



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Biomarcadores de daño temprano en *Ankistrodesmus falcatus* y *Hyalella azteca* como indicadores de estrés en tres áreas (urbana, turística y agrícola), de la zona lacustre de Xochimilco

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICOBIOLOGICAS

P R E S E N T A:

BIÓL. OCTAVIO ABEJA PINEDA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. EUGENIA LÓPEZ LÓPEZ
CODIRECTORA DE TESIS: DRA. LILIANA FAVARI PEROZZI

JUNIO DE 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14-BIS

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México D. F., siendo las 10:00 horas del día 9 del mes de junio del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas para examinar la tesis titulada:

Biomarcadores de daño temprano en *Ankistrodesmus falcatus* y *Hyaella azteca* como indicadores de estrés en tres áreas (urbana, turística y agrícola), de la zona lacustre de Xochimilco

Presentada por el alumno:

Abeja

Apellido paterno

Pineda

Apellido materno

Octavio

Nombre(s)

Con registro:

A	0	9	0	3	9	0
---	---	---	---	---	---	---

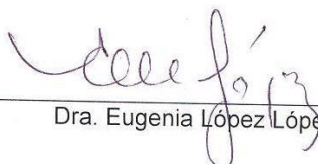
aspirante de:

Maestría en Ciencias Quimicobiológicas

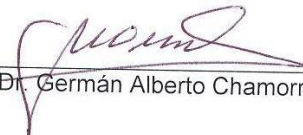
Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

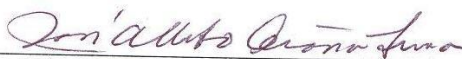
Directores de tesis

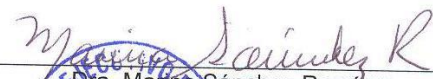

Dra. Eugenia López López


Dra. Liliana Favari Perozzi


Dr. Germán Alberto Chamorro Cevallos


Dra. Marcela Galar Martínez


Dr. José Alberto Ocaña Luna


Dra. Marina Sánchez Ramírez

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Manuel Jesús Piñón López





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F., el día 10 del mes Junio del año 2011, el (la) que suscribe alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias Químico-biológicas con número de registro A090390, adscrito a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Eugenia López López y ceden los derechos del trabajo intitulado Biomarcadores de daño temprano en *Ankistrodesmus falcatus* y *Hyaella azteca* como indicadores de estrés en tres áreas (urbana, turística y agrícola), de la zona lacustre de Xochimilco, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección (elopezl@encb.ipn.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Octavio Ángel Medina
Nombre y firma del alumno


Dra. Eugenia López López
Nombre y firma del (los) director (es)

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue posible gracias al apoyo otorgado por el Posgrado en Ciencias Quimicobiológicas, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

A la beca 227285 con registro 295171, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal, Proyecto SIP/DF/2007/086.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de Tesis, la Dra. Eugenia López López, por todo su apoyo, sus valiosas aportaciones y su paciencia.

A mi codirectora, la Dra. Liliana Favari Perozzi, por su apoyo y sus valiosas aportaciones.

A mi Jurado:

La Dra. Marcela Galar Martínez.

El Dr. José Alberto Ocaña Luna.

La Dra. Marina Sánchez Ramírez.

El Dr. Germán Alberto Chamorro Cevallos.

AGRADECIMIENTOS

A la Hidrobiól. Teresa García Camacho, por sus valiosas aportaciones.

A la Dra. Ángeles Grajeda, por sus aportaciones.

Al M. en C. Jacinto Elías Sedeño Díaz, por sus aportaciones.

A Tania Espinal Carrión, Ricardo Ruíz Picos, Perla Tapia Vega, J. Manuel Rosas Colmenares, Flor Galván, Erika Mendoza, por sus valiosas aportaciones.

RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. USO DE BIOMARCADORES	3
2.2. ESTRÉS OXIDATIVO Y EL SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTE	5
2.3. ENZIMA ACETILCOLINESTERASA	8
3. ANTECEDENTES	8
3.1. EL LAGO DE XOCHIMILCO	8
3.2. ANTECEDENTES EN LOS ORGANISMOS DE ESTUDIO COMO ESPECIES CENTINELA	12
3.2.1. ESPECIES DE ESTUDIO	15
3.2.1.1. <i>ANKISTRODESMUS FALCATUS</i>	15
3.2.1.2. <i>HYALELLA AZTECA</i> (DE SAUSSURE, 1858)	15
4. JUSTIFICACIÓN	17
5. HIPÓTESIS	17
6. OBJETIVO GENERAL.....	18
6.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
7. MATERIAL Y MÉTODOS	19
7.1. ÁREA DE ESTUDIO	19
7.2. TRABAJO DE CAMPO	22
7.3. TRABAJO DE LABORATORIO	22
7.3.1. PARÁMETROS DE LA CALIDAD DEL AGUA	22
7.3.2. INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO ALGAL	23
7.3.2.1. PREPARACIÓN DEL INÓCULO	23
7.3.2.2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS EN <i>ANKISTRODESMUS FALCATUS</i> Y <i>HYALELLA AZTECA</i>	25
7.4. ÍNDICE DE CALIDAD DEL AGUA (ICA)	29
7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
7.6. RESPUESTA INTEGRADA DE BIOMARCADORES.....	32
7.7. ANÁLISIS DE DATOS	32
8. RESULTADOS.....	33
8.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL AGUA	33
8.2. ÍNDICE DE CALIDAD DEL AGUA.....	38
8.3. CONCENTRACIÓN DE ALGUNOS METALES PESADOS EN AL AGUA DEL SISTEMA LACUSTRE DE XOCHIMILCO	39

8.4. INHIBICIÓN/ESTIMULACIÓN DEL POTENCIAL DE CRECIMIENTO ALGAL.....	40
8.5. RESPUESTAS BIOQUÍMICAS EN <i>ANKISTRODESMUS FALCATUS</i>	41
8.5.1. NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN EN <i>A. FALCATUS</i>	41
8.5.2. ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN <i>ANKISTRODESMUS FALCATUS</i>	43
8.5.2.1. ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN <i>A. FALCATUS</i>	43
8.5.2.2. ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN <i>A. FALCATUS</i>	45
8.5.2.3. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN <i>A. FALCATUS</i>	46
8.5.3. ANÁLISIS DE VARIABLES AMBIENTALES, METALES PESADOS Y LAS RESPUESTAS BIOQUÍMICAS EN <i>A. FALCATUS</i> .	48
8.5.4. RESPUESTA INTEGRADA DE BIOMARCADORES (RIB) EN <i>ANKISTRODEMUS FALCATUS</i>	51
8.6. RESPUESTAS BIOQUÍMICAS EN <i>HYALLELLA AZTECA</i>	53
8.6.1. NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN EN <i>H. AZTECA</i>	53
8.6.2. ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN <i>HYALLELLA AZTECA</i>	54
8.6.2.1. ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN <i>H. AZTECA</i>	54
8.6.2.2. ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN <i>H. AZTECA</i>	56
8.6.2.3. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN <i>H. AZTECA</i>	58
8.6.3. INHIBICIÓN DE LA ACETILCOLINESTERASA EN <i>HYALLELLA AZTECA</i>	59
8.7. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES AMBIENTALES, LOS METALES PESADOS Y LAS RESPUESTAS BIOQUÍMICAS EN <i>H. AZTECA</i>	61
8.8. RESPUESTA INTEGRADA DE BIOMARCADORES (RIB) EN <i>HYALLELLA AZTECA</i>	64
9.- DISCUSIÓN	67
10.- CONCLUSIONES	86
11. LITERATURA CITADA	88

Relación de Figuras

FIGURA 1.- CICLO REDOX DEL LOS XENOBIÓTICOS TOMADA DE OCHOA Y GONZÁLEZ (2008).	6
FIGURA 2. <i>ANKISTRODESMUS FALCATUS</i> (TOMADA DE HTTP://WWW.SCIENCEPHOTO.COM).	16
FIGURA 3. <i>HYALLELLA AZTECA</i> (TOMADA DE HTTP://WWW.GOOGLE.COM.MX).	16
FIGURA. 4. SITIOS DE ESTUDIO EN EL LAGO DE XOCHIMILCO, ZONA URBANA (ZU), ZONA TURÍSTICA (ZT) Y ZONA AGRÍCOLA (ZA).....	21
FIGURA 5. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL AGUA DEL SISTEMA LACUSTRE DE XOCHIMILCO EN LOS TRES SITIOS DE ESTUDIO DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE DE 2009 Y FEBRERO 2010).	37
FIGURA 6. ÍNDICE DE CALIDAD DEL AGUA DEL SISTEMA LACUSTRE DE XOCHIMILCO POR SITIO Y TEMPORADA DE MUESTREO DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010)...	38
FIGURA 7. PORCENTAJE DE INHIBICIÓN/ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO DE <i>A.FALCATUS</i>, A 72 HORAS. A) MAYO, AGOSTO, C) NOVIEMBRE, 2009 Y D) FEBRERO 2010, EN AGUAS DE LA ZONA LACUSTRE DE XOCHIMILCO.....	41
FIGURA 8. NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN EN <i>A. FALCATUS</i>, DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	43
FIGURA 9. ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN <i>A. FALCATUS</i>, DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	44
FIGURA 10. ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN <i>A. FALCATUS</i>, DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010)...	46

FIGURA 11. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN <i>A. FALCATUS</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).....	47
FIGURA 12. ANÁLISIS DE REDUNDANCIA. (A) SITIOS DE ESTUDIO DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE DEL 2009 Y FEBRERO 2010) Y LAS VARIABLES AMBIENTALES. (B) LOS METALES PESADOS, CADMIO, PLOMO, ZINC, ARSÉNICO Y LAS RESPUESTAS BIOQUÍMICAS, TASA DE CRECIMIENTO DE <i>A. FALCATUS</i> , NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN, ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA, ACTIVIDAD DE LA CATALASA, ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA, EN <i>A. FALCATUS</i> , POR PERIODOS Y SITIOS DE ESTUDIO.	50
FIGURA 13. RESPUESTA INTEGRADA DE BIOMARCADORES (RIB) EN <i>A. FALCATUS</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010), POR SITIOS DE ESTUDIO Y MESES DE MUESTREO. NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN, ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA, CATALASA, GLUTATIÓN PEROXIDASA... ..	52
FIGURA 14. NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN EN <i>H. AZTECA</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010)... ..	54
FIGURA 15. ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN <i>H. AZTECA</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	56
FIGURA 16. ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN <i>H. AZTECA</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	57
FIGURA 17. ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN <i>H. AZTECA</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	59
FIGURA 18. INHIBICIÓN DE LA ACHE EN <i>H. AZTECA</i> , DURANTE UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010).. ..	61
FIGURA 19. ANÁLISIS DE REDUNDANCIA. (A) SITIOS DE ESTUDIO EN UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010) Y LAS VARIABLES AMBIENTALES. (B) LOS METALES PESADOS CADMIO, PLOMO, ZINC, ARSÉNICO Y LAS RESPUESTAS BIOQUÍMICAS, NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN, ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA, ACTIVIDAD DE LA CATALASA, ACTIVIDAD DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA, INHIBICIÓN DE LA ACETILCOLINESTERASA EN <i>H. AZTECA</i> , POR PERIODOS Y SITIOS DE ESTUDIO.....	63
FIGURA 20. RESPUESTA INTEGRADA DE BIOMARCADORES (RIB) EN <i>H. AZTECA</i> , EN UN CICLO ANUAL (MAYO, AGOSTO Y NOVIEMBRE 2009 Y FEBRERO 2010), POR SITIOS DE ESTUDIO Y MESES DE MUESTREO, NIVEL DE LIPOPEROXIDACIÓN, ACTIVIDAD DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA, CATALASA, GLUTATIÓN PEROXIDASA, INHIBICIÓN DE LA ACETILCOLINESTERASA.. ..	66

RELACIÓN DE TABLAS

TABLA 1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS CONSERVATIVOS DE CALIDAD DEL AGUA EN EL SISTEMA LACUSTRE DE XOCHIMILCO DURANTE UN CICLO ANUAL (2009-2010).....	34
TABLA. 2. CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA DE LOS SITIOS ANALIZADOS DE LA ZONA LACUSTRE DE XOCHIMILCO, DURANTE UN CICLO ANUAL (2009-2010).....	40

RESUMEN

La contaminación de las aguas dulces por la descarga de desechos industriales y descargas domésticas puede generar daños a la biota acuática poniendo en riesgo la biodiversidad de los ecosistemas. En particular, la zona lacustre de Xochimilco, ha sido afectada por los desechos urbanos, descargas de agua residual previamente tratada y las actividades agrícolas, vertiendo entre otros, plaguicidas, metales pesados y un gran número de organismos patógenos, formando mezclas complejas que pueden dañar a los organismos residentes. El objetivo del presente estudio fue evaluar el daño por estrés oxidativo en la microalga *Ankistrodesmus falcatus* y el anfípodo *Hyalella azteca* expuestos a las aguas de tres sitios del lago de Xochimilco, zonas (urbana, turística y agrícola) durante tres periodos de un ciclo anual. Se emplearon biomarcadores de daño temprano como el nivel de lipoperoxidación y la actividad antioxidante de la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, adicionalmente, se determinó la inhibición de la acetilcolinesterasa en *H. azteca*. Se realizaron análisis de calidad del agua y de algunos metales pesados, se llevaron a cabo bioensayos estáticos para evaluar la inhibición/estimulación del potencial de crecimiento en *A. falcatus*. Los resultados mostraron variaciones estacionales y temporales, los niveles mayores de lipoperoxidación en el alga se encontraron en las zonas urbana y agrícola en mayo y agosto. La mayor actividad antioxidante se presentó en las zonas urbana y turística en la temporada de lluvias. En el anfípodo, el nivel de lipoperoxidación fue alto en las zonas urbana y turística, durante los meses lluviosos, persistiendo hasta el mes de noviembre y la mayor actividad antioxidante se observó en las zonas turística y agrícola en los meses de mayo, noviembre y febrero. Por otro lado, la inhibición de la acetilcolinesterasa fue alta en los meses de agosto y noviembre en los tres sitios de estudio. El análisis muestra que la mezcla de contaminantes que se encuentran circulando y los que ingresan al lago, generaron radicales libres que afectaron a los organismos del primer y segundo nivel trófico. Adicionalmente, se detectó daño neurotóxico en *H. azteca*. Lo anterior pone de manifiesto que las condiciones que prevalecen en el sistema lacustre de Xochimilco pueden provocar alteración en los primeros niveles de la cadena trófica.

Palabras clave: Xochimilco, biomarcadores, *Ankistrodesmus falcatus*, *Hyalella azteca*.

ABSTRACT

Pollution of freshwater by the discharge of industrial and domestic wastes provokes, damage to the aquatic biota and endanger the ecosystems biodiversity. Lake Xochimilco, have been affected by wastewater previously treated and agricultural wastes, pouring pesticides, heavy metals, and a great number of pathogens. These pollutants generate complex mixtures that may damage resident organisms. The aim of this study was to assess the oxidative stress damage in the microalgae *Ankistrodesmus falcatus* and the amphipod *Hyalella azteca* by exposure to water from three sites from the lake Xochimilco zones (urban, tourist and agricultural) during an annual cycle. We used early warning biomarkers as the level of lipid peroxidation and antioxidant activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. Additionally, we determined the inhibition of acetylcholinesterase in *H. azteca*. Water quality analysis and some heavy metals and static bioassays were carried out to evaluate the inhibition/stimulation of the algal growth potential in *A. falcatus*. The results show seasonal and temporary variations, the higher values of the level of LPO in the alga were in the urban and agricultural zones during May and August. The high antioxidant activity was observed in the urban and tourist zones in the rainy season. In the amphipod lipid peroxidation level was high in urban and tourist zones, mainly during the rainy months, persisting until November and the high antioxidant activity was observed in the tourist and agricultural zones in May, November and February. Moreover, inhibition of acetylcholinesterase was higher in August and November in the three study sites. The analysis show that the mixture of pollutants that is found circulating and entering the lake, generate free radicals that damage the organisms of the first and second trophic level. Additionally, neurotoxic damage in *H. azteca* was detected. Results show that the conditions prevailing in the Xochimilco lake system can cause alterations in the first levels of the food chain.

Keywords: Xochimilco, biomarkers, *Ankistrodesmus falcatus*, *Hyalella azteca*.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación de las aguas dulces superficiales por xenobióticos es un problema a nivel mundial, ya que éstas constituyen una de las principales fuentes de consumo humano, así como el hábitat de animales y plantas. Por lo tanto, en las últimas décadas el ingreso de contaminantes a los sistemas acuáticos han recibido mayor atención tanto en los países industrializados como en los que están en desarrollo (Baudo, 1987). Los desechos industriales y domésticos, vertidos a los cuerpos de agua sin ningún tratamiento o desinfección generan un deterioro de la calidad del agua, afectan los usos potenciales de la misma y modifican la composición de su biota acuática (Robles-Mendoza *et al.*, 2009; Ramos-Bello *et al.*, 2009).

Así mismo, el agua utilizada en la agricultura y que por escurrimiento acarrea diversos insecticidas y herbicidas, ha ocasionando que los ecosistemas acuáticos se encuentren en diferentes grados de deterioro, provocando la disminución en la cantidad de agua para otros fines, como el riego, la acuicultura, la pesca, la piscicultura y las actividades recreativas (De la Lanza-Espino y García-Calderón, 1995; Harper, 1992; Wetzel, 2001). Entre los xenobióticos que ingresan a los sistemas acuáticos se pueden incluir los metales de transición, los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los pesticidas organoclorados y organofosforados, los piretroides, los policlorinados bifenílicos y dioxinas, entre otros y sus mezclas (Abel, 1989; Ochoa y González, 2008). Algunos de los metales pesados como Cu, Cd, Zn, Cr y Hg, son drenados a los sistemas acuáticos, a través de escorrentías urbanas,

descargas de agua residuales tratadas, vertederos de desechos domésticos y deslaves de los suelos agrícolas, que finalmente pueden afectar al ecosistema (Heath, 1987; Pinto *et al.*, 2003; Sampaio *et al.*, 2008). Por otro lado, a concentraciones bajas, muchos de estos metales juegan un papel esencial en el metabolismo de las microalgas, tal es el caso del Cu y Zn (Tadros *et al.*, 1990). Sin embargo, cuando las concentraciones son altas, dan origen a la contaminación del medio y provocan desbalances metabólicos en el fitoplancton (Rodríguez y Rivera, 1995) afectando las cadenas tróficas de los ecosistemas.

Un ejemplo de esto, es la zona lacustre de Xochimilco, la cual durante siglos se mantuvo libre de contaminantes pero hoy se encuentra sujeta a diversos problemas; como es el caso del avance de la mancha urbana, la sobreexplotación de los mantos acuíferos, la desecación de los manantiales y la descarga de aguas residuales de las dos plantas de tratamiento (que han sustituido a los manantiales que originalmente abastecían de forma natural al lago), todas ellas aportan grandes cantidades de desechos orgánicos, basura y algunos metales. Además, de las descargas domésticas sin tratamiento previo provenientes de los asentamientos humanos irregulares, los desechos de los establos de ganado de traspatio y de las actividades turísticas. Lo anterior, ha generado un serio problema de contaminación microbiológica del agua por los desechos de origen fecal; asimismo, el aumento de compuestos nitrogenados y fosfatados derivados de los fertilizantes y productos domésticos de limpieza (Aguilera, 1987; Chapa, 1987; Balanzario, 1992). Sin embargo, gran parte de estos xenobióticos son absorbidos rápidamente por la materia particulada, algunos son asimilados por los organismos vivos, pueden permanecer disueltos en la columna de

agua o bien pueden precipitarse hacia los sedimentos. El análisis de las concentraciones de éstos en las partículas en suspensión, en los organismos acuáticos y en los sedimentos proveen una información más detallada del grado de deterioro ambiental de los ecosistemas acuáticos (Laws, 1993).

Para valorar los efectos potenciales de las sustancias tóxicas sobre la fauna acuática son necesarios los estudios de toxicidad, ya que las pruebas físicas y químicas no son suficientes. Por ello, es importante la necesidad de estudiar el efecto deletéreo sobre las comunidades de organismos nativos de los sistemas acuáticos, este efecto se genera en los distintos niveles de organización biológica: a nivel molecular, bioquímico y fisiológico de los organismos, presentándose como respuestas tempranas (biomarcadores) por la exposición a xenobióticos (Sherry, 2003; Van der Oost *et al.*, 2003).

2. Marco Teórico

2.1. Uso de Biomarcadores

Con el propósito de determinar el daño y los efectos tóxicos que los xenobióticos ejercen sobre la biota acuática se han implementado una serie de biomarcadores que permiten proveer bases sólidas para la interpretación, así como un mayor entendimiento del efecto de la contaminación sobre los organismos, mediante la integración de las distintas respuestas (Dissanayake, 2001). Algunos autores han propuesto metodologías validadas que evalúan las variaciones globales en una batería de biomarcadores, como es el caso del

método multivariado de las gráficas de estrella que permiten una integración de las respuestas de biomarcadores (Beliaeff y Burgeot, 2002), mediante comparaciones espaciales o temporales directas para un mismo biomarcador, o bien la comparación de la respuesta de biomarcadores integrados por sitio, indicándonos que variables son las que más aportan a la respuesta integrada.

Por lo tanto, los biomarcadores constituyen una herramienta útil en los estudios de evaluación del riesgo toxicológico y ecotoxicológico, como respuestas biológicas que pueden ser medidas e inducidas, en tejidos, células y componentes celulares, es decir en un sistema biológico, que indica las modificaciones bioquímicas o celulares debidas a la presencia y a la magnitud de las sustancias tóxicas (NRC, 1987; Sherry, 2003). En un contexto toxicológico, los biomarcadores se consideran indicadores sensibles a efectos tempranos que demuestran que las sustancias tóxicas han ingresado a un organismo y se han distribuido en sus tejidos produciendo efectos deletéreos (Van der Oost *et al.*, 2003; Sherry, 2003) generando daños al ADN, a diversos órganos, al sistema endócrino y cambios en la función reproductiva, así como la pérdida del crecimiento, desequilibrios en la condición biológica general y la mortalidad (Sorensen *et al.*, 2001; Battaglin y Fairchild, 2002; Van der Ven *et al.*, 2003).

Comúnmente, los biomarcadores utilizados se dividen en tres categorías: 1) los biomarcadores de exposición, que permiten la detección y medición de compuestos químicos, sus metabolitos o el producto de la interacción entre un agente xenobiótico y

determinada molécula o célula que puede ser medida en un compartimiento del organismo; 2) los biomarcadores de efecto, que miden respuestas bioquímicas, fisiológicas u otras alteraciones en los tejidos o los fluidos que pueden ser reconocidas y asociadas con posibles alteraciones en la salud o enfermedad de los organismos y 3) los biomarcadores de susceptibilidad que indican la pérdida o adquisición de las habilidades de los organismos a responder al cambio provocado por un xenobiótico específico, incluyendo factores genéticos y cambios que alteren la susceptibilidad a dicha exposición (Van der Oost *et al.*, 2003; NRC, 1987).

2.2. Estrés oxidativo y el sistema de defensa antioxidante

El estrés oxidativo es experimentado por todos los organismos aeróbicos, los contaminantes pueden inducir daños en la biota acuática y pueden aumentar las alteraciones y lesiones así como las neoplasias en los organismos (Winston, 1991). El daño se genera cuando existe una sobrecarga en la formación de agentes prooxidantes, creándose un desbalance entre la producción de estas especies reactivas de oxígeno (ROS) y su eliminación no es debidamente compensada por los sistemas de defensa antioxidante de los organismos (Livingstone, 2003; Ahmed, 2005). Estos mecanismos de defensa celular incluyen sistemas enzimáticos y no enzimáticos que evitan la formación de radicales libres, capturan los que ya se han formado y remueven o reparan las biomoléculas ya dañadas (Ochoa y González, 2008).

Por otro lado, los xenobióticos pueden inducir estrés oxidativo como resultado del proceso de oxidación-reducción (redox) transformándose en especies reactivas o radicales libres (especie química que posee uno o más electrones no apareados en su orbital más externo) (Fig. 1). Además, existen registros de que los niveles elevados de metales pueden inducir el daño oxidativo mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como el radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$), a través de las reacciones Haber-Weiss y de Fenton (Storey, 1996; Ochoa y González, 2008; Altı y Canlı, 2010). Estas especies reactivas de oxígeno, mediante una reacción en cadena y su capacidad de oxidar, reaccionan principalmente con macromoléculas, pueden oxidar las proteínas, los lípidos (mediante la peroxidación lipídica), los ácidos nucleicos, también, pueden inactivar a las enzimas antioxidantes conduciendo a daños en el ADN, en la estructura celular o incluso llevar a la muerte a la célula (Van der Oost *et al.*, 2003; Altı y Canlı, 2010).

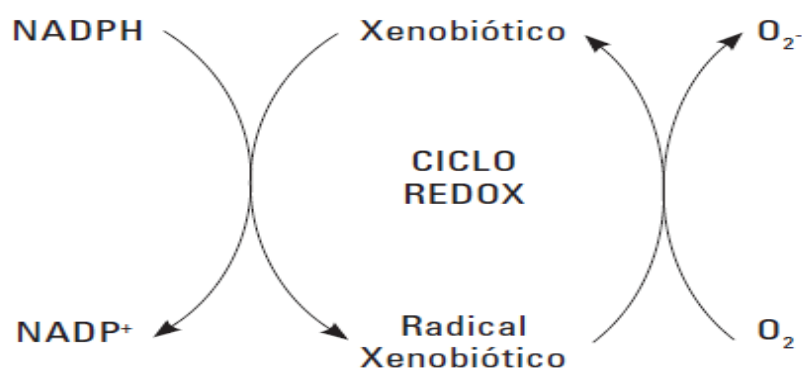


Figura 1.- Ciclo redox de los Xenobióticos tomada de Ochoa y González (2008).

La lipoperoxidación (LPO) ó la oxidación de los lípidos de las membranas plasmáticas, es uno de los principales daños causados por los radicales libres. Además, ha sido reportada como uno de los efectos de la acción tóxica de los contaminantes ambientales, que conduce a la pérdida de la función celular en situaciones de estrés (Storey, 1996). La lipoperoxidación se cuantifica midiendo las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), expresado como concentración de malondialdehído (MDA) (Ochoa y González, 2008; Storey, 1996).

Por otro lado, en las células sanas, las especies reactivas de oxígeno, son detoxificadas por los sistemas de defensa antioxidante de los organismos. Estos incluyen atrapadores de bajo peso molecular (no enzimáticos) de radicales libres y enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) que tienden a inhibir la formación de agentes prooxidantes (Van der Oost *et al.*, 2003; Ochoa y González, 2008).

La SOD es una metaloproteína y su función consiste en catalizar la conversión del anión superóxido reactivo a peróxido de hidrógeno, constituyendo la primer defensa contra el efecto tóxico del oxígeno en los organismos aeróbicos; haciéndola una de las enzimas más activas (Livingstone, 2003; Altı y Canlı, 2010). El (H_2O_2) es subsecuentemente detoxificado por la catalasa y la glutatión peroxidasa.

La catalasa está asociada a los peroxisomas cuya función es detoxificar ó reducir el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), a oxígeno molecular (O_2) y agua. La glutatión peroxidasa, es una enzima citosólica que cataliza el metabolismo del H_2O_2 orgánico (a bajas concentraciones) a agua, implicando una oxidación del glutatión reducido (GSH) a su forma oxidada (GSSG). Se considera que juega un papel importante en la protección de las membranas del daño que pudiera ocasionar la peroxidación (Dorval *et al.*, 2005).

2.3. Enzima Acetilcolinesterasa

Otro biomarcador de gran utilidad es la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE). La AChE es la enzima responsable del rompimiento del neurotransmisor acetilcolina dentro de la sinapsis colinérgica después del impulso nervioso. Esta enzima es sensible a los plaguicidas organofosforados y carbamatos y puede responder a bajos niveles de contaminantes en el medio ambiente. Adicionalmente, Sturm y Hansen, (1999) y Sherry, (2003) reportaron que algunos metales pesados afectan los niveles de actividad de la acetilcolinesterasa

3. ANTECEDENTES

3.1. El Lago de Xochimilco

El sistema lacustre de Xochimilco se localiza en la cuenca endorreica de Valle de México, la cual se formó por un proceso volcánico que dio origen a la Sierra Ajusco-

Chichinautzin que interrumpió el drenaje existente del Valle de México hacia el sur (Mooser, 1987; INEGI, 1986), dando por resultado la formación de un sistema de lagos intercomunicados (Chalco, Xochimilco, Chapultepec, Texcoco y Zumpango), Acevedo, (1972). Hacia la década de los 50's, se pone en funcionamiento un conjunto de pozos de extracción de agua en la zona lacustre de Xochimilco, que trajo como consecuencia un abatimiento en los niveles del lago y la desecación de la zona chinampera; afectando el turismo de la región y provocando el abandono de una de las actividades agrícolas más representativa de la región, "el cultivo a base de chinampas". Además, el aumento de los desechos orgánicos en el lago cuya autodepuración disminuyó gravemente, contribuyendo a la desaparición de la fauna lacustre, además se incremento la proliferación de malezas acuáticas y algunas plagas en árboles y cultivos (Moneada, 1989).

Debido a esta problemática, el gobierno disminuyó la extracción y prometió reintegrar el agua adecuadamente tratada al sistema lacustre mediante la operación de la planta de tratamiento del Cerro de la Estrella en el año de 1971, produciendo un caudal de dos mil litros por segundo con un tratamiento previo secundario. Sin embargo, para el año de 1994 incrementó su capacidad a cuatro mil litros por segundo y con un tratamiento previo terciario. De esta manera, el sistema lacustre de Xochimilco estuvo recibiendo aguas semitratadas durante 22 años, conteniendo metales pesados y otros compuestos orgánicos e inorgánicos, además de virus y bacterias (Bojórquez y Amaro, 2003; Ramos-Bello *et al.*, 2001).

Xochimilco fue nombrado Patrimonio Natural y Cultural de la Humanidad en 1987, nombramiento otorgado por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, UNESCO (Masucchio, 2000; Robles-Mendoza *et al.*, 2009) y en el año 2004, la zona lacustre de Xochimilco fue incorporada a la Lista de Sitios Ramsar (Convenio de Ramsar para la Conservación y Protección de Humedales a nivel Mundial) (site 4MX050), debido al gran número de especies de flora y fauna endémica.

La fauna acuática de los canales de Xochimilco comprende algunas especies de vertebrados acuáticos: ajolote (*Ambystoma mexicanum*), carpas (*Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* y *Ctenopharyngodon idella*), charal (*Menidia jordanii*), plati, cola de espada (*Xiphophorus variatus*), el goodeido conocido como pescadito amarillo (*Girardinichthys viviparus*), serpiente de agua (*Thamnophis* spp.) y los anfibios (*Lithobates montezumae* y *L. tlaloci*). Por otro lado, algunas poblaciones se han visto extintas o reducidas, como son las dos especies de peces endémicos del género *Evarra*, además, se encuentran en peligro de extinción los anfibios *L. tlaloci* y *Ambystoma mexicanum*, mientras que *L. montezumae* está sujeta a protección especial y el pez *G. viviparus* se encuentra en la categoría de peligro de extinción (NOM-059-SEMARNAT-2010).

Entre los estudios realizados sobre el fitoplancton destacan los de Sámano, (1933 y 1940) quien reportó 10 especies de géneros de clorofitas y 7 especies de tres géneros de cianobacterias. Salas, (1963) describió 23 especies de Euglenofita. Flores-Granados, (1980) enlistó 129 especies de las divisiones Cianofita, Clorofita, Euglenofita y Bacilliarofita;

Reynoso-Alvarez, (1982) identificó 31 especies pertenecientes a 23 géneros, donde los géneros más abundantes fueron *Oscillatoria* y *Euglena*. Por otra parte, el zooplancton está dominado por rotíferos, microcrustaceos como los cladóceros, los copépodos, los ostrácodos, los decapodos y el acocil *Cambarellus moctezumae*. Sin embargo, se ha reportado una baja diversidad y densidad de los cladóceros de los géneros como *Pleuroxus*, *Simocephalus* y raramente *Moina* y *Daphnia* (Sarma SSS, 1999).

En estudios recientes, Sánchez-Meza *et al.*, (2009) determinaron la presencia de metales pesados (Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} y Hg^{2+}) en sedimentos y en el acocil *Cambarellus moctezumae* del lago de Xochimilco. Los autores reportan que la concentración de estos metales en sedimentos y en el acocil no rebasó los límites permisibles de la norma (NOM-001-ECOL-1996). Por otro lado, Ramos-Bello *et al.*, (2001) cuantificaron los niveles de salinidad, de sodio y metales pesados como Cu, Zn, Cr, Cd, Pb y Ni, en suelos de la región chinampera de Xochimilco y Tláhuac, donde encontraron que la concentración de estos metales no rebasó los límites permisibles de la norma (NOM-001-ECOL-1996). En cuanto a la contaminación biológica de origen fecal, Juárez-Figueroa *et al.*, (2003) realizaron un estudio durante noviembre y diciembre del 2001, sobre los indicadores de la contaminación fecal en los efluentes de las dos plantas de tratamiento y en las muestras de agua de los canales de Xochimilco; concluyendo que existe contaminación biológica de origen fecal, Sin embargo, la densidad encontrada de estos patógenos en las muestras de agua y en los efluentes de las plantas de tratamiento, no rebasaron los límites permisibles para coliformes fecales de acuerdo a la norma (NOM-001-ECOL-1996).

Con relación al efecto generado por los xenobióticos en la salud de los organismos en el lago de Xochimilco existen pocos trabajos de los cuales, López-López *et al.*, (2006) reportaron que la exposición de *Girardinichthys viviparus* al agua de la zona urbana, zona turística y zona agrícola, generó un aumento en el nivel de la lipoperoxidación y en la inhibición de la acetilcolinesterasa, al compararlos con peces no expuestos. Los autores concluyeron que la exposición a los xenobióticos de los tres sitios de estudio afectó la función bioquímica y fisiológica de los peces.

Así mismo, López-López *et al.*, (2010a) reportaron que el crecimiento de *A. falcatus* en elutriados de los sedimentos de la zona urbana, turística y agrícola, están altamente relacionados con la disponibilidad de nutrientes que estimulan el crecimiento del alga, además en este mismo trabajo, encontraron niveles altos de lipoperoxidación en *H. azteca*, en particular en los organismos expuestos a los elutriados de las zonas urbana y agrícola. Así mismo, la actividad de la acetilcolinesterasa se inhibió (con valores altos en la zona agrícola y urbana), por lo que sugirieron que la mezcla de contaminantes en los elutriados a los que fueron expuestos los organismos provocó estrés oxidativo y neurotoxicidad.

3.2. Antecedentes en los organismos de estudio como especies centinela

La selección tanto de un biomarcador, como del organismo centinela es de importancia para lograr un diagnóstico ambiental adecuado, por lo que deben elegirse organismos que interactúen directamente con los contaminantes, que sean de fácil manejo e

identificación, con ciclos de vida cortos y residentes permanentes del ecosistema; entre estos organismos destacan los moluscos y los peces como principales grupos de estudio (Sarkar *et al.*, 2006; Bodin *et al.*, 2004; Van der Oost *et al.*, 2003). Sin embargo, el fitoplancton es el principal productor primario en los ecosistemas acuáticos y juega un papel importante en el flujo de energía de estos, controlando el crecimiento e incluso la capacidad reproductora de las poblaciones de otros organismos (Kuang *et al.*, 2004). En su condición de productor primario, las microalgas se consideran como uno de los indicadores más importantes de las alteraciones del medio acuático ya que pueden detectar y responder a cambios que se llevan a cabo en el medio ambiente.

Por otro lado, existen diversos trabajos de toxicidad empleando microalgas, como el realizado por Pinto *et al.*, (2003) en el que evaluaron el estrés oxidativo en algas inducido por los metales pesados, señalando que la contaminación por estos, perturba el equilibrio oxidativo de estos organismos. También Baścik *et al.*, (2010) examinaron la toxicidad del cadmio y antraceno así como la combinación de ambos en *Desmodesmus subspicatus*, concluyendo que la inhibición del crecimiento del alga fue mayor en la mezcla de estos dos tóxicos, que en los químicos aplicados individualmente. Kamaya *et al.*, (2006) caracterizaron la estimulación de crecimiento y los efectos de la inhibición, provocado por el ácido 4-hidrobenczoico en el alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, encontrando que el ácido 4-hidrobenczoico inhibió el crecimiento algal a altas concentraciones. Sin embargo, a bajas concentraciones se estimuló su crecimiento.

López-López y Davalos, (1998) evaluaron el potencial de crecimiento algal y la limitación de nutrientes, utilizando como organismo prueba de aguas dulces a *Selenastrum capricornutum*, encontrando que el agua que correspondía a sitios impactados por asentamientos rurales presentaron bajo potencial de crecimiento. Sin embargo, aquellos alterados por los asentamientos urbanos e industriales presentaron un mayor potencial de crecimiento algal.

Con respecto a *Hyalella azteca* (De Saussure, 1858) actualmente, existe una amplia información sobre la especie en diversos aspectos como: el ciclo de vida, la sobrevivencia, el crecimiento, la reproducción, la evaluación de la calidad del agua, la ecotoxicología y bioacumulación con respecto a varios químicos específicos (Environment Canadá, 1997). También, *H. azteca* ha sido utilizada ampliamente como indicador biológico en las pruebas de toxicidad, debido a su tamaño pequeño (3 a 8 mm), su importancia ecológica, su sensibilidad a las concentraciones de metales pesados y a su fácil reproducción en condiciones de laboratorio (Smith *et al.*, 2004).

Además, existen trabajos como el de Smith *et al.*, (2007) donde evaluaron la toxicidad del diazinón en un humedal artificial utilizando el anfípodo *H. azteca*; encontrando que la contaminación por diazinón afectó la fisiología de los organismos. Por otro lado, Lizotte *et al.*, (2009) analizaron plaguicidas agrícolas en sedimentos del delta del Mississippi y sus efectos sobre *H. azteca*, concluyendo que la presencia de estos plaguicidas afectó la sobrevivencia de los organismos.

3.2.1. Especies de estudio

3.2.1.1. *Ankistrodesmus falcatus*

El alga *A. falcatus*, es una microalga unicelular Clorophyceae, con una longitud promedio de 45 μm , con una amplia distribución en los sistemas acuáticos de México y es un componente importante de la cadena trófica de los cuerpos de agua. Este organismo se empleó para determinar la inhibición del crecimiento algal y además, se evaluó una batería de biomarcadores: el nivel de LPO, la actividad de la SOD, la CAT y la GPx, como indicadores del estrés oxidativo por exposición a los xenobióticos del sistema lacustre de Xochimilco (Fig. 2).

3.2.1.2 *Hyalella azteca* (De Saussure, 1858)

La especie *Hyalella azteca* del orden amphipoda (Fig. 3), se encuentra distribuida en una variedad de hábitats de agua dulce, como los depósitos permanentes, lagos, embalses y arroyos, se pueden encontrar aferrados a la vegetación, nadando en la columna de agua ó se les encuentra en el sedimento donde son importantes miembros de la fauna bentónica (Dutra *et al.*, 2007). Son omnívoros ya que pueden ser detritívoros, carnívoros y herbívoros, además sirven de alimento para muchos otros organismos (Environment Canada, 1997). Por lo tanto, forman parte importante de la cadena trófica, transfiriendo energía a partir de las microalgas y otras macrofitas a niveles tróficos superiores (Dutra *et al.*, 2007).

Este organismo se empleo, para evaluar una batería de biomarcadores como: el nivel de LPO, la actividad de la CAT, la actividad de la SOD y la actividad de la GPx, para evaluar el estrés oxidativo. Así mismo se determinó la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), como indicador de daño neurotóxico.



Figura 2. *Ankistrodesmus falcatus* (Tomada de <http://www.sciencephoto.com>).



Figura 3. *Hyalella azteca* (Tomada de <http://www.google.com.mx>).

4. Justificación

El sistema lacustre de Xochimilco presenta perturbaciones por la descarga de aguas residuales, desechos domésticos, el aporte de metales pesados y pesticidas que forman una mezcla de contaminantes. Además, existen registros de la disminución de especies nativas, por lo cual, es importante evaluar el estrés al que se ven sometidas dos especies componentes de los primeros niveles de la cadena trófica, *A. falcatus* y *H. azteca*, mediante la exposición a muestras de agua provenientes de tres puntos representativos del lago de Xochimilco y la evaluación de las respuestas de algunos biomarcadores de daño temprano. La microalga unicelular *A. falcatus* y el anfípodo *H. azteca* son organismos usados en los bioensayos, para evaluar la toxicidad de varios contaminantes. Por lo tanto, realizar estudios ecotoxicológicos con estos organismos representa varias ventajas, por su tamaño pequeño, su fácil reproducción en condiciones de laboratorio, son económicos de mantener y las pruebas son rápidas debido a su ciclo de vida corto. Además, de que presentan una amplia distribución en los cuerpos de agua dulce y tienen alta significancia ecológica ya que forman parte de las cadenas tróficas, además de mostrar sensibilidad a las concentraciones de xenobióticos (Smith *et al.*, 2004).

5. Hipótesis

Si los xenobióticos son capaces de ejercer estrés oxidativo en *A. falcatus* y *H. azteca*, será posible evidenciar la magnitud de su efecto y su variación espacial y temporal mediante la evaluación de las respuestas de los biomarcadores de daño temprano en organismos de

las dos especies, expuestos a las aguas de las diferentes zonas del lago y en diferentes periodos de estudio.

6. Objetivo general

- Determinar el estrés oxidativo que ejerce la exposición a las aguas de las zonas urbana, turística y agrícola de la zona lacustre de Xochimilco en la microalga *Ankistrodesmus falcatus* y el anfípodo *Hyalella azteca* empleando biomarcadores de daño temprano y relacionar las respuestas con la calidad del agua de cada sitio de estudio.

6.1. Objetivos específicos

- Valorar la calidad del agua en las tres áreas de la zona lacustre de Xochimilco en cuatro períodos de estudio.
- Determinar el potencial de inhibición de crecimiento algal, en *A. falcatus* expuesta al agua de cada sitio y periodo de estudio.
- Evaluar el estrés oxidativo por exposición a agua de tres sitios de la zona lacustre de Xochimilco y en cuatro periodos de estudio, mediante la determinación del nivel de lipoperoxidación y la actividad de las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa en *A. falcatus*.
- Cuantificar el estrés oxidativo por exposición a agua de tres sitios de la zona lacustre de Xochimilco y en cuatro periodos de estudio mediante el análisis del nivel de lipoperoxidación y la actividad de las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa en *H. azteca*.

- Cuantificar la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa en *H. azteca* expuesta a las aguas de tres sitios de la zona lacustre de Xochimilco y en cuatro periodos de estudio.
- Analizar comparativamente la respuesta integrada de los biomarcadores entre sitios y periodos de estudio.
- Analizar la relación de las respuestas de los biomarcadores de daño temprano con las condiciones de calidad del agua de cada sitio y el periodo de estudio.

7. Material y métodos

7.1. Área de estudio

La zona lacustre de Xochimilco se encuentra en la parte sur de la cuenca endorreica del Valle de México, dentro de la cuenca del Río Moctezuma (INEGI, 2002), entre los 19°00' y 19°20' latitud norte y 99°00' y 99°16' longitud oeste, con un área aproximada de 423 km² y a una altitud de 2240 msnm. García (1988), señala que el clima de Xochimilco es el más húmedo de los cuatro subtipos, observándose dos estaciones climáticas bien diferenciadas: una de sequía de noviembre a abril y una húmeda, de mayo a octubre (Jáuregui, 1971). De acuerdo a sus características hidrográficas, el Lago de Xochimilco puede clasificarse como un lago templado subhúmedo, con lluvias en verano y con una temperatura superficial que oscila entre 20°C a 30°C, manteniéndose constante durante todo el año. El sistema lacustre se encuentra en una cuenca cerrada y su profundidad varía de manera relevante, en algunos sitios es de 60 cm. y en algunos canales ó algunas lagunas la profundidad va de los 3 a los 6 m. Esta cuenca se encuentra condicionada regionalmente por la permeabilidad de

los suelos y por las variaciones climáticas, creándose un sistema de escurrimientos superficiales intermitentes que se presentan durante la temporada de lluvias (De la Lanza-Espino y Hernández-Pulido, 2007).

Dentro de los sitios a analizar destacan tres tipos de zonas, debido a la importancia de las actividades que en ellas se desarrollan. La zona urbana (ZU) que se caracteriza por los asentamientos humanos irregulares y toda la problemática que con ello conlleva, como las descargas de desechos residuales domésticos que se vierten indiscriminadamente a las aguas de los canales. La zona turística (ZT) que se destaca por la transformación de las áreas de las chinampas aledañas a los canales, en zonas ocupadas por asentamientos humanos y centros de recreación en los cuales se ofrece actividad turística, así como también recorridos en trajineras. En la zona Agrícola ó chinampera (ZA) se desarrolla la actividad agrícola, donde aún se observa el cultivo de hortalizas, plantas de ornato y flores. Además, se aprecian actividades de pastoreo de ganado tanto ovino como vacuno (Fig. 4).

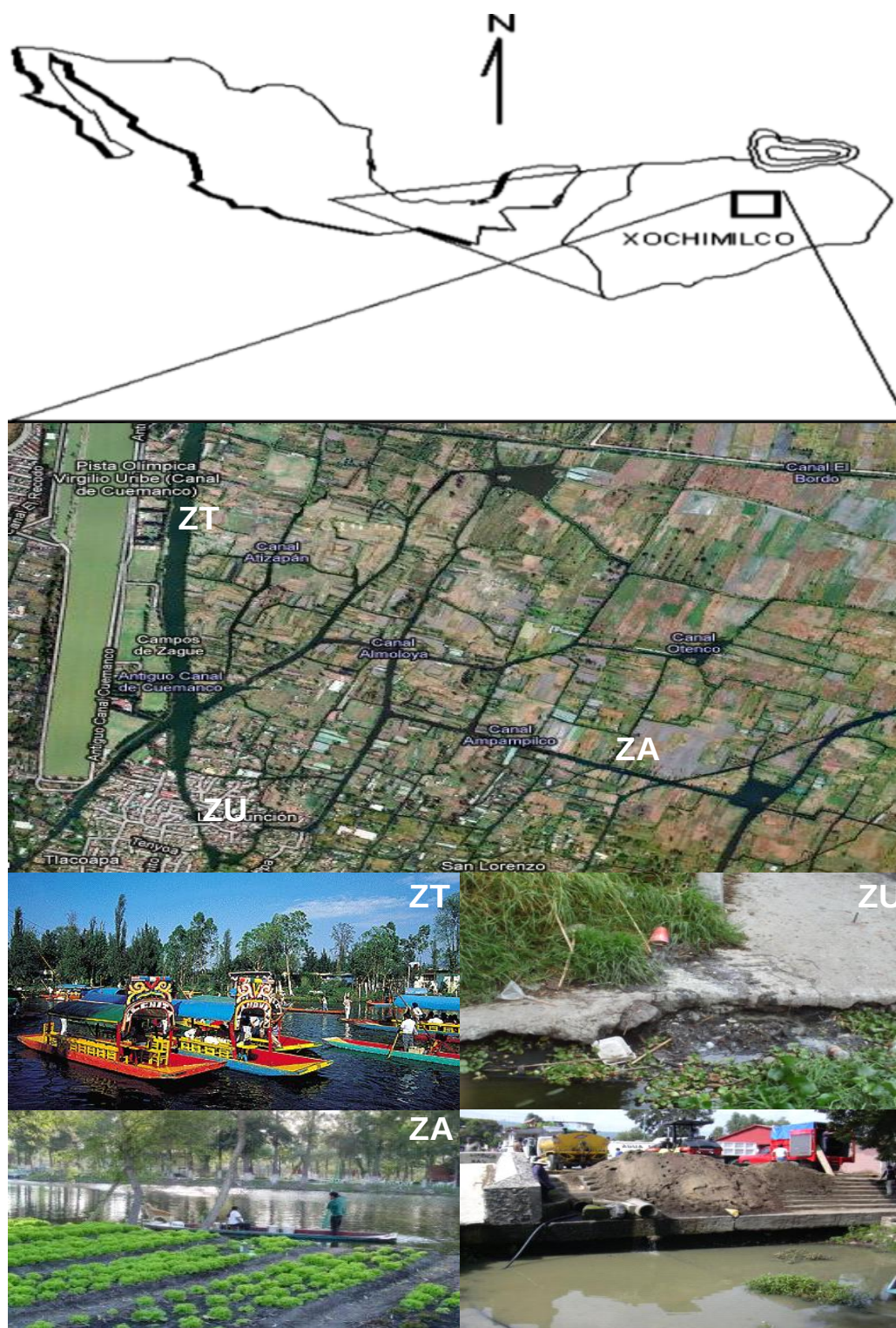


Figura. 4. Sitios de estudio en el lago de Xochimilco, Zona Urbana (ZU), zona Turística (ZT) y Zona Agrícola (ZA).

7.2. Trabajo de campo

Se realizaron cuatro campañas de muestreo, en los meses de mayo, agosto y noviembre del 2009 y febrero del 2010, en los tres sitios referidos: zona urbana, zona turística y zona agrícola del sistema lacustre de Xochimilco. En cada estación de estudio se recolectaron muestras de agua por duplicado en recipientes plásticos de 500 mL para el análisis de la calidad del agua y además, se recolectaron muestras de agua para la realización de los bioensayos, en recipientes de plástico de 5 L y se registraron los siguientes parámetros *in situ*, usando una sonda Quanta multiparametrica: oxígeno disuelto (mg/L) conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), turbidez (UFT).

7.3. Trabajo de laboratorio

7.3.1. Parámetros de la calidad del agua

Los parámetros químicos determinados en el laboratorio para la calidad del agua fueron: los nitritos (mg/L), los nitratos (mg/L), el amoníaco (mg/L), los ortofosfatos (mg/L), el fósforo total (mg/L), los sulfatos (mg/L), el color (unidades Pt-Co) y el nitrógeno total (mg/L); mediante las técnicas del espectrofotómetro HACH DLR/2500. La dureza (mg/L), se determinó por titulación, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5 , mg/L) y la concentración de cloruros (mg/L), de acuerdo a las técnicas analíticas recomendadas por la APHA (2005). Las coliformes totales y fecales, se analizaron por el método del número más probable, de acuerdo con el método 8001 de la APHA, (2005).

Se determinó la concentración de los siguientes metales pesados en el agua de cada uno de los sitios de estudio y por periodos de muestreo: plomo (mg/L), cadmio (mg/L), zinc (mg/L) y el metaloide arsénico (mg/L), por el método de flama utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC 932 plus), como lo señala la norma mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001.

7.3.2. Inhibición del crecimiento algal

7.3.2.1. Preparación del inóculo

El alga *A. falcatus* se obtuvo de los cultivos del laboratorio 16 del Departamento de Farmacología, del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Estos cultivos son de tipo estático de acuerdo con el método de Rippka *et al.*, (1979).

El bioensayo con *A. falcatus*, fue de tipo estático, siguiendo el procedimiento del protocolo estandarizado (ISO 8692, 2004) donde se inocularon 50 µl que contenía 19600 células/mL ($7.847 \pm \text{SD}$) de alga, en tubos de vidrio con 10 mL de agua de los sitios de estudio (6 réplicas). El agua fue previamente filtrada a través de una membrana de 0.40 µ y esterilizada para eliminar todos los organismos que pudieran interferir en el crecimiento de las células. Todos los tubos de vidrio utilizados en el bioensayo se lavaron con detergente libre de fosfatos y después se enjuagaron con agua destilada. El periodo de incubación del bioensayo fue de 72 horas.

Se calculó la tasa de crecimiento por día (μ día⁻¹); de acuerdo a la siguiente ecuación (NEARP y EPA, 1971):

$$\mu = \ln(f_2/f_1) / (t_2 - t_1)$$

Donde: μ = tasa de crecimiento día⁻¹, t_1 es el tiempo de inicio, t_2 es el tiempo cuando se alcanzó la fase estacionaria, f_2 es la absorbancia al t_2 , f_1 es la absorbancia al t_1 .

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento algal, se tomaron lecturas de absorbancia (de cada una de las réplicas) durante el inicio del cultivo y posteriormente cada 24 horas hasta el término del bioensayo (fase estacionaria), mediante la ayuda de un espectrofotómetro Hach DRL 2500 a una longitud de onda de 620 nm.

El potencial de inhibición/estimulación del crecimiento algal se determinó a partir del promedio de la absorbancia de las seis réplicas de cada sitio de estudio, estas absorbancias fueron transformadas al número de células, después de la enumeración de las células del alga en varias concentraciones empleando una cámara Neubauer. La inhibición se calculó con base a la tasa de crecimiento específico (μ) de muestras del ensayo y el control, de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$I\mu_i = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} * 100$$

Donde: $I\mu_i$ es el porcentaje de inhibición para la concentración de la prueba i , μ_i es la tasa de crecimiento promedio para la concentración de la prueba i , μ_c es la tasa de crecimiento promedio para el control.

7.3.2.2 Pruebas bioquímicas en *Ankistrodesmus falcatus* y *Hyalella azteca*

Para la determinación del nivel de lipoperoxidación, el contenido de proteínas y la actividad de las enzimas anitoxidantes, CAT, SOD y GPx en *A. falcatus*, se montaron bioensayos estáticos a temperatura ambiente $21^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y por periodos de 96 horas. El bioensayo consistió en inocular 50 μL que contenía 19600 células/mL (± 7.847 SD) de alga, en tubos de vidrio con 10 mL de agua de los sitios de estudio (6 réplicas), las muestras de agua fueron previamente filtradas a través de una membrana de 0.40 μ y esterilizadas. Al término del bioensayo las algas se centrifugaron a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 minutos; se decantó el sobrenadante y se realizaron homogeneizados al 10% por duplicado en buffer de fosfatos pH 7.4, usando un homogeneizador eléctrico (Biospecific product, Inc. Model 398).

Para la determinación de la batería de biomarcadores en *H. azteca*, se montaron bioensayos estáticos con aireación constante y a temperatura de $21^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por periodos de 96 horas. Se expusieron 100 ejemplares de *H. azteca* al agua de los diferentes sitios de estudio por duplicado, en frascos de 500 mL. Al finalizar el periodo de exposición se realizaron homogeneizados al 10% por duplicado, con los organismos expuestos, empleando buffer de fosfatos pH 7.4, usando un homogeneizador eléctrico ya especificado. Todas las pruebas bioquímicas se determinaron en los dos organismos de estudio, mediante un espectrofotómetro Coleman 54; Spectronic 20-D. El contenido de proteína de cada muestra se obtuvo mediante el método de Bradford, (1976) usando albúmina bovina sérica

como estándar, su absorbancia se midió a 595 nm y se determinó el contenido de las proteínas.

El nivel de lipoperoxidación se determinó en alícuotas de los homogeneizados al 10%, por el método de Buege y Aust (1978). A 300 μ L del homogeneizado se le agregaron 700 μ L de Tris-HCl 150 mM, pH 7.4, la mezcla se incubó a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, se le agregó 2 mL de ácido tiobarbitúrico al 0.375% disuelto en ácido tricloroacético al 15% y se calentó a ebullición por 45 minutos. La mezcla se dejó enfriar y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos, la absorbancia de cada alícuota se midió a 532 nm y el nivel de LPO se expresó como nanomoles de malondialdehído por miligramos de proteínas (MDA mg^{-1} proteína) usando un coeficiente de extinción molar de $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para determinar la actividad de la CAT se empleó el método de Cohen *et al.*, (1970), colocando 0.5 mL del homogeneizado al 10% en un tubo de ensayo e iniciando la reacción enzimática agregando 5 mL de H_2O_2 6 mM fría, agitando la mezcla. La reacción se detuvo después de tres minutos, agregando 1 mL de ácido sulfúrico 6 N, posteriormente se le añadió 7 mL de permanganato de potasio (KMnO_4) 0.01 N, mezclándose y el residuo de KMnO_4 se midió a 480 nm. La actividad de la catalasa se calculó como la constante de la reacción de primer orden de la descomposición del H_2O_2 ($K \times 10^2 \text{ min}^{-1}$).

La actividad de la SOD fue determinada por el método de Sun *et al.*, (1988), tomando alícuotas de 1.5 mL del homogeneizado al 10% y filtrando a través de una gasa y centrifugando a 3000 rpm por 5 minutos a 4°C. De este sobrenadante se tomaron 0.5 mL y se le agregaron 1.5 mL de agua tridestilada, posteriormente se añadieron 8 mL de la mezcla 3:5 cloroformo/etanol. La mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C, 0.5 mL, el sobrenadante se transfirió a 2.5 mL de la mezcla que contenía xantina 0.1 mM, ácido dietilentriaminopentaacético (DETAPAC) 1 mM, 50 mg de albúmina bovina sérica, nitroazul tetrazolio 25 µM, ácido disulfónico bathocuproine 250 µM y carbonato de sodio 40 mM, pH 10.2. La reacción se inició por la adición de 20 U/mL de xantina oxidasa y los tubos se incubaron a 25°C durante 20 minutos. La reacción terminó al añadir 1 mL de cloruro cúprico 0.8 mM; la absorbancia de la mezcla se midió a 560 nm y la actividad de la SOD fue calculada como Umg^{-1} de proteína.

La actividad de la GPx se determinó mediante el método de Lawrence y Burk (1976), usando el hidroperóxido de cumeno como sustrato. Una alícuota de 1.5 mL del homogeneizado al 10%, se filtró a través de una gasa y se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos a 4°C. La mezcla de reacción contenía 200 µL del sobrenadante del homogeneizado y 2 mL de buffer de fosfatos 75 mM, pH 7.0, 50 µL de glutatión 60 mM, 0.1 mL de la glutatión reductasa 30 U/mL, 0.1 mL de la sal disódica de EDTA 15 mM; 0.1 mL del fosfato de B-nicotinamida adenina dinucleótido (NADPH) 3 mM, y 0.3-0.45 mL de H₂O. El volumen final de la mezcla fue de 3.0 mL. La reacción se inició por la adición de 0.1 mL de H₂O₂ 7.5 mM. La conversión de NADPH a NADP⁺ fue medida continuamente en un

espectrofotómetro a 340 nm por 4 min. La actividad de la GPx fue expresada como nmol de NADPH oxidado a NADP⁺/min.mg., de proteína utilizando un coeficiente de extinción de $6.22 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para el NADPH.

Se cuantificó la acetilcolinesterasa en *H. azteca*, mediante la técnica de Hestrin, (1949), en alícuotas de 1 mL del homogeneizado al 10%, con 3 mL Tris-HCl, pH 7 y esta mezcla se centrifugó a 3500 rpm por 15 minutos a 4°C. Del sobrenadante se tomó 1 mL y se adicionaron 2 mL del buffer Tris-HCl 0.02 N, pH 7 y 1 mL de solución de acetilcolina 8 mM, se agitó y se dejó en incubación a 25°C durante 20 minutos, posteriormente se agregó 1 mL de solución de hidroxilamina alcalina 2 M, 1 mL de ácido clorhídrico 4 N, 1 mL de cloruro férrico 0.37 M disuelto en HCl 0.1 N, la mezcla se agitó y se centrifugó por 5 minutos a 3000 rpm, la absorbancia de las muestras se midió a 540 nm.

7.4. Índice de calidad del agua (ICA)

Con los resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ* y las determinaciones en laboratorio, se obtuvo el subíndice de la calidad para cada parámetro y se aplicó la fórmula del IGP de Dinius (1987), de calidad del agua para cada sitio de estudio:

$$ICA = \prod_{i=1}^n I_i^{w_i}$$

Donde:

ICA = Índice de calidad del agua

I_i = Subíndice de calidad para el *i*-ésimo parámetro y, $0 \leq i \leq 100$.

w_i = Peso de importancia del *i*-ésimo parámetro y, $\sum w_i = 1$

n = Número de parámetros

Las funciones para la obtención de los subíndices de la calidad del agua de cada parámetro involucrado I_i , se enlistan a continuación:

$$I_{OD} = 0.82 \left(\frac{OD}{5} \right)^{+10.56}$$

Oxígeno disuelto

$$I_{DBO} = 108 \left(\frac{DBO}{5} \right)^{-0.3494}$$

Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)

$$I_{NO_3} = 125 \left(\frac{NO_3}{5} \right)^{-0.2718}$$

Nitrógeno de nitratos (mg/L)

$$I_{ColTot} = 136 \left(\frac{ColTot}{5} \right)^{-0.1311}$$

Coliformes totales (NMP/100 mL)

$$I_{Col Fec} = 106 (E.coli)^{0.1286}$$

Escherichia coli (coli/ mL)

$$I_{ALC} = 110 (ALC)^{0.1342}$$

Alcalinidad (mg/L)

$$I_{DUR} = 552 (DUR)^{0.4488}$$

Dureza total (mg/L)

$$I_{Cloruros} = 391 (Cloruros)^{0.4488}$$

Cloruros (mg/L)

$$I_{T^{\circ}C} = 10^{2.004 - 0.0382|T_a - T_s|}$$

Temperatura (°C)

$$I_{COND} = 506 (COND)^{0.3315}$$

Conductividad eléctrica (μS/cm)

$$I_{pH} = 10^{0.6803 + 0.1856(pH)} \quad \text{para } pH < 6.9$$

Potencial de hidrógeno (unidades)

$$I_{pH} = 100 \quad \text{para } 6.9 \leq pH \leq 7.1$$

$$I_{pH} = 10^{3.65 - 0.2216(pH)} \quad \text{para } pH > 7.1$$

$$I_{Color} = 127 (Color)^{0.2394}$$

Color (Unidades Pt-Co)

Los valores de ponderación para cada parámetro están dados en una escala de 0 a 1 y son los siguientes (Dinius, 1987):

Valores de ponderación para las sub-funciones del ICA.

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
Oxígeno disuelto	0.109	Alcalinidad	0.063
Demanda bioquímica de Oxígeno	0.097	Cloruros	0.074
Coliformes totales	0.090	Conductividad eléctrica	0.079
Coliformes fecales	0.116	Potencial de hidrógeno	0.077
Nitrógeno de nitratos	0.090	Temperatura	0.077
Dureza total	0.065	Color	0.063

Este índice de calidad del agua presenta una escala de 0 a 100, correspondiendo el valor de cero al nivel de calidad más bajo y el de cien al más alto, y su calificación varía en base en el uso asignado, real o propuesto para el cuerpo de agua.

7.5. Análisis estadístico

Se determinó la diferencia significativa del nivel de lipoperoxidación y la actividad de las enzimas antioxidantes entre los sitios de estudio y periodos de muestreo (mayo, agosto y noviembre 2009 y febrero 2010), en *A. falcatus* e *H. azteca*, mediante un análisis de varianza factorial ANOVA de una vía considerando como diferencia significativa una probabilidad de ($p < 0.05$). Para comparar con el control, entre sitios de estudio y meses de muestreo se utilizó el método de Fisher.

7.6. Respuesta integrada de biomarcadores

Para el cálculo de la respuesta integrada de biomarcadores (RIB), cada uno de los valores obtenidos de los biomarcadores propuestos fueron normalizados y estandarizados mediante el método propuesto por Beliaeff y Burgeot (2002), que permite analizar de manera sencilla datos múltiples mediante el uso de gráficas de estrella. El método permite obtener una respuesta integrada de las variables estudiadas en un valor numérico sin establecer asociaciones entre éstas; además, identifican en tiempo y espacio, que variable contribuye más a la respuesta integrada.

7.7. Análisis de datos

El análisis de las variables estudiadas y las variables respuesta de los organismos de estudio se evaluó mediante un análisis de redundancia (RDA) que permitió identificar aquellas variables que contribuyeron a la respuesta en *A. falcatus* y en *H. azteca*. Para la realización de este análisis se construyeron matrices con las variables a analizar (variables ambientales y metales pesados) y las variables respuesta, por sitio y temporadas de muestreo. Estas variables fueron transformadas logarítmicamente con $Y_{ij} = \text{Log}(X_{ij} + 1)$, y se utilizó el Software XLSTAT-Pro 2010.

8. Resultados

8.1. Características fisicoquímicas del agua

Se encontraron diferencias significativas en las variables conservativas determinadas en cada uno de los sitios analizados de la zona lacustre de Xochimilco entre los periodos de muestreo. Los valores de la dureza oscilaron entre 64 y 120 mg/L de CaCO_3 , por otro lado, la alcalinidad fluctuó de 137.6 a 288.4 mg/L. La concentración de los cloruros registró valores de 55 a 83 mg/L y la conductividad fluctuó entre 710 y 920 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Así mismo, la concentración de sólidos disueltos totales fluctuó de 0.255 a 0.355 mg/L (Tabla 1). Se observó que los valores de estas variables se incrementaron significativamente durante los meses de noviembre y febrero (temporada de sequía). Por otro lado, los sólidos suspendidos totales, los sólidos disueltos totales y la concentración de sulfatos presentaron pocas fluctuaciones significativas, sin embargo, persisten durante los cuatro periodos de muestreo (Tabla 1). Por lo tanto, el agua de los sitios de estudio tiende a ser levemente dura acentuándose más durante los meses fríos ó de estiaje.

El pH en los sitios de estudio osciló entre 7.9 y 9.5, sin embargo, el valor significativamente más bajo de 5.6 se registró en el mes de noviembre en la ZU. Esto probablemente se debió a las descargas domésticas que afectaron la recolecta de agua en el momento de muestreo. Por otro lado, la ZU presentó valores de pH de 8.5 durante los meses de mayo y agosto, en las ZT y ZA se registraron los valores más altos significativamente de pH con 9.5, durante el mes de febrero. En los meses de mayo y agosto período de lluvias y con las temperaturas más cálidas se observó una disminución de la

dureza, la alcalinidad y la conductividad del agua, a diferencia de los meses de noviembre y febrero (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos conservativos de calidad del agua (valores promedio $\pm$ desviación estándar, (*) diferencia significativa entre sitios por meses de estudio, el nivel de significancia fue $p < 0.05$), en el sistema lacustre de Xochimilco durante un ciclo anual (2009-2010).

SITIOS DE ESTUDIO	MESES DE MUESTREO	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	Cloruros (mg/L)	Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	Sólidos Disueltos Totales (mg/L)	Color (mg/L Pt-Co)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Sulfatos (mg/L)	pH	Alcalinidad (mg/L CaCO_3)
ZONA URBANA	MAYO	786	56.98 ($\pm$)	33 ($\pm$) *	315 ($\pm$)	61 ($\pm$) *	69 ($\pm$) *	53.5 ($\pm$)	8.5	184.4 ($\pm$) *
	AGOSTO	713	55.78 ($\pm$) *	22 ($\pm$)	265 ($\pm$) *	56 ($\pm$)	80 ($\pm$) **	59 ($\pm$)	8.5	137.6 ($\pm$) *
	NOVIEMBRE	903	76.17 ($\pm$)	19.5 ($\pm$)	345 ($\pm$)	79 ($\pm$) **	120 ($\pm$)	49 ($\pm$) *	5.6	255.6 ($\pm$)
	FEBRERO	852	78.57 ($\pm$) **	48.5 ($\pm$) **	335 ($\pm$)	52.5 ($\pm$)	105 ($\pm$)	53.5 ($\pm$)	7.9	260.4 ($\pm$)
ZONA TURÍSTICA	MAYO	785	63.98 ($\pm$)	102.5 ($\pm$) **	320 ($\pm$)	110 ($\pm$) **	64 ($\pm$)	56 ($\pm$)	8.4	188 ($\pm$)
	AGOSTO	662	57.58 ($\pm$) *	49 ($\pm$) *	255 ($\pm$) *	49 ($\pm$)	70 ($\pm$)	65.5 ($\pm$)	8.7	184 ($\pm$)
	NOVIEMBRE	910	72.97 ($\pm$)	37.5 ($\pm$)	350 ($\pm$)	85 ($\pm$) *	93 ($\pm$) *	38 ($\pm$) *	7.9	278 ($\pm$) *
	FEBRERO	860	83.77 ($\pm$)	34.5 ($\pm$)	345 ($\pm$)	32.5 ($\pm$)	111 ($\pm$) **	60 ($\pm$)	9.5	255.2 ($\pm$) **
ZONA AGRÍCOLA	MAYO	810	59.18 ($\pm$) **	196 ($\pm$) **	320 ($\pm$)	127 ($\pm$) **	76.5 ($\pm$)	60 ($\pm$)	8.6	212 ($\pm$)
	AGOSTO	710	57.38 ($\pm$)	29 ($\pm$)	270 ($\pm$) *	59 ($\pm$)	76 ($\pm$)	63.5 ($\pm$)	8.6	172.8 ($\pm$) *
	NOVIEMBRE	920	77.37 ($\pm$) **	36 ($\pm$)	355 ($\pm$) **	81.5 ($\pm$) **	97 ($\pm$) *	57.5 ($\pm$)	8	288.4 ($\pm$) ***
	FEBRERO	872	79.77 ($\pm$) **	64 ($\pm$) *	345 ($\pm$)	50.5 ($\pm$)	99 ($\pm$) *	67.5 ($\pm$)	9.2	261.2 ($\pm$) **

Los valores de los nitratos fluctuaron de 1.5 a 4.2 mg/L y la zona urbana tuvo los valores más altos significativamente con respecto a los otros dos sitios de estudio, durante los meses de agosto, noviembre y febrero. Por otra parte, la zona turística presentó los valores más bajos de nitratos, 1.50 y 1.70 mg/L en mayo y agosto, respectivamente. Las concentraciones de amoníaco fueron menores comparadas con las de los nitratos, en los tres sitios de estudio, estas concentraciones variaron desde 0.62 hasta 2.3 mg/L. Sin embargo, presentaron un patrón similar al de los nitratos, ya que en el mes de mayo se

apreciaron valores significativos de amoníaco en los tres sitios, decreciendo paulatinamente hacia el mes de febrero. Los nitritos presentaron una variación significativa durante los meses de muestreo, en los tres sitios de estudio. La ZU presentó la concentración más alta de nitritos (0.12 a 0.31 mg/L) en las cuatro temporadas de muestreo; mientras que la ZA presentó las concentraciones más bajas en todo el periodo de estudio (0.049 a 0.066 mg/L) (Fig. 5A). Por otro lado, los valores de nitrógeno total en los tres sitios de estudio fueron significativamente altos en los meses de febrero y agosto, estas concentraciones variaron desde 25 hasta 55 mg/L, así mismo la ZA y la ZU presentaron los valores más altos de nitrógeno total durante el mes de febrero (55 y 37 mg/L) respectivamente. La concentración más baja registrada de nitrógeno total se observó durante el mes de noviembre en los tres sitios analizados (Fig. 5B).

La concentración del ortofosfato en la ZU osciló entre 5.71 a 6.22 mg/L y sus valores más altos se registraron durante los meses de mayo y febrero, en la ZT los ortofosfatos fluctuaron entre 3.33 y 6.66 mg/L, incrementando sus valores hacia los meses de noviembre y febrero, mostrando su valor más bajo significativamente en el mes de agosto (3.33 mg/L). En la ZA, la concentración de ortofosfatos se encontró en el intervalo de 5.49 a 6.49 mg/L, registrando su concentración más bajo durante el mes de agosto (Fig. 5C). Por otra parte, los valores de fósforo total fueron significativamente altos en la ZU (6.77 a 10.02 mg/L), resaltando los meses de mayo y febrero respectivamente con la concentración más alta. El fósforo total en la ZT osciló entre 4.17 a 8.38 mg/L y durante el mes de agosto presentó su valor más bajo. En la ZA, el fósforo total fluctuó entre 7.47 a 10.36 mg/L y su valor más bajo

se observó durante el mes de agosto, así mismo, su mayor concentración se apreció durante el mes de febrero (Fig. 5C).

El oxígeno disuelto observado fue alto en la ZT durante los cuatro periodos de estudio donde los valores oscilaron en intervalos de 8.49 a 10 mg/L. Sin embargo, disminuyó en la ZU de manera significativa con valores de 3.5 y 2.81 mg/L en los meses de mayo y agosto respectivamente. Por otro lado, la ZA no mostró gran variación en cuanto a los valores de oxígeno disuelto durante agosto y febrero, pero durante el mes de noviembre aumentó su concentración hasta 11.82 mg/L (Fig. 5E). La demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), mostró sus valores más altos durante el mes de mayo en las tres zonas de estudio con valores de 26.56 para la ZU, 24.52 para la ZT y 24.18 para la ZA. Además, durante el mes de febrero, la ZA registró el valor más alto de la DBO_5 (49.87), con respecto a los otros dos sitios de estudio (Fig. 5F).

Las coliformes totales estuvieron presentes en los tres sitios de estudio y durante todo el ciclo anual de muestreo. Sin embargo, en el mes de agosto se presentó la densidad más baja de coliformes totales en los tres sitios con valores de 280 NMP para las ZT y ZA y 500 NMP en la ZU. Así mismo, el análisis de las coliformes fecales mostró que estos fueron mayores en la ZU en los meses de noviembre y mayo con una densidad de 280 y 350 NMP, respectivamente, en comparación con los meses de agosto y febrero. Las coliformes fecales en las ZT y ZA presentaron una densidad baja de 2 a 23 NMP comparada con la observada para la ZU (Fig. 5D).

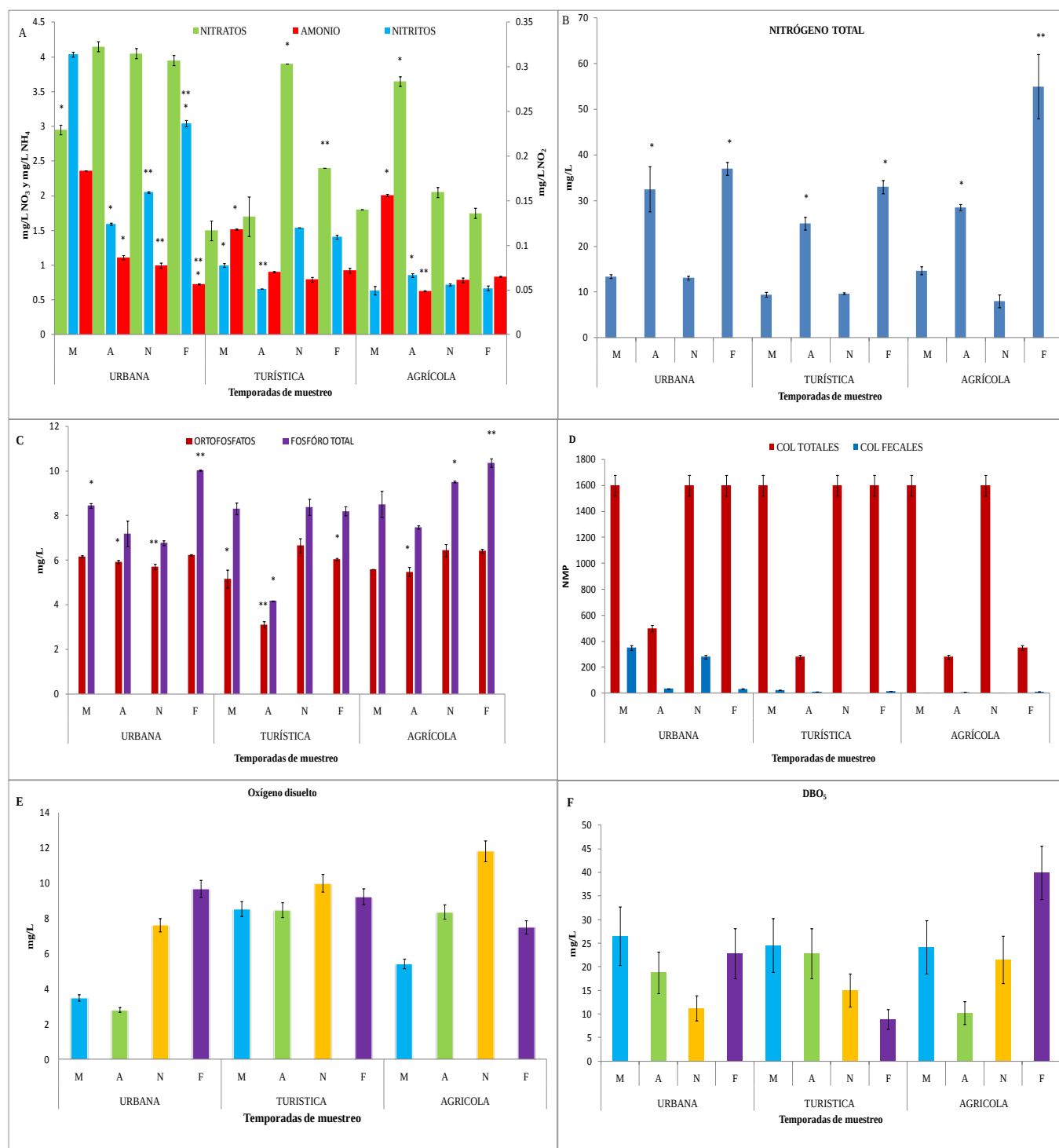


Figura 5. Parámetros de calidad del agua del sistema lacustre de Xochimilco en los tres sitios de estudio durante un ciclo anual (mayo, agosto y noviembre de 2009 y febrero 2010), las barras representan el promedio $\pm$ desviación estándar, (*) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.2. Índice de calidad del agua

El Índice de calidad de agua (ICA) fluctuó de 56 a 68; mostrando diferencias entre los sitios y los periodos de estudio. La ZU fue la que presentó el índice más bajo (56) durante el mes de mayo del 2009 y su valor más alto (60) se observó en febrero. En la ZT, el ICA fluctuó entre 61 y 68, registrando su índice más bajo (61) durante el mes de febrero y en noviembre se registró su valor más alto (68). La ZA registró su valor más bajo durante el mes de febrero de 2010 con un índice de 56, sin embargo, para los meses de mayo, noviembre y agosto el valor del ICA fluctuó entre 62 y 66, siendo el mes de agosto el que registró el ICA más alto (Fig. 6).

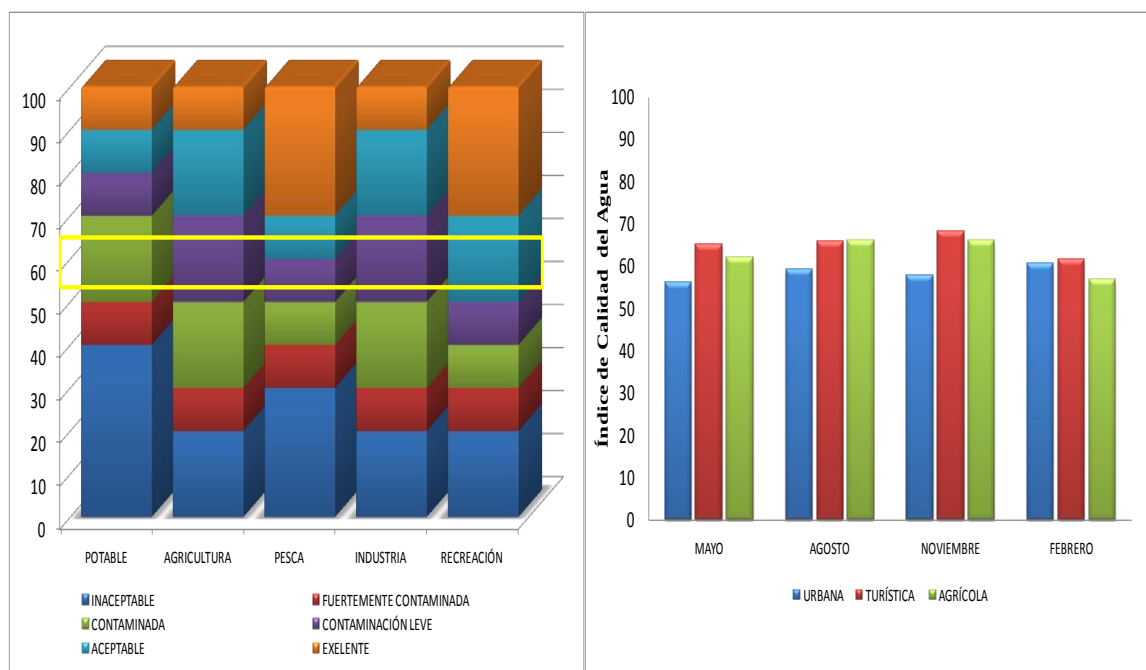


Figura 6. Índice de Calidad del Agua del sistema lacustre de Xochimilco por sitio y temporada de muestreo durante un ciclo anual (mayo, agosto, noviembre 2009 y febrero 2010); la franja amarilla indica los intervalos en los que fluctúa el ICA en el sistema lacustre de Xochimilco.

De acuerdo al ICA determinado el lago presenta agua muy contaminada para uso potable; sin embargo, puede ser utilizada para la mayoría de los riegos de cultivos y en actividades industriales.

8.3. Concentración de algunos metales pesados en al agua del sistema lacustre de Xochimilco

En cuanto a los metales pesados analizados en al agua de los sitios de estudio, el plomo se observó en los tres sitios durante los cuatro meses de muestreo. Sin embargo, las concentraciones de este metal no rebasaron los límites establecidos por la NOM-001-ECOL-1996. Las concentraciones del cadmio fueron elevadas y rebasaron los límites permisibles en algunos sitios como en las tres zonas ZU, ZT y ZA en el mes de mayo, así como en la ZU y ZA del mes de agosto y la ZT de los meses de noviembre y febrero. El Zn presentó concentraciones elevadas, en las ZU y ZA durante el mes de mayo, así como en la ZT y ZA en el mes de agosto y en la ZA durante los meses de noviembre y febrero. Por otro lado, el metaloide arsénico se observó en los tres sitios de estudio durante los meses de noviembre y febrero, sin embargo, sus concentraciones no rebasaron los límites permisibles para este metaloide de acuerdo con la NOM-001-ECOL-1996 (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración de metales pesados en agua de los sitios analizados de la zona lacustre de Xochimilco, durante mayo, agosto, noviembre 2009 y febrero 2010.

MESES DE MUESTREO	SITIOS DE ESTUDIO	CONCENTRACIÓN DE Pb (mg/L)	CONCENTRACIÓN DE Cd (mg/L)	CONCENTRACIÓN DE Zn (mg/L)	CONCENTRACIÓN DE As (mg/L)
MAYO	ZU	0.40	1.16	9.4	N.D.
	ZT	0.36	1.14	N.D.	N.D.
	ZA	0.32	1.07	4.6	N.D.
AGOSTO	ZU	0.34	1.61	N.D.	N.D.
	ZT	0.31	0.05	4.8	N.D.
	ZA	0.33	1.16	4.4	N.D.
NOVIEMBRE	ZU	0.44	0.09	N.D.	0.06
	ZT	0.40	2.40	N.D.	0.09
	ZA	0.38	N.D.	4.2	0.08
FEBRERO	ZU	0.40	N.D.	N.D.	N.D.
	ZT	0.33	1.55	N.D.	0.62
	ZA	0.43	0.38	2.7	1.37

8.4. Inhibición/estimulación del potencial de crecimiento algal

Para el mes de mayo, los bioensayos con el alga *A. falcatus* en los tres sitios de estudio mostraron inhibición del crecimiento algal con respecto al control, con valores de (-470.6, -269.2 y -192%) en la ZU, ZT y ZA, respectivamente (Fig. 7A). En el mes de agosto, el bioensayo con *A. falcatus* mostró inhibición del crecimiento sólo en la ZA con un valor de -278.92% mientras que en la ZT y ZU presentaron estimulación del crecimiento con valores de 16.92 y 90.2%, respectivamente (Fig. 7B). En el mes de noviembre sólo se presentó inhibición del crecimiento en *A. falcatus* en el bioensayo de la ZU (-523.22%), mientras que los sitios ZT y ZA presentaron estimulación del 85.63 y 248.71%, respectivamente (Fig. 7C).

En los bioensayos del mes de febrero *A. falcatus* mostró inhibición del crecimiento en todos los sitios de estudio, con valores de -468.55, -163.59 y -272.23%, respectivamente (Fig. 7D).

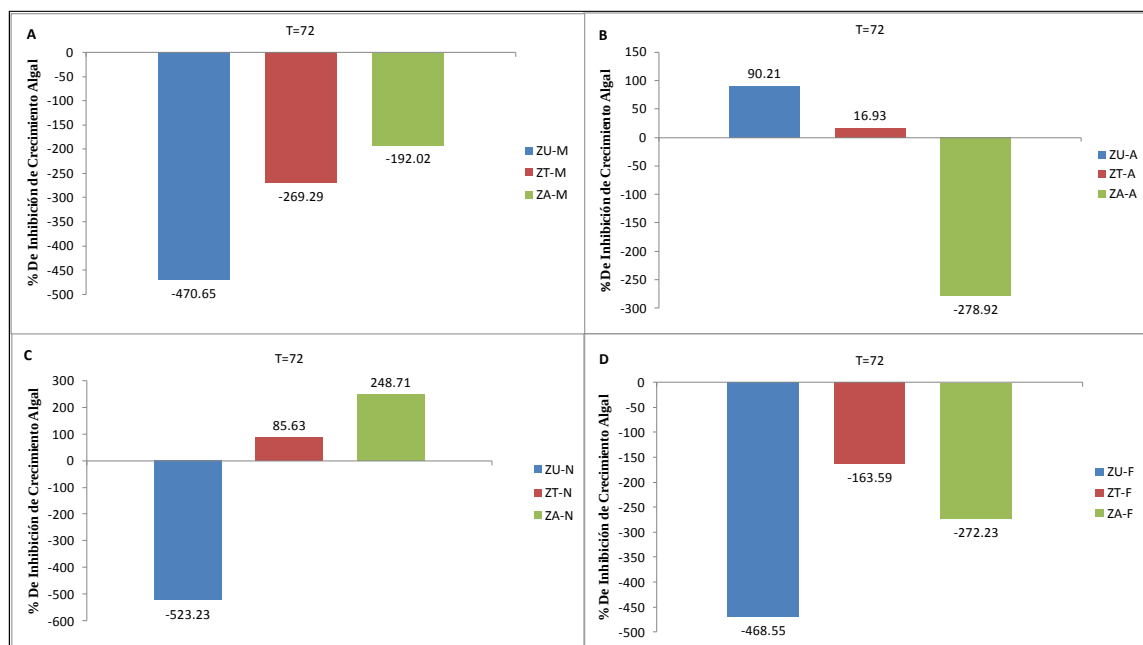


Figura 7. Porcentaje de inhibición/estimulación del crecimiento de *A. falcatus*, a 72 horas. A) mayo, agosto, C) noviembre, 2009 y D) febrero 2010, en aguas de la zona lacustre de Xochimilco.

8.5. Respuestas bioquímicas en *Ankistrodesmus falcatus*

8.5.1. Nivel de lipoperoxidación en *A. falcatus*

Durante el mes de mayo, el nivel de LPO en el alga expuesta al agua de la ZU alcanzó valores cuatro veces mayores a los del control, siendo significativa la diferencia encontrada ($p < 0.05$). Las algas expuestas a las aguas de la ZA también presentaron diferencia significativa con respecto al control; no así las algas expuestas a las aguas de la ZT en las que no se observó diferencia significativa con respecto a los organismos control. El nivel de LPO en los organismos expuestos a las aguas de la ZU del mes de agosto no

presentó diferencias con respecto al control; sin embargo, se apreció diferencia significativa entre la ZT con respecto al control. Por otro lado, los niveles de LPO de la ZA fueron cinco veces mayores que los determinados para el control (Fig. 8). Los niveles de LPO determinados en los organismos expuestos a aguas de los tres sitios de estudio en el mes de noviembre fueron diferentes comparados con el control, en el mes de febrero los niveles de LPO no fueron significativamente diferentes a los determinados en los organismos control (Fig. 8).

Por otra parte, en el análisis de la LPO de un mismo sitio de estudio en los cuatro períodos de muestreo sólo se encontró diferencia significativa en la ZU del mes de mayo siendo ésta mayor, con respecto a los otros meses de estudio. Los niveles de LPO determinados en el alga expuesta a las aguas de la ZT del mes de agosto y noviembre, fueron diferentes significativamente con los niveles de LPO obtenidos en los organismos expuestos a las aguas de los meses de mayo y febrero (Fig. 8). Por otro lado, los niveles de LPO determinados en los organismos expuestos a las aguas de la ZA, presentaron diferencias significativas en el mes de agosto comparados con los meses de mayo, noviembre y febrero (Fig. 8).

En el análisis de las diferencias entre los tres sitios de estudio por meses de muestreo, se encontró que en mayo y agosto los tres sitios de estudio difirieron significativamente, mientras que en noviembre sólo la ZU y la ZA fueron diferentes significativamente entre sí, mientras que la ZT mostró diferencia significativa con respecto a la ZU y la ZA. Por último, durante el mes de febrero no hubo diferencias significativas entre los sitios de estudio (Fig. 8).

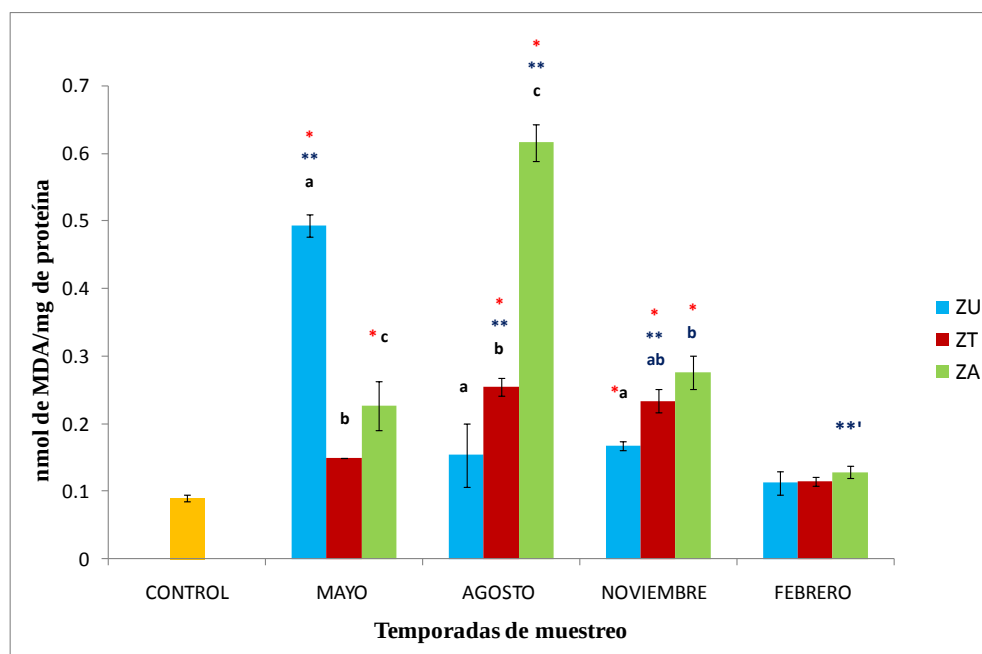


Figura 8. Nivel de lipoperoxidación en *A. falcatus*, durante un ciclo anual, (2009-2010), (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.5.2. Actividad de las enzimas antioxidantes en *Ankistrodesmus falcatus*

8.5.2.1. Actividad de la superóxido dismutasa en *A. falcatus*

La actividad de la SOD en el alga expuesta a las aguas de las ZU y ZT se incrementó significativamente, en los meses de mayo, agosto y noviembre. Por otro lado, en la ZA sólo se encontró mayor actividad de la SOD en el mes de mayo (Fig. 9). Estos valores de actividad fueron significativamente diferentes a los del control. La actividad de la SOD en *A. falcatus*, en cada uno de los sitios de estudio y en diferentes períodos, no mostró diferencia

en la ZU en los meses de agosto y noviembre. Sin embargo, en esta zona durante el mes de mayo se incrementó la SOD significativamente y decreció hacia el mes de febrero.

La actividad de la SOD en *A. falcatus* en la ZT no presentó diferencia significativa en los meses de mayo, agosto y noviembre; pero su actividad disminuyó significativamente en el mes de febrero. En la ZA, la SOD se incrementó en el mes de mayo, con respecto a los meses de agosto, noviembre y febrero (Fig. 9). Por otra parte, la actividad de la SOD entre los tres sitios de estudio, pero en un mismo mes no difirió significativamente en los meses de mayo, noviembre y febrero, sin embargo, en el mes de agosto se observaron diferencias significativas de la actividad de la SOD entre la ZU y la ZT con respecto a la ZA (Fig. 9).

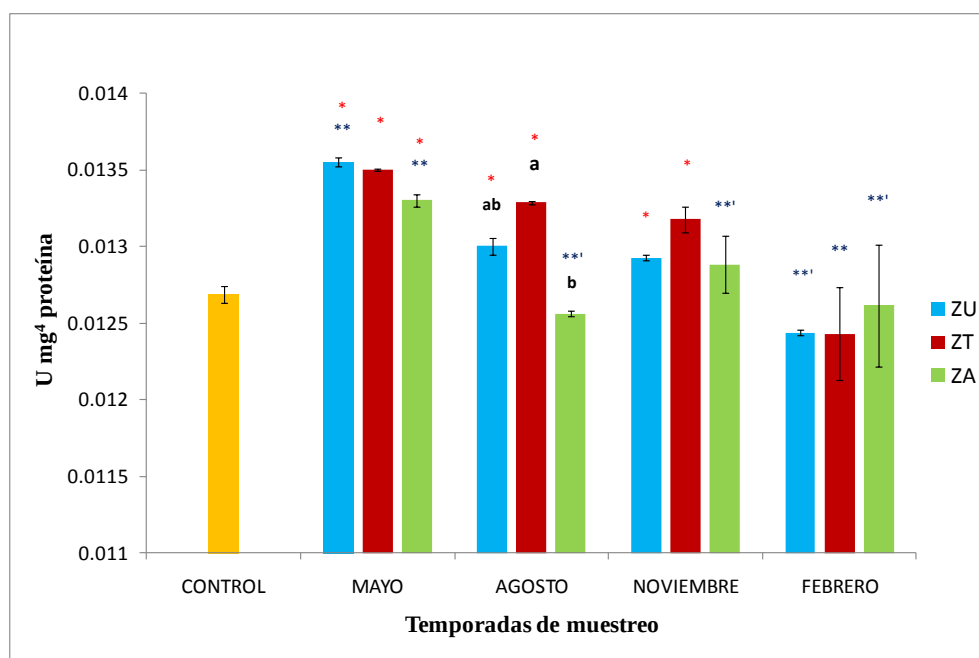


Figura 9. Actividad de la superóxido dismutasa en *A. falcatus*, durante un ciclo anual (2009-2010), (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.5.2.2. Actividad de la catalasa en *A. falcatus*

Los organismos expuestos a las aguas de la ZU mostraron un incremento significativo en la CAT con respecto a los organismos control en los meses de mayo y noviembre; los expuestos al agua de la ZT, incrementaron la actividad de la CAT en los meses de mayo y agosto con respecto al control, así mismo, los ejemplares expuestos a las aguas de la ZA, mostraron valores altos de actividad de la CAT en los meses de agosto y febrero. Estos valores fueron significativamente diferentes con respecto a la actividad determinada en los organismos control (Fig. 10). La CAT determinada en *A. falcatus* expuesta a las aguas de cada uno de los sitios de estudio y en diferentes meses de muestreo, mostró diferencia significativa en la ZU durante los meses de mayo y noviembre con respecto a la CAT determinada en los meses de agosto y febrero. Por otra parte, la CAT en la ZT durante mayo y agosto fue diferente de la CAT obtenida en los meses de noviembre y febrero. En el alga expuesta a las aguas de la ZA se incrementó la CAT durante los meses de agosto y febrero con respecto a los de los meses de mayo y noviembre (Fig. 10). La CAT determinada en el alga *A. falcatus*, en los tres sitios de estudio, pero durante un mismo mes, mostró diferencia significativa en los meses de mayo y febrero, en los organismos expuestos a las aguas de las ZU y ZT comparadas con aquellos expuestos a las aguas de la ZA. Así mismo, la catalasa fue mayor en la ZT y ZA en el mes de agosto con respecto a la CAT de la ZU y durante el mes de noviembre, la actividad de la catalasa en la ZU fue significativamente superior a la actividad de las ZT y ZA (Fig. 10).

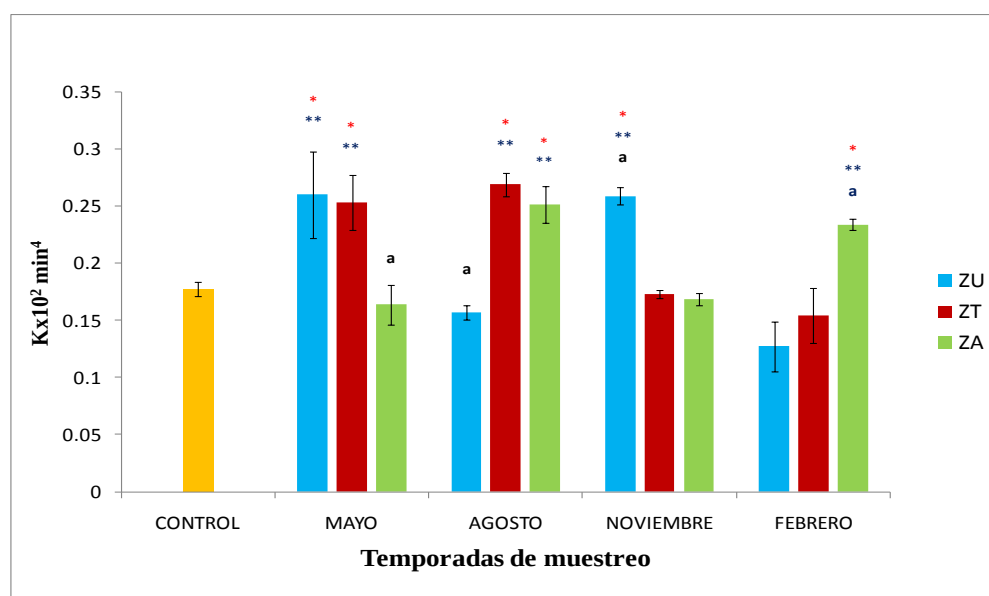


Figura 10. Actividad de la catalasa en *A. falcatus*, durante un ciclo anual (2009-2010), (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.5.2.3. Actividad de la glutatión peroxidasa en *A. falcatus*

La actividad de la GPx en el alga *A. falcatus* expuesta al agua de los tres sitios de estudio, fue significativamente mayor durante todos los meses de muestreo con respecto a la actividad del control, con excepción de los organismos expuestos a la ZA del mes de febrero (Fig. 11). Por otro lado, la actividad de la GPx en *A. falcatus* en los tres sitios de estudio y en diferentes períodos de muestreo, mostró diferencias significativas en la ZU entre los cuatro meses de estudio. Para la ZT, la actividad de la GPx fue mayor en el mes de mayo, comparado con la actividad de los meses de agosto, noviembre y febrero. Sin embargo, la GPx de los meses de agosto y noviembre no fueron diferentes, por otra parte, en la ZA la actividad de la GPx difiere significativamente durante mayo y agosto, con respecto a noviembre y febrero (Fig. 11).

En el análisis entre los sitios por mes de estudio se aprecia que la actividad de la GPx en organismos expuestos al agua de la ZU, difiere significativamente de aquellos que se expusieron al agua de la ZA durante mayo. Así mismo, en los meses de noviembre y febrero, la GPx determinada en los organismos expuestos a las aguas de la ZA difiere significativamