0,996	1	Chari												
1	0,15	0,062	1	0,996	0,351	1	0,666	0,667	Ayllu Cololo											
0,998	<0,01	<0,01	0,986	1	0,998	1	1	1	0,949	Hilo Hilo										
0,012	<0,01	<0,01	<0,01	0,051	0,631	0,038	0,345	0,345	<0,01	0,121	Apacheta									
0,992	<0,01	<0,01	0,968	1	1	1	1	1	0,906	1	0,161	Cañuhuma								

La frecuencia de células con un solo MN en linfocitos es 0,31% mientras de que de dos MN es 0,01%. Siendo la comunidad Ulla Ulla la que tiene mayor frecuencia de un MN (0,66%), significativamente diferente a todas las comunidades excepto Villa Amarka y Puyo Puyo (Fig. 13, Tabla 9, 12). No existen diferencias significativas para dos MN (Fig. 14).

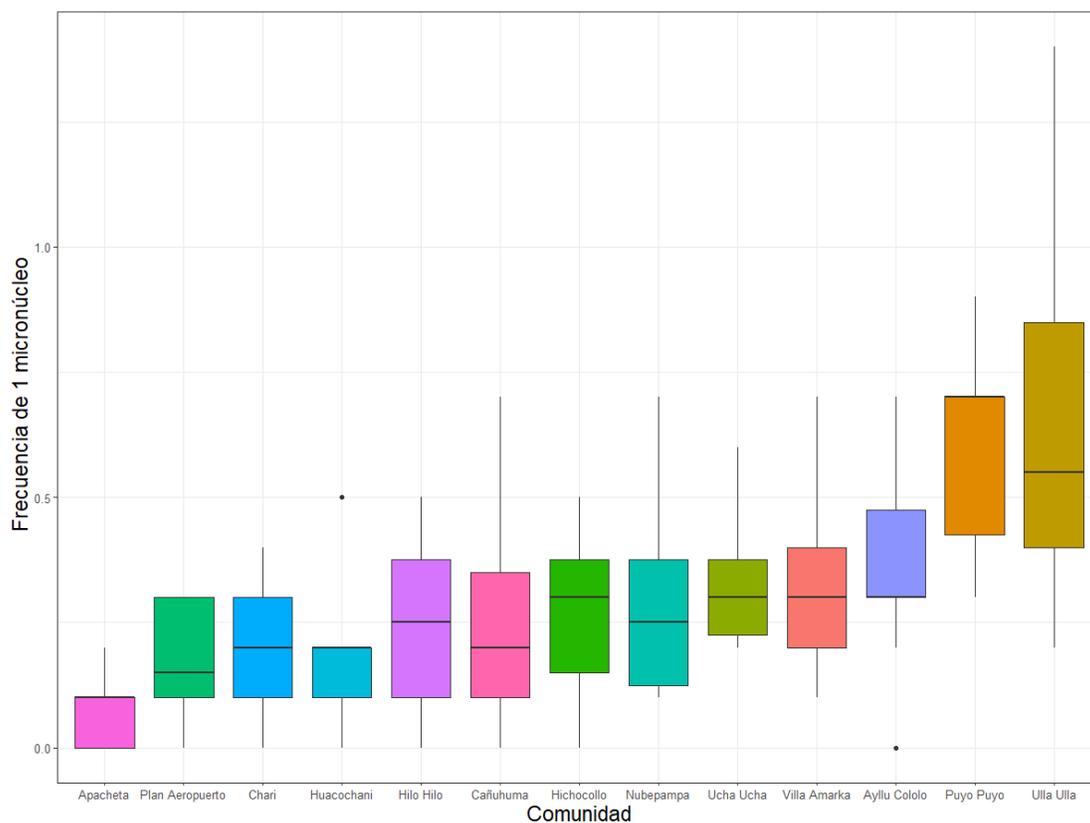


Figura 13. Frecuencia de un micronúcleo en linfocitos por comunidad.

Tabla 12. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para un micronúcleo en linfocitos. En rojo las comunidades que muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Villa Amarka														
0,194	Puyo Puyo													
0,086	1	Ulla Ulla												
1	0,103	0,04	Ucha Ucha											
1	0,018	<0,01	1	Hichocollo										
0,671	<0,01	<0,01	0,75	0,981	Plan Aeropuerto									
1	0,038	0,012	1	1	0,928	Nubepampa								
0,917	<0,01	<0,01	0,952	1	1	0,996	Huacochani							
0,916	<0,01	<0,01	0,952	1	1	0,996	1	Chari						
1	0,367	0,182	1	0,989	0,353	0,999	0,666	0,667	Ayllu Cololo					
0,992	<0,01	<0,01	0,997	1	1	1	1	1	0,906	Hilo Hilo				
0,012	<0,01	<0,01	0,016	0,068	0,633	0,038	0,346	0,346	<0,01	0,16	Apacheta			
0,992	<0,01	<0,01	0,997	1	1	1	1	1	0,906	1	0,161	Cañuhuma		

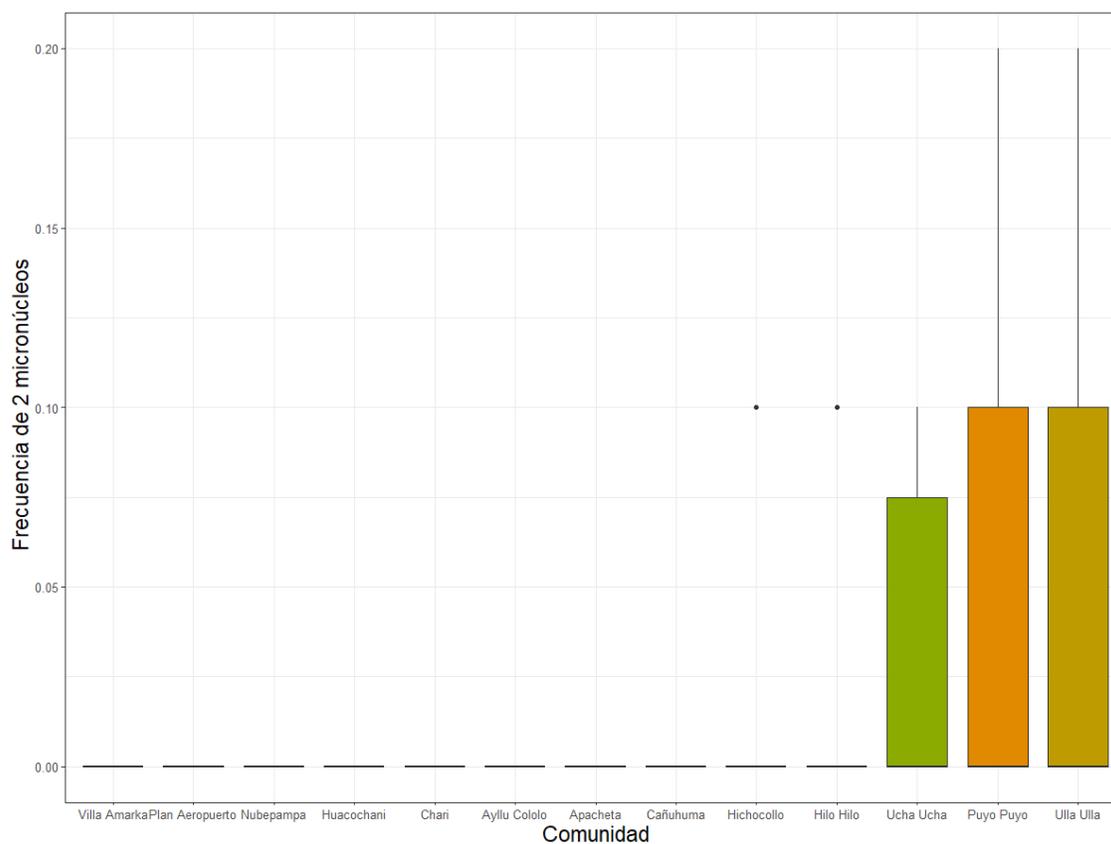


Figura 14. Frecuencia de dos micronúcleos en linfocitos por comunidad.

3.2.2. Anomalías nucleares

Los resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de AN en linfocitos se encuentran resumidos en la tabla 13. El GLM dio como resultado que el mejor modelo incluye la variable “Comunidad” ($AICc = 1593$; $\Delta AICc \text{ null} = 52,93$) y que la variación es explicada en un 46,43% por esta variable ($R^2_{\text{nagerlkerke}} = 0,46$). El intercepto y los coeficientes se encuentran en la tabla 14.

La frecuencia de AN promedio (suma de todas las AN) en linfocitos es de 57,13%. Siendo Ayllu Cololo la comunidad con mayor frecuencia de AN (73,77%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a todas las comunidades, excepto Ulla Ulla e Hichocollo (Fig. 15, Tabla 13, 15). Mientras que, Nubepampa es la comunidad con menor frecuencia de AN (8,94%) significativamente diferente ($P < 0,05$) a Ulla Ulla, Ucha Ucha, Hichocollo, Plan Aeropuerto y Cañuhuma (Fig. 15, Tabla 13, 15).

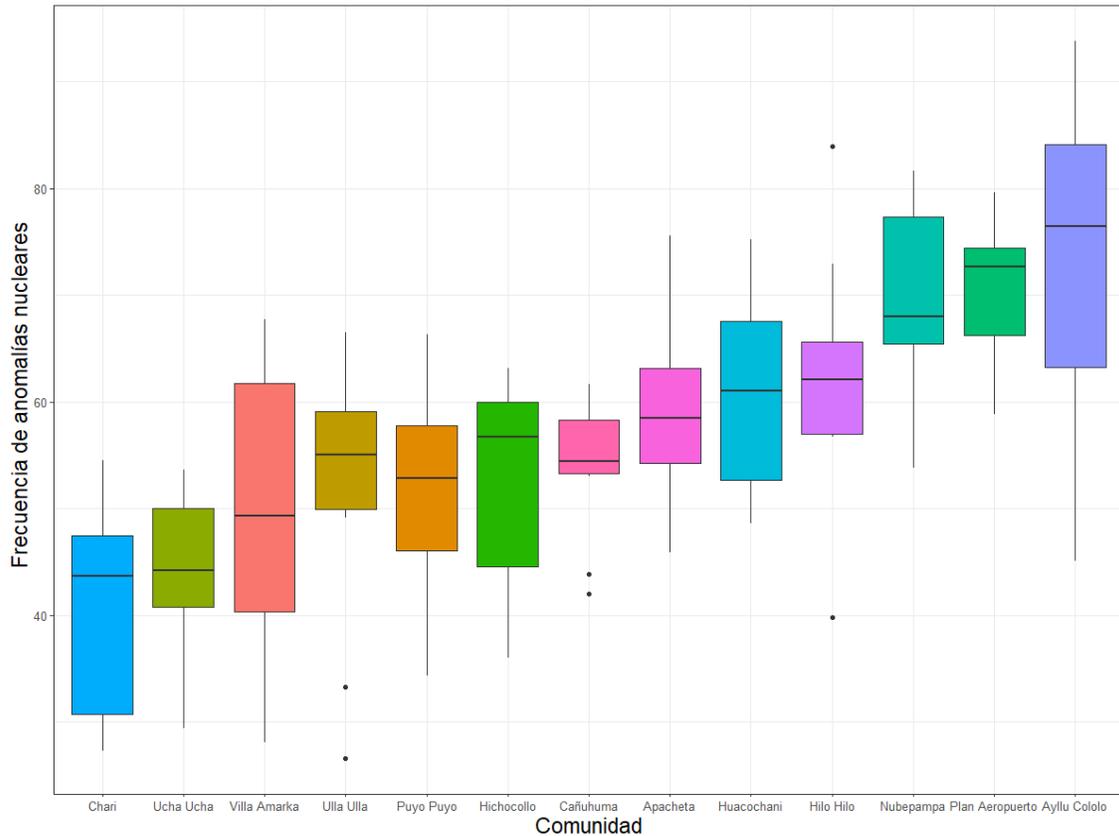


Figura 15. Frecuencia de anomalías nucleares en linfocitos por comunidad.

Tabla 13. Resultados del análisis descriptivo de la frecuencia de anomalías nucleares en linfocitos.

Comunidad		Puente	Brote	Cola	Pesa	Irregular	Fusión	Herradura	Circular	Binucleado	Apoptosis	Necrosis	Total AN
Villa Amarka	Media ± ES (Rango)	0,96 ± 0,34 (0 - 2,50)	15,39 ± 2,64 (4,40 - 27,20)	3,44 ± 0,96 (0,50 - 8,90)	7,36 ± 1,35 (2,80 - 14)	8,81 ± 1,78 (3 - 17,60)	0,72 ± 0,26 (0 - 2,30)	0,07 ± 0,03 (0 - 0,20)	0,17 ± 0,09 (0 - 0,80)	0,41 ± 0,11 (0,10 - 1,10)	0,62 ± 0,12 (0 - 1,20)	11,62 ± 3,65 (2 - 30,20)	49,57 ± 4,58 (28,10 - 67,70)
Puyo Puyo	Media ± ES (Rango)	0,62 ± 0,17 (0,10 - 1,80)	5,70 ± 0,66 (2 - 9,10)	1,57 ± 0,23 (0,50 - 2,70)	7,47 ± 0,94 (3,30 - 11,80)	22,25 ± 3,37 (7,60 - 38,80)	0,07 ± 0,03 (0 - 0,20)	0,05 ± 0,05 (0 - 0,05)	0	0,88 ± 0,12 (0,30 - 1,40)	0,29 ± 0,15 (0 - 1,40)	13,53 ± 2,02 (3,70 - 22)	52,43 ± 3,09 (34,30 - 66,30)
Ulla Ulla	Media ± ES (Rango)	0,52 ± 0,15 (0 - 1,50)	15,31 ± 2,16 (4,60 - 25,30)	1,65 ± 0,34 (0,20 - 3,60)	15,23 ± 1,66 (4,10 - 23)	14,36 ± 3,34 (3,40 - 28,10)	0,35 ± 0,19 (0 - 1,90)	0,08 ± 0,04 (0 - 0,40)	0,15 ± 0,06 (0 - 0,60)	0,40 ± 0,10 (0,20 - 1,20)	0,90 ± 0,34 (0 - 3,20)	2,97 ± 0,66 (0,50 - 7,50)	51,92 ± 4,06 (26,60 - 66,50)
Ucha Ucha	Media ± ES (Rango)	0,53 ± 0,15 (0 - 1,40)	12,65 ± 1,26 (6 - 18,90)	3,03 ± 0,56 (0,70 - 5,10)	6,16 ± 1,01 (2,10 - 12,50)	10,34 ± 1,98 (3,40 - 19,70)	0,03 ± 0,03 (0 - 0,30)	0,01 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,02 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,33 ± 0,14 (0 - 1,40)	6,80 ± 2,07 (0,60 - 22,70)	4,44 ± 0,75 (0 - 9)	44,34 ± 2,27 (29,40 - 53,60)
Hichocollo	Media ± ES (Rango)	0,47 ± 0,11 (0,20 - 1,30)	14,40 ± 1,17 (8 - 19,60)	4,32 ± 0,55 (1,40 - 7,10)	8,05 ± 2,75 (2,40 - 30,80)	10,93 ± 1,87 (5,80 - 24,60)	0,06 ± 0,03 (0 - 0,30)	0,01 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,16 ± 0,04 (0 - 0,40)	0,49 ± 0,11 (0 - 1)	3,17 ± 0,96 (0,20 - 10)	10,39 ± 1,63 (1 - 17,80)	52,45 ± 3,05 (36 - 63,10)
Plan Aeropuerto	Media ± ES (Rango)	0,24 ± 0,06 (0 - 0,50)	5,15 ± 0,94 (1,20 - 10,60)	1,40 ± 0,39 (0,50 - 4,50)	7,20 ± 1,07 (4,10 - 14,60)	17,95 ± 1,62 (8,90 - 24,80)	0	0,03 ± 0,02 (0 - 0,20)	0,20 ± 0,09 (0 - 0,90)	0,35 ± 0,07 (0 - 0,70)	1,17 ± 0,65 (0 - 6,90)	36,56 ± 3,08 (18 - 51,50)	70,25 ± 2,19 (58,80 - 79,60)
Nubepampa	Media ± ES (Rango)	0,17 ± 0,03 (0 - 0,30)	1,27 ± 0,19 (0,60 - 2,10)	0,53 ± 0,11 (0,20 - 1,20)	3,84 ± 0,48 (2,10 - 6,70)	32,83 ± 3,40 (21,30 - 57,40)	0,01 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,02 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,05 ± 0,03 (0 - 0,20)	0,28 ± 0,06 (0 - 0,50)	3,56 ± 1,06 (0,60 - 9,40)	27,28 ± 4,32 (7 - 49,80)	69,84 ± 2,91 (53,80 - 81,60)
Huacochani	Media ± ES (Rango)	0,1 ± 0,04 (0 - 0,40)	2,92 ± 0,37 (0,30 - 4,40)	1,19 ± 0,18 (0,60 - 2,30)	4,38 ± 0,72 (2,10 - 8,10)	31,29 ± 1,98 (20 - 38,10)	0,02 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,02 ± 0,02 (0 - 0,20)	0,06 ± 0,02 (0 - 0,20)	0,41 ± 0,08 (0,10 - 0,80)	4,86 ± 1,45 (0,60 - 13,10)	15,68 ± 1,82 (10,60 - 30,60)	60,93 ± 2,91 (48,60 - 75,20)
Chari	Media ± ES (Rango)	0,68 ± 0,20 (0,10 - 1,80)	14,83 ± 1,56 (8,30 - 22,70)	2,47 ± 0,37 (1,10 - 4,50)	12,13 ± 1,12 (8,20 - 20,40)	5,38 ± 0,56 (2,70 - 8,80)	0,69 ± 0,31 (0 - 2,50)	0,07 ± 0,03 (0 - 0,20)	0,18 ± 0,06 (0 - 0,50)	0,29 ± 0,072 (0 - 0,60)	1,20 ± 0,50 (0 - 3,80)	2,88 ± 0,74 (0,50 - 4,60)	40,80 ± 3,21 (27,30 - 54,50)
Ayllu Cololo	Media ± ES (Rango)	0,44 ± 0,12 (0 - 1,30)	3,74 ± 0,58 (1,20 - 5,90)	0,97 ± 0,25 (0 - 2,10)	9,43 ± 1,52 (1,20 - 17,10)	19,61 ± 2,76 (8,90 - 31,20)	0,04 ± 0,02 (0 - 0,20)	0,11 ± 0,05 (0 - 0,50)	0,22 ± 0,06 (0 - 0,70)	0,54 ± 0,17 (0,10 - 1,60)	1,46 ± 0,48 (0 - 4,50)	37,21 ± 7,46 (8,90 - 69,30)	73,77 ± 4,79 (45,10 - 93,80)
Hilo Hilo	Media ± ES (Rango)	1,74 ± 0,61 (0 - 5,10)	11,79 ± 1,49 (5 - 20)	2,99 ± 0,47 (0,90 - 5,90)	15,86 ± 1,36 (5,60 - 20)	8,75 ± 1,35 (1,90 - 15,90)	0,44 ± 0,16 (0 - 1,40)	0,04 ± 0,02 (0 - 0,20)	0,11 ± 0,03 (0 - 0,30)	0,46 ± 0,12 (0,10 - 1,10)	2,77 ± 0,66 (0,20 - 6,90)	17,24 ± 4,40 (4,10 - 51,10)	62,19 ± 3,65 (39,80 - 83,90)
Apacheta	Media ± ES (Rango)	0,12 ± 0,04 (0 - 0,40)	1,48 ± 0,22 (0,70 - 2,90)	0,66 ± 0,17 (0,10 - 1,80)	3,03 ± 0,43 (1,70 - 6,20)	35,70 ± 3,12 (19,80 - 48,30)	0,02 ± 0,01 (0 - 0,10)	0	0,12 ± 0,05 (0 - 0,50)	0,38 ± 0,10 (0 - 0,90)	2,50 ± 0,52 (0,30 - 5)	15,57 ± 3,57 (1,90 - 37,60)	59,58 ± 2,91 (45,90 - 75,60)
Cañuhuma	Media ± ES (Rango)	0,11 ± 0,04 (0 - 0,30)	2,66 ± 0,38 (1,10 - 4,70)	1,10 ± 0,24 (0,20 - 2,20)	5,18 ± 1,07 (2,10 - 12)	23,67 ± 1,04 (18,70 - 29,90)	0,01 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,02 ± 0,01 (0 - 0,10)	0,08 ± 0,03 (0 - 0,20)	0,40 ± 0,07 (0,20 - 0,80)	9,51 ± 1,12 (5,10 - 16,90)	11,13 ± 1,31 (5,80 - 17,20)	53,87 ± 2,02 (42 - 61,60)
TOTAL		0,51 ± 0,07 (0 - 5,10)	8,20 ± 0,59 (0,30 - 27,20)	1,94 ± 0,15 (0 - 8,90)	8,11 ± 0,49 (1,20 - 30,80)	18,68 ± 1,06 (1,90 - 57,40)	0,18 ± 0,04 (0 - 2,50)	0,04 ± 0,01 (0 - 0,50)	0,12 ± 0,02 (0 - 0,90)	0,43 ± 0,03 (0 - 1,60)	3 ± 0,34 (0 - 22,70)	15,92 ± 1,31 (0 - 69,30)	57,13 ± 1,22 (26,60 - 93,80)

Tabla 14. Resultados de GLM para anomalías nucleares en linfocitos. El mejor modelo que incluye la variable “comunidad”, se muestran los coeficientes del modelo.

	Estimados (β)	ES	Z value	Pr(> z)
Intercepto	6,206	0,0617	100,792	<0,001
Puyo Puyo	0,056	0,085	0,662	0,508
Ulla Ulla	0,046	0,085	0,547	0,584
Ucha Ucha	-0,111	0,085	-1,311	0,19
Hichocollo	0,056	0,085	0,667	0,505
Plan Aeropuerto	0,349	0,084	4,126	<0,001
Nubepampa	0,343	0,084	4,057	<0,001
Huacochani	0,206	0,085	2,438	0,015
Chari	-0,195	0,085	-2,286	0,022
Ayllu Cololo	0,398	0,084	4,707	<0,001
Hilo Hilo	0,227	0,085	2,681	0,007
Apacheta	0,184	0,085	2,173	0,03
Cañuhuma	0,083	0,085	0,982	0,326

Tabla 15. Resultado de la prueba de Tukey entre comunidades para anomalías nucleares en linfocitos. En rojo las comunidades que muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Villa Amarka														
1	Puyo Puyo													
1	1	Ulla Ulla												
0,985	0,715	0,791	Ucha Ucha											
1	1,000	1	0,712	Hichocollo										
<0,01	0,022	0,014	<0,01	0,023	Plan Aeropuerto									
<0,01	0,027	0,019	<0,01	0,024	1	Nubepampa								
0,416	0,837	0,769	<0,01	0,84	0,88	0,909	Huacochani							
0,528	0,114	0,154	0,999	0,112	<0,01	<0,01	<0,01	Chari						
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	1	1	0,492	<0,01	Ayllu Cololo					
0,264	0,682	0,596	<0,01	0,686	0,959	0,972	1	<0,01	0,675	Hilo Hilo				
0,61	0,944	0,907	0,021	0,945	0,727	0,774	1	<0,01	0,306	1	Apacheta			
0,999	1	1	0,475	1	0,064	0,079	0,957	0,043	<0,01	0,88	0,992	Cañuhuma		

En cuanto a los tipos de AN en linfocitos, la anomalía con una frecuencia más alta fue “necrosis” en las comunidades Plan Aeropuerto (36,56%) y Ayllu Cololo (37,21%), seguido de la anomalía “irregular” con una mayor frecuencia en las comunidades Puyo Puyo (22,25%), Nubepampa (32,83%), Huacochani (31,29%), Apacheta (35,70%) y Cañuhuma (23,67%). La anomalía “brote” fue más frecuente en las comunidades Villa Amarka (15,39%), Ulla Ulla (15,31%), Ucha Ucha (12,65%), Hichocollo (14,4%) y Chari (14,83%) (Fig. 16, Tabla 13).

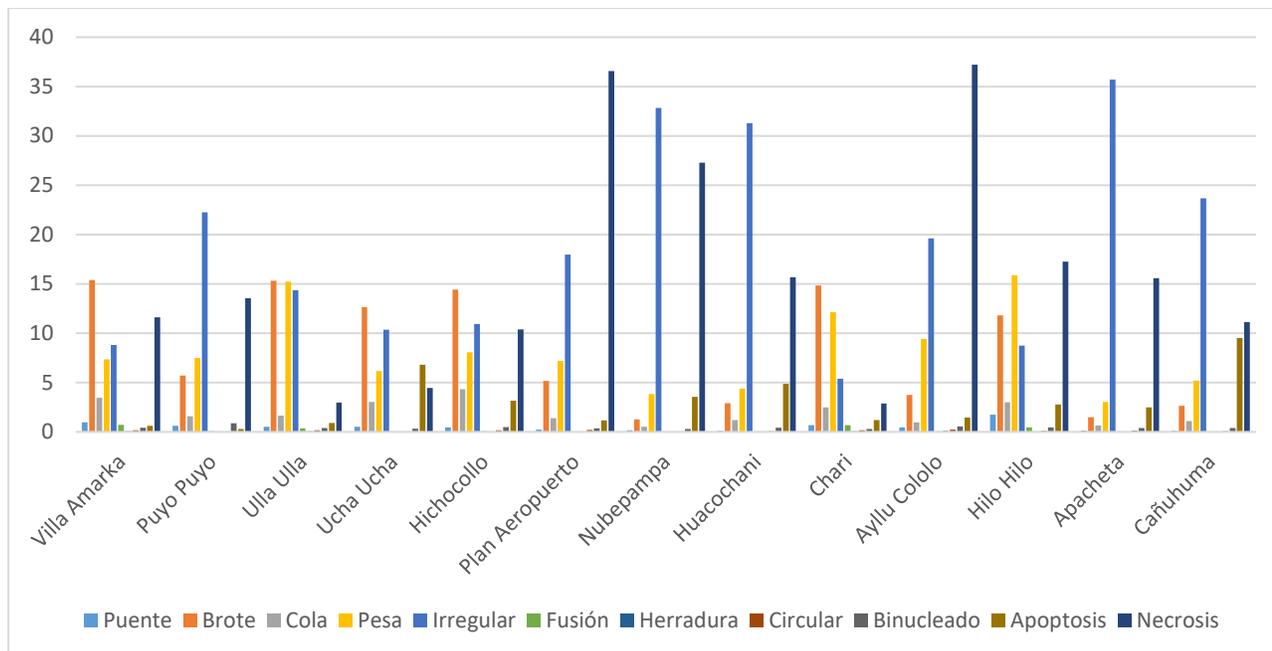


Figura 16. Frecuencia de anomalías nucleares desglosadas en linfocitos entre comunidades.

La frecuencia de MN y AN comparada entre ambos tipos celulares se encuentra en la fig. 17.

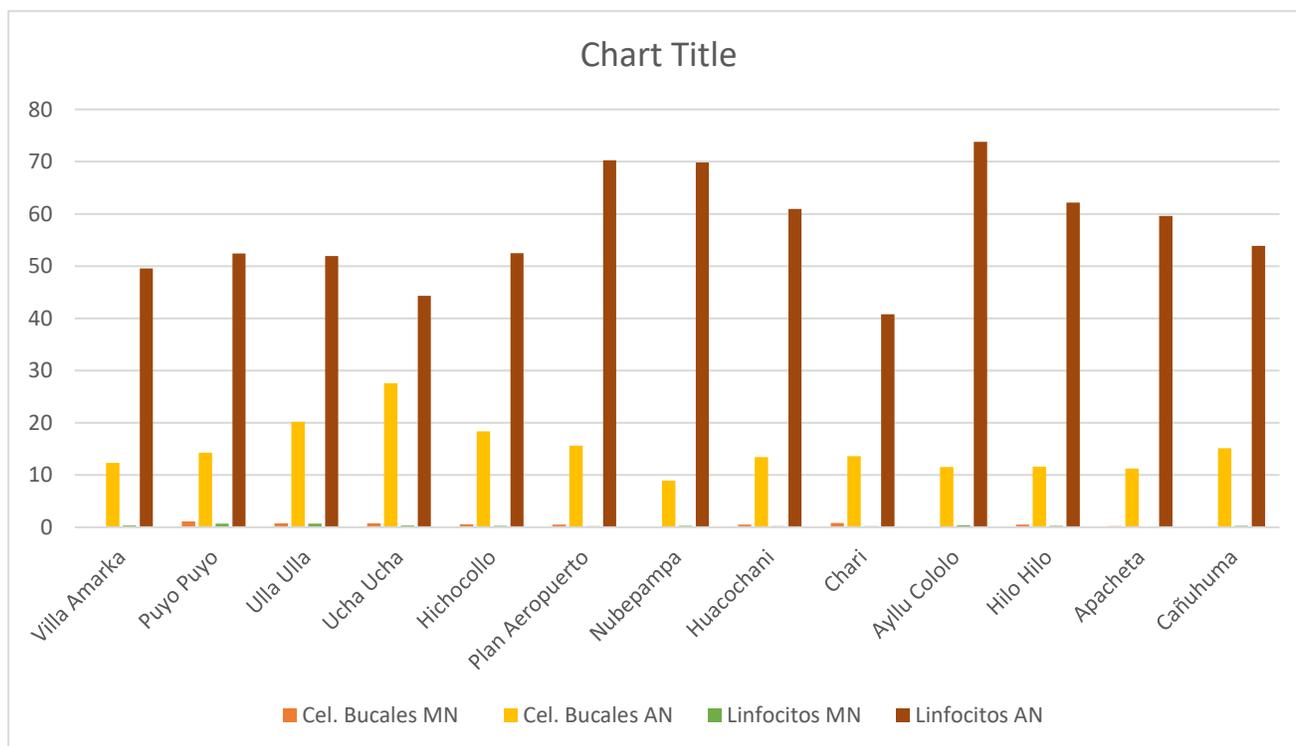


Figura 17. Frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares en células bucales y linfocitos.

3.2.3. Microcuencas

Se obtuvieron dos mapas con los promedios de MN y AN para linfocitos (Fig. 18). Se observa que la microcuenca con mayor afectación para el caso de MN es la microcuenca “Desembocadura del río Suches”, mientras que la menos afectada es la microcuenca “Río Kaka” (Fig. 18a), en cuanto a las AN, la microcuenca con mayor efecto genotóxico es la microcuenca “Río Tuichi” y la menos afectada es la microcuenca “Río Kaka” (Fig. 18b).

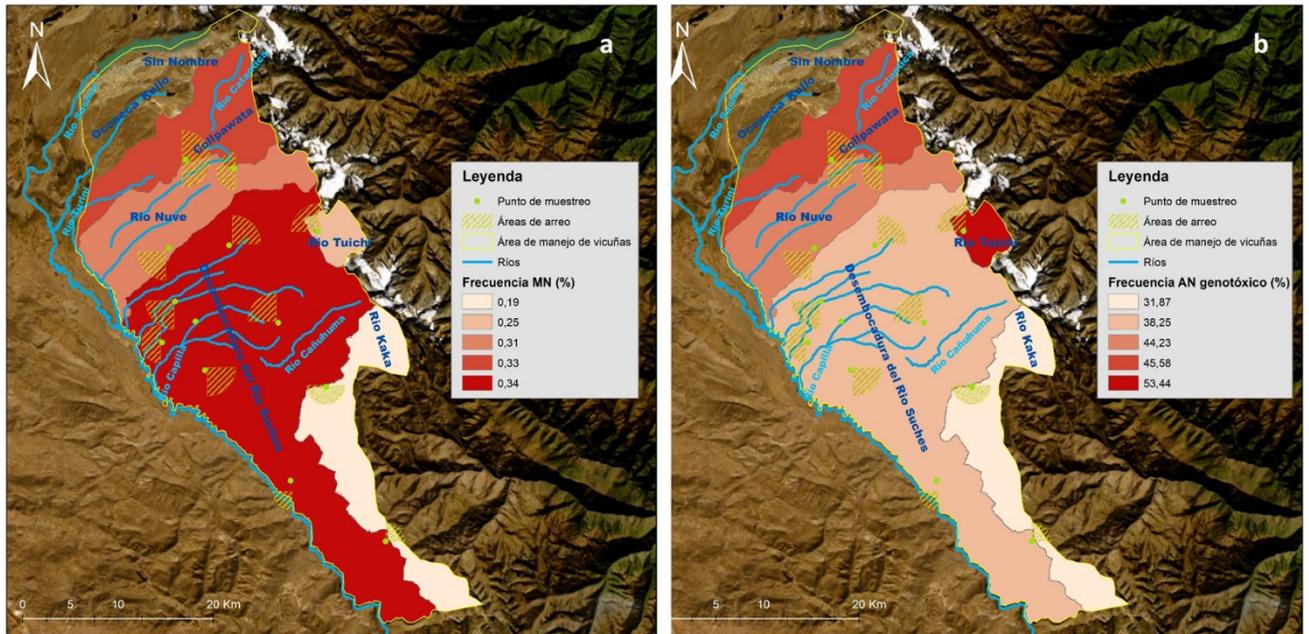


Figura 18. Frecuencia de daño genotóxico en linfocitos de vicuñas por microcuencas. a: Micronúcleos, b: Anomalías nucleares indicadoras de daño genotóxico.

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo representan los primeros datos sobre daño genotóxico de vicuñas, por lo que no se conoce una frecuencia basal de daño genotóxico. Se realizó el test de MN y AN en células bucales y en linfocitos (Nersesyan *et al.* 2022), ya que la diferencia de daño entre ambos puede contribuir a un mejor entendimiento de los efectos potenciales de agentes exógenos en las vicuñas.

Las células bucales son la primera barrera en la inhalación o ingestión de agentes genotóxicos, y son capaces de absorberlos (Holland *et al.* 2008, Díaz *et al.* 2013, Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013), por lo que era posible encontrar mayor daño genotóxico en células bucales, ya que los linfocitos son células del sistema inmunitario que tienen una mayor capacidad de reparación del ADN, por lo que pueden mostrar una menor frecuencia de MN y muestran la persistencia del daño genotóxico (Cedano *et al.* 2012, Torrez-Bugarín

et al. 2018). Esto fue comprobado con lo encontrado en este estudio, ya que se observó una mayor frecuencia de MN en células bucales (0,48%) que en linfocitos (0,32%) (Fig. 17).

Los MN son el biomarcador más relevante y mejor validado de la inestabilidad genómica, y son evidencias de daño en los cromosomas (Fenech *et al.* 2011, 2016). No se cuenta con datos de MN espontáneos en células bucales para otras especies cercanas a las vicuñas, pero se tienen datos de MN espontáneos en humanos cuyos valores basales son 0,03% - 0,17% (Bonassi *et al.* 2011), comparados con estos valores, sólo las comunidades Villa Amarka, Ayllu Cololo, Cañuhuma y Nubepampa están dentro el rango de frecuencia espontánea de MN. Por otro lado, los datos más cercanos disponibles para MN en linfocitos son de Llamas (*Lama glama* y *Lama glama glama*) de zoológicos de México y Brazil, cuyas frecuencias de MN espontáneos son de 0,03% - 0,04% MN (Camacho 1994, Zúñiga *et al.* 1996, Adam *et al.* 2013), que son frecuencias menores a las encontradas en este estudio, la única comunidad con el valor más cercano es Apacheta (0,07%). Este resultado muestra que las vicuñas están expuestas a factores genotóxicos y, aparentemente, esta exposición es persistente e intensa, ya que también se observó que existe una mayor frecuencia de AN en linfocitos (57,13%) que en células bucales (14,92%) (Fig. 17) y las AN muestran que existe un daño al ADN, en cuanto a su tamaño, densidad y distribución de la cromatina (Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013).

En células bucales se observó una alta frecuencia de AN de tipo “alargado” (8,24%), que no estaba descrito anteriormente en células bucales, seguido de una alta frecuencia del tipo “profase” (5,11%), que indica el inicio de la mitosis que puede tener una frecuencia alta en células que están en constante división como son las células bucales, y del tipo “binucleado” (1,02%) que muestra que existen defectos en la citocinesis y en la estabilidad genética (Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, Nersesyan *et al.* 2022).

En linfocitos se observó una alta frecuencia de AN de tipo “irregular” (18,68%), que son benignas y ocurren como una respuesta antigénica o debido a una infección viral (Carr y Rodak 2009), así como del tipo “necrosis” (15,92%) que indica muerte celular en respuesta a la citotoxicidad (Nersesyan *et al.* 2022). Se observaron frecuencias medias del tipo “brote” (8,20%), que indica un proceso de eliminación de material nuclear por gemación por genotoxicidad (Torrez-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013, Nersesyan *et al.* 2022), y del tipo “pesa” (8,11%), que indica división celular a baja temperatura y con escasez de nutrientes, pero también inestabilidad genética (Kravtsov *et al.* 2017). En menor proporción se observaron ANs del tipo “apoptosis” (3%), que es una muerte celular programada pero también puede indicar citotoxicidad (Nersesyan *et al.* 2022), y del tipo “cola” (1,94%), que tiene un origen similar a los MN, por lo que indica quiebres en el ADN (Kravtsov *et al.* 2017). La AN tipo “puente” es indicadora de daño citogenético, y los tipos “fusión”, “herradura” y “circular” son AN complejas ya que pueden originarse a partir de múltiples AN tipo “puente” (Fenech *et al.* 2016, Tian *et al.* 2016), pero se observaron bajas frecuencias de estas AN en todos los casos.

Ambos biomarcadores usados en este trabajo además de reflejar daños en el ADN, pueden indicar disfunción celular y representan un marcador de enfermedades crónicas en estado inicial (Sánchez 2022). Se estudió dos tipos de células somáticas, lo que implica que el daño en el ADN puede llegar a ser maligno o cancerígeno (Fenech *et al.* 2011, Saks 2017). Sin embargo, ya que no se tiene datos de la frecuencia de daño basal en vicuñas, ni de las enfermedades que podrían presentarse, no conocemos en qué punto de riesgo de enfermedades se encuentran las vicuñas actualmente.

La aparición de MN y AN se ha estudiado ampliamente en humanos para conocer efectos de contaminación ambiental, estilos de vida, nutrición, efectos de la radiación, riesgos ocupacionales, etc. y su relación con la aparición de enfermedades y riesgo de cáncer (Nersesyan *et al.* 2022). En otras especies de flora y fauna se han estudiado para conocer efectos de la contaminación y detección de agentes genotóxicos (Steinkellner *et al.* 1998, Fox 2001, Regoli *et al.* 2006, Calao-Ramos *et al.* 2021, Di Ianni *et al.* 2022). En la zona de estudio las actividades económicas incluyen la ganadería, con la cría de camélidos domésticos (alpacas principalmente y llamas en menor medida) y en menor proporción ovinos, la piscicultura y, principalmente, la minería aurífera (MMAyA-SERNAP 2016). En este sentido, el mayor riesgo al que están expuestas las vicuñas es a la que genera mayores desechos y contaminantes, como es la minería, que han provocado niveles altos de contaminación por mercurio en el ANMIN Apolobamba (Acosta *et al.* 2011), y es un riesgo en aumento ya que las operaciones activas legales e ilegales están incrementándose continuamente (SERNAP 2011, 2018).

La minería de la zona es en su mayoría de tipo aluvial, a cielo abierto con uso de maquinaria pesada, remoción de considerables volúmenes de tierra y llevada a cabo por cooperativas locales que extraen oro por amalgamación con mercurio (Acosta *et al.* 2011, MMAyA-SERNAP 2016, Salinas 2021) por lo que sus desechos contienen mercurio. El mercurio es un agente con potencial genotóxico incluso mayor que otros metales como el cobre y el cadmio, que puede provocar roturas en el ADN (Bolognesi *et al.* 1999, Sánchez 2022), lo que se ha observado anteriormente en células branquiales de los peces, en las que se encontró una mayor frecuencia de MN ante la exposición al mercurio (Bolognesi *et al.* 1999). Ya se ha encontrado mercurio en plantas del sector (Acosta *et al.* 2011) y en las vicuñas, en las que se encontraron niveles de mercurio total (THg) entre 0,10 µg/l y 0,15 µg/l (Beltrán-Saavedra *et al.* 2020). Aunque no se conocen los límites permisibles de mercurio en vicuñas, este nivel se encuentra debajo de los límites permisibles para humanos según la OMS (10 µg/l) (Ramírez 2008).

Los resultados muestran en las comunidades un gradiente de la frecuencia de MN en células bucales que concuerda con la actividad minera en la zona de conservación de vicuñas: Se conoce que Puyo Puyo es uno de tres distritos mineros principales (Salinas 2021) y se observó que esta es la comunidad con mayor frecuencia de MN en células bucales (1,11%). Ulla Ulla, Ucha Ucha, Plan Aeropuerto, Huacochani, Hichocollo y Chari

son comunidades dentro de la misma microcuenca “Desembocadura del río Suches” y presentan frecuencias altas - medias de micronúcleos (Fig. 10), esto se explica por el curso de las aguas, ya que Puyo Puyo se encuentra en la parte alta de esta microcuenca y sus aguas llegan hacia las comunidades que se encuentran en la parte baja (Fig. 3). Además, los puntos de muestreo Ulla Ulla, Ucha Ucha y Chari se encuentran cercanos al río Suches, por lo que estarían siendo afectados de manera acumulativa por la contaminación que baja de Puyo Puyo y la que llega al río Suches desde todos los ríos de la cuenca Suches (Coila *et al.* 2010). Adicionalmente, Chari es una comunidad que se encuentra alejada de los distritos mineros, sin embargo, es la segunda comunidad con mayor frecuencia de MN en células bucales (0,84%), es posible que se deba a que además de los factores ya mencionados, se suma un posible uso de pesticidas, ya que en la zona hay agricultura. Este resultado es similar a lo observado respecto a la contaminación por mercurio pueblos indígenas de la cuenca del río Beni, donde se observó que los mayores impactos por contaminación por mercurio ocurren en la parte baja de la cuenca del río Beni, donde no existe actividad minera o ésta es muy baja (CPILAP 2023).

Por otro lado, Hilo Hilo y Cañuhuma se encuentran dentro de la misma microcuenca “Desembocadura del río Suches” sin embargo, ambas comunidades son de zonas altas; Hilo Hilo presenta una frecuencia media de MN ya que la zona tiene actividad minera (Salinas 2021). Por otro lado, Cañuhuma es una excepción dentro de esta microcuenca, ya que no presenta actividad minera y la frecuencia de MN para vicuñas del sector es baja (0,15%). Las microcuencas “Collpawata” y “Río Kaka” son las que menor frecuencia de micronúcleos presentan, ya que los puntos de muestreo están alejados de centros mineros, como es el caso de Apacheta y Villa Amarka, o se encuentran en la parte superior de la cuenca como es el caso de Nubepampa y Ayllu Cololo (Fig. 2, 3). La microcuenca del “Río Nuve” presenta una frecuencia de MN intermedia puesto que incluye dos puntos de muestreo de frecuencia baja de MN (Nubepampa y Ayllu Cololo) y uno de frecuencia media (Hichocollo), esta última que también es parte de la microcuenca “Desembocadura del río Suches” que presenta una frecuencia alta de MN.

La frecuencia de MN en linfocitos coincide con lo descrito anteriormente para la microcuenca “Río Kaka” que es la de menor frecuencia de MN (Fig. 18), y puede ser explicada por las razones mencionadas para MN de células bucales. La frecuencia de MN de linfocitos de la microcuenca “Desembocadura del río Suches” es de igual manera la más alta de la cuenca, sin embargo, no es muy diferente de las frecuencias de las microcuencas “Collpawata” y “Río Nuve”, esto posiblemente se deba a que, en linfocitos las frecuencias de Huacochani y Plan Aeropuerto son bajas (0,21% y 0,18% respectivamente), esto posiblemente a se encuentran aguas abajo de Puyo Puyo, pero alejadas del río Suches por lo que el efecto genotóxico sería superficial y no persistente, como en las demás comunidades del sector. Es importante resaltar las frecuencias de MN en linfocitos de Puyo Puyo y Ulla Ulla, que son las más altas (Fig. 12), mostrando que el efecto genotóxico es tanto superficial como persistente en las vicuñas de estos sectores.

En cuanto a la frecuencia de AN para células bucales, ésta concuerda con lo descrito anteriormente para MN, aunque la microcuenca del “Río Kaka” se encuentra en un nivel

intermedio, éste no está muy alejado de la frecuencia más baja que muestra la microcuenca “Collpawata”, de manera general, las comunidades por separado muestran un gradiente que no concuerda con la actividad minera en la zona (Fig 2, 8), pero viendo cada daño desglosado, como se mencionó anteriormente en células bucales la principal AN fue la “alargada” seguida del tipo “profase”, no se había descrito anteriormente el tipo “alargada”, el tipo profase no indica daño genotóxico, pero si el tipo “binucleado”, que fue más frecuente en la comunidad Puyo Puyo (1,77%), seguido por Ulla Ulla (1,51%) y Ucha Ucha (1,44%) (Fig. 9), similar a lo que ocurre en la frecuencia de MN y puede ser explicado por los mismos factores que éstos.

En linfocitos, la frecuencia de AN no concuerda con lo mencionado anteriormente para la frecuencia de MN por microcuencas, pero viendo los AN desglosados, la principal AN fue “irregular”, que no se ha descrito como respuesta genotóxica, seguida del tipo “necrosis” que tiene relación con daño genotóxico y que es más frecuente en la comunidad Plan Aeropuerto (36,56%), seguido por Ayllu Cololo (37,21%) y Nubepampa (27,28%), todas son comunidades con una frecuencia de MN media-baja, y si bien no están expuestas directamente a los efectos de la minería, el aumento en esta actividad en zonas aledañas (Fig. 2) y su ubicación en la microcuenca podría estar provocando este tipo de anomalías. Adicionalmente, las AN “brote” y “pesa” también indican genotoxicidad y mostraron una frecuencia media, que para “brote” fue mayor en las comunidades Villa Amarka (15,39%), Ulla Ulla (15,31%) y Chari (14,83%), y para “pesa” fue mayor en las comunidades Hilo Hilo (15,86%), Ulla Ulla (15,23%) y Chari (12,13%). Como se mencionó anteriormente, Villa Amarka es una comunidad alejada de los distritos mineros, sin embargo, aparentemente hay una amenaza desconocida cuyas repercusiones se están empezando a notar, posiblemente relacionada a la agricultura de la zona. En cuanto a las otras comunidades, este tipo de AN podría sumarse a los MN que muestran un fuerte efecto genotóxico posiblemente asociado a la minería de la zona.

Cabe destacar que la variabilidad de frecuencias de MN y AN no puede explicarse completamente sólo por un factor de confusión conocido (Bolognesi *et al.* 2019), por lo que a pesar de que el daño genotóxico encontrado concuerda con la actividad minera de la zona, es posible que no sea la única causa de este daño, ya que las vicuñas como otras especies, están expuestas en realidad a mezclas de sustancias químicas ambientales (Fox 2001). Estas sustancias pueden provenir de otras fuentes como la agricultura, aunque este tipo de actividad no existe en el área de manejo de las vicuñas (MMAyA- SERNAP 2016), salvo en la comunidad Chari. También se ha encontrado en la zona que existen trazas de microplásticos (MPs) y contaminantes orgánicos persistentes (COPs), que pueden tener efectos genotóxicos sobre las vicuñas (León 2023).

Estos resultados son preocupantes, especialmente considerando que la vicuña es una especie emblemática y endémica de la región andina, además de tener importancia económica para las comunidades locales que aprovechan su fibra, por lo que su conservación es de gran

importancia para la biodiversidad y el patrimonio natural de la zona (Acebes *et al.* 2018, MMAyA 2012, Baldo *et al.* 2013, Risco-Castillo *et al.* 2014 Mata *et al.* 2016, Grigione *et al.* 2018), ya que la exposición a sustancias tóxicas puede afectar a diferentes niveles y pueden repercutir en la supervivencia a largo plazo de las poblaciones de fauna silvestre (Fox 2001, Gonzáles-Mile *et al.* 2019). Además, hay que considerar que cualquier efecto que se vea en vicuñas es muy probable que exista de manera similar en otras especies, incluido el humano (Fox 2001).

Por lo tanto, es necesario implementar medidas de control y regulación para minimizar los efectos negativos de la actividad minera en estas áreas y promover prácticas más sostenibles y responsables, además de implementar un monitoreo genotóxico de las vicuñas ya que pueden usarse como biomonitores de la contaminación ambiental y funcionar como centinelas, pues están expuestas *in situ* y tienen sensibilidad al daño (Fox 2001, Regoli *et al.* 2006, Gonzáles-Mile *et al.* 2019).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se ha encontrado frecuencias de daño en el ADN de vicuñas tanto de micronúcleos como de anomalías nucleares, en ambos tipos celulares, los que reflejan una exposición a factores genotóxicos persistente e intensa.
- Los resultados de este estudio sugieren que existe una posible relación entre la actividad minera y el daño genotóxico en las células de las vicuñas en las comunidades estudiadas. Estos resultados son preocupantes y requieren de una mayor investigación, medidas de control y regulación para minimizar los efectos negativos de la actividad minera en el medio ambiente y la salud de las comunidades. Sin embargo, a pesar de que el daño genotóxico encontrado concuerda con la actividad minera de la zona, es posible que no sea la única causa de este daño, ya que las vicuñas están expuestas en realidad a mezclas de sustancias químicas ambientales que pueden incluir agroquímicos, microplásticos (MPs), contaminantes orgánicos persistentes (COPs), entre otros.
- Se recomienda complementar este estudio con un análisis de mercurio en sedimentos, aguas y pastizales, para conocer posibles vías de ingesta de mercurio en vicuñas.
- Las frecuencias de MN y AN encontrados en vicuñas es muy probable que sucedan de manera similar en otras especies, incluido el humano. Considerando que las vicuñas son capturadas constantemente para su esquila, se sugiere usar a la vicuña como bioindicador de daño genotóxico.
- Se sugiere considerar los datos de las comunidades Apacheta y Villa Amarka como un nivel de daño basal, ya que se encuentran más alejadas de los distritos mineros, por lo que no estarían expuestas a sus efectos genotóxicos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Acebes, P., J. Wheeler, J. Baldo, P. Tuppia, G. Lichtenstein, D. Hoces & W.L. Franklin. 2018. *Vicugna vicugna* (errata version published in 2019). The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T22956A145360542. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22956A145360542.en>.
- Acosta, J. A., S. Martínez-Martínez, A. Faz, R. Millán, M.A. Munoz, T. Terán & R. Vera. 2011. Characterization of the potential mercury contamination in the Apolobamba gold mining área, Bolivia. Spanish journal of soil science 1(1): 86-99.
- Adam, M.L., R.A. Torres, M. Kiska, F. Ferraz, O. Lacerda, G. Sponchiado, C.M. Oliveira & M.T. dos Santos. 2013. Assessment of genome damage in bird and mammal species as a tool for improvements in *ex-situ* conservation at zoos. Natureza & Conservação, 11(1): 59-64.
- Asociación Regional de Comunidades Manejadores de Vicuña Apolobamba (ARCMV-ANMIN APOLOBAMBA). 2022. Instrumento técnico operativo para orientar el manejo y aprovechamiento de la vicuña en las comunidades de la Asociación Regional de Comunidades Manejadoras de Vicuñas Apolobamba. La Paz. 72 p.
- Baldo, J., Y. Arzamendia & B. Vilá. 2013. La vicuña: Manual para su conservación y uso sustentable. 1a edición. CONICET - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Buenos Aires. 78 p.
- Beltrán-Saavedra, L.F., O. Loayza, M. Salinas, V. Albarracín, J. Chincheros-Paniagua, J.L. Mollericon, S.J. Rivera & R. Wallace. 2020. Mercurio total (THg) en vicuñas (*Vicugna vicugna*) en áreas mineras del noroeste del departamento de La Paz, Bolivia. Mastozoología Neotropical 27(1):177-181.
- Bocángel J., D. 2007. La gestión ambiental minera en Bolivia. Revista virtual REDESMA.
- Bolognesi, C., E. Landini, P. Roggieri, R. Fabbri A. & Viarengo. 1999. Genotoxicity biomarkers in the assessment of heavy metal effects in mussels: Experimental studies. Environmental and Molecular Mutagenesis 33(4): 287–292.
- Bolognesi, C., L. Bonelli, A. Compalati, V. Ferla, L. Stagnaro, G. Ubezio & P. Bruzzi. 2019. “Normal values” for the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome parameters: Repeatability and reproducibility in a healthy reference population. Science of The Total Environment 652: 513–522.

- Bonassi, S., E. Coskun, M. Ceppi, C. Lando, C. Bolognesi, S. Burgaz ... & M. Fenech. (2011). The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 728(3): 88–97.
- Calao, C.R. & J.L. Marrugo. 2015. Efectos genotóxicos en población humana asociados a metales pesados en la región de La Mojana, Colombia, 2013. *Biomédica*, 35(2):139-151.
- Calao-Ramos, C., D. Gaviria-Angulo, J. Marrugo-Negrete, A. Calderón-Rangel, C. Guzmán-Terán, C. Martínez-Bravo & S. Mattar. 2021. Bats are an excellent sentinel model for the detection of genotoxic agents. Study in a Colombian Caribbean region. *Acta Tropica* 224:106141.
- Camacho, J.A. 1994. Micronúcleos en diferentes especies de mamíferos. Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Universidad de Guadalajara. Jalisco. 59 p.
- Carr, J.H & B. Rodak. 2009. Atlas de hematología clínica. Editorial Médica Panamericana. 266p.
- Castillo A., D. 2009. Distribución e impacto de los beneficios de la fibra de vicuña. Trabajo dirigido. Carrera de Ciencias Económicas. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia.
- Cedano, D.A., S. Martínez, F. Escalera, S. Salgado, F. Carrillo, H. Macías & B. Peña. 2012. La prueba de micronúcleos en sangre como bioindicador de genotóxicos. *Abanico veterinario* 2(2): 43-54.
- Coila, Y.A., F. Huisa, E. Quispe, O. Almendras, H. Bustillo & G. Salamanca. 2010. Actualización del inventario y situación técnico - legal de los derechos y operaciones mineras de la cuenca binacional del río Suches (Perú - Bolivia). Informe de la Comisión Binacional de Minería. 75 p.
- CPI LAP. 2023. Contaminación por mercurio en comunidades indígenas asentadas en los ríos Madre de Dios y Beni: Una alerta a la salud pública y derechos de los pueblos indígenas frente a la minería de oro en Bolivia. Nota técnica. La Paz. 14 p.
- Crawley, M.J. 2005. GLMs: Generalized Linear Models. In: *Statistics: An introduction using R*. Sussex:Wiley. 113–118p.
- Di Ianni, E., N.R. Jacobsen, U.B. Vogel & P. Møller. 2022. Systematic review on primary and secondary genotoxicity of carbon black nanoparticles in mammalian cells and animals. *Mutation research-Reviews in mutation research* 790:108441.

- Díaz, A., F. Mora & A. Herrera. 2013. Presencia de micronúcleos en células epiteliales de encías, como marcador de inestabilidad cromosomal. Revisión sistemática. *Avances en Odontoestomatología* 29(2).
- Drumond, D.I., D.M. Cesar, D. de Oliveira & S.T. Matsumoto. 2012. A qualida de da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) emrelação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo empeixes da espécie *Oreochromis niloticus*. *Brazilian Journal of Biosciences* 10(2): 211-219.
- Enríquez, J.C. 2001. *Minería, Minerales y Desarrollo Sustentable en Bolivia*. La Paz. Bolivia: Servicios Ambientales.
- Fenech, M., S. Knasmueller, C. Bolognesi, S. Bonassi, N. Holland, L. Migliore, F. Palitti, A.T. Natarajan & M. Kirsch-Volders. 2016. Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research* 770: 12–25.
- Fenech, M., M. Kirsch-Volders, A.T. Natarajan, J. Surralles, J.W. Crott, J. Parry, H. Norpps, D.A. Eastmod, J.D. Tucker & P. Thomas. 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis* 26(1): 125–132.
- Ferraro, M.V.M., A.S. Fenocchio, M.S. Mantovani, C. Ribeiro & M.M. Cestari. 2004. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as 37 evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. *Genetics and Molecular Biology* 27(1): 103-107.
- Fox, G.A. 2001. Wildlife as sentinels of human health effects in the Great Lakes-St. Lawrence basin. *Environmental health perspectives* 109(6):853-61.
- Garcia, B., F. Rubio & M.R. Crespo. 2015. *Técnicas de análisis hematológico*. Ediciones Paraninfo. Madrid.
- George, A., R. Dey, V. Bhuria, S. Banerjee, S. Ethirajan, A. Siluvaimuthu & R. Saraswathy. 2014. Nuclear anomalies, chromosomal aberrations and proliferation rates in cultured lymphocytes of head and neck cancer patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(3):1119-1123.
- González-Mille, D. J., C.A. Ilizaliturri-Hernández, G. Espinosa-Reyes, O. Cruz-Santiago, M.D.C. Cuevas-Díaz, C.C. Martín Del Campo & R. Flores-Ramírez. 2019. DNA damage in different wildlife species exposed to persistent organic pollutants (POPs)

from the delta of the Coatzacoalcos river, Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 180: 403–411.

- Grigione, M., L.F. Daugherty, R. List, J. Rushton & R. Sarno. 2018. The sustainability of vicuña conservation in Bolivia. pp. 183-205. En: Brinkmann, R. & S.J. Garren (eds.) *The Palgrave Handbook of Sustainability*. Palgrave Macmillan, Cham.
- Holland, N., C. Bolognesi, M. Krisch-Volders, S. Bonassi, E. Zeiger, S. Knasmueller & M. Fenech. 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research* 659: 93-108.
- Karandikar, H., E. Donadio, J.A. Smith, O.R. Bidder & A.D. Middleton. 2023. Spatial ecology of the Vicuña (*Lama vicugna*) in a high Andean protected area. *Journal of Mammalogy* 104(3): 509-518.
- Kravtsov, V., A. Livanova & Y. Starkova. 2017. Nuclear Abnormalities of Lymphocytes as the Simplest Markers for Bioindication Test in Case of Mass Casualty Events Involving Radiation Exposure. *Emergency medicine* 7: 356.
- León, B.H. 2023. Evaluación de microplásticos en los glaciares de montaña de la Rinconada - departamento de Puno, 2021. Tesis para obtener el título profesional de ingeniero ambiental. Universidad Privada San Carlos. Puno. 119 p.
- Lichtenstein, G. 2006. Manejo de vicuñas en cautiverio: El modelo de criaderos del CEA INTA (Argentina). pp. 1-14. Vilá, B. (ed.). En: *Investigación, Conservación y Manejo de Vicuñas*. Proyecto MACS. Buenos Aires.
- Lloyd, M.V., G. Barnett, M.D. Doherty, R.A. Jeffree, J. John, J.D. Majer, J.M. Osborne & O.G. Nichols. 2002. Managing the impacts of the Australian minerals industry on biodiversity. Australian Centre for Mining Environmental Research.
- Mata, C., J.E. Malo, J.L. Galaz, C. Cadorzo & H. Lagunas. 2016. A three-step approach to minimise the impact of a mining site on vicuña (*Vicugna vicugna*) and to restore landscape connectivity. *Environmental Science and Pollution Research* 23(14): 13626–13636.
- MMAyA. 2009. Libro rojo de la fauna silvestre de vertebrados de Bolivia. Ministerio de Medio Ambiente y Agua, La Paz. 571 p.
- MMAyA. 2012. Estrategia del Programa Nacional para la Conservación y Manejo Sustentable de la Vicuña. Artes Gráficas Carrasco. La Paz. 63 p.

- MMAyA- SERNAP. 2016. Plan de manejo, Área Natural de Manejo Integrado Nacional. Apolobamba 2016 – 2025: Parte I Diagnóstico y Caracterización. Centro de Estudios y Proyectos.
- Nersesyan, A., M. Kundi, M. Fenech, H. Stopper, J. da Silva, C. Bolognesi, M. Mišík, S. Knasmueller. 2022. Recommendations and quality criteria for micronucleus studies with humans. *Mutation research - Reviews in mutation research* 789.
- Noriega, B.R., E. Armienta, M.G. Chávez, E. Cervantes, L.E. Ojeda & I.Y. Quevedo. 2005. Valoración de genotoxicidad con determinación de micronúcleos en ratones expuestos a metamidofos. *Boletín médico de la Facultad de Medicina UAS* 8(1): 13-17.
- Ramírez, A.V. 2008. Intoxicación ocupacional por mercurio. *Anales de la Facultad de Medicina* 69(1): 46-51.
- Regoli, F., S. Gorbi, D. Fattorini, S. Tedesco, A. Notti, N. Machella & F. Piva. 2006. Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental Health Perspectives* 114(1): 63-69.
- Risco-Castillo, V., J. Collins, R. Rosadio, F.J. García-Peña, I. Arnaiz-Seco, D. Hoces, H. Castillo, A. Veliz & L.M. Ortega-Mora. 2014. Health impact evaluation of alternative management systems in vicuña (*Vicugna vicugna mensalis*) populations in Peru. *Tropical Animal Health and Production* 46(4): 641–646.
- Rodríguez L., F., G. Guzmán, B. de Marchi & D. Escalante. 2020. Efectos de la minería en el desarrollo económico, social y ambiental del Estado Plurinacional de Bolivia. Documentos de Proyectos, Santiago, Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL).
- Saks, M., S. Upreti, R. SV & R. Dang. 2017. Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods. *Global journal of pharmacy & pharmaceutical science* 1(5): 1-6.
- Salinas, M. 2021. Áreas clave de fuentes de agua, bofedales y pastizales para las poblaciones de vicuñas, afectadas por actividades mineras auríferas en el ANMIN Apolobamba. Proyecto “Biodiversity conservation, vicuña health and local livelihoods in Apolobamba, Bolivia” WCS - Bolivia.
- Sánchez, J. 2022. Genotoxicidad por exposición a mercurio en profesionales del sector salud. Tesis para obtener el grado de doctorado. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca. 88p.

- SERNAP 2011. Informe final de la implementación del programa de minería integral y plan de acción ambiental, ANMIN Apolobamba. Servicio Nacional de Áreas Protegidas, Wildlife Conservation Society.
- SERNAP. 2018. Diagnóstico Ambiental: Actividades, Obras y/o Proyectos ANMIN Apolobamba. Servicio Nacional de Áreas Protegidas.
- SERNAP - ANMI Apolobamba. 2008. Actualización del plan de manejo ANMI Apolobamba. Servicio Nacional de Áreas Protegidas, Área natural de Manejo integrado Nacional Apolobamba, La Paz. 159 p.
- Sonter, L.J., S.H. Ali & J.E.M. Watson. 2018. Mining and biodiversity: key issues and research need in conservation science. *Proceedings Royal Society B*.
- Steinkellner, H., K. Mun-Sik, C. Helma, S. Ecker, T.H. Ma, O. Horak, M. Kundi & S. Knasmüller. 1998. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. *Environmental and molecular mutagenesis* 31(2):183-91.
- Tian, X.-L., H. Zhao, T.-J. Cai, X. Lu, D.-Q. Chen, S. Li & Q.-J. Liu. 2016. Dose–effect relationships of nucleoplasmic bridges and complex nuclear anomalies in human peripheral lymphocytes exposed to ^{60}Co γ -rays at a relatively low dose. *Mutagenesis* 31(4): 425–431.
- Torrez-Bugarín, O. & M.L. Ramos-Ibarra. 2013. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *International Journal of Morphology* 31(2):650-657.
- Torrez-Bugarín, O., C.S. Carrillo & J.A. Armijo. 2018. Evaluación de genotóxicos ambientales mediante la prueba de micronúcleos en sangre periférica. *Ecología y salud* 59.
- UNEP-WCMC (Comps.) 2021. Checklist of CITES species. CITES Secretariat, Geneva, Switzerland and UNEP-WCMC, Cambridge, United Kingdom.
- Vilá, B. 1995. Spacing patterns within groups in vicuñas, in relation to sex and behaviour. *Studies on neotropical fauna and environment* 30(1): 45-51.
- Vilá, B. 1999. La importancia de la etología en la conservación y manejo de las vicuñas. *Etología* 7: 63-68.
- Vilá, B. 2000. Comportamiento y organización social de la vicuña. pp. 175-191. En: González, B., F. Bas, C. Tala & A. Iriarte (eds.) *Manejo sustentable de la vicuña y el*

guanaco. Servicio Agrícola y Ganadero. Pontificia Universidad Católica de Chile. Fundación para la Innovación Agraria, Santiago.

- Vilá, B. 2012. Camélidos Sudamericanos. Eudeba. Buenos Aires- Argentina. 176 p.
- Villalba, M.L., E. Cuellar, & T. Tarifa. 2010. Camelidae. Distribución, Ecología y Conservación de los mamíferos medianos y grandes de Bolivia (R.B. Wallace, H. Gómez, Z. Porcel & D. Rumiz, eds.). Editorial: Centro de Ecología Difusión Simon I. Patiño, Santa Cruz de la Sierra.
- Wheeler, J., L. Chikhi & M.W. Bruford. 2006. Genetic analysis of the origins of domestic South American camelids. The domestication of South American camelids: a view from the South- Central. *Diversidad genética y estructura poblacional de vicuñas en Bolivia* 86 Andes. pp. 229–341. En: Zeder, M.A. (ed.) Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. University of California Press: Berkeley.
- Zalacain, M., L. Sierrasesúmaga & A. Patiño. 2005. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del sistema sanitario de Navarra* 28(2): 227-236.
- Zúñiga, G., O. Torres-Bugarín, M.P. Ramírez-Muñoz, A. Ramos, E. Fanti-Rodríguez, E. Portilla, D. García-Martínez, J.M. Cantú, M.P. Gallegos-Arreola & J. Sánchez-Corona. 1996. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutation Research*, 39: 123-127.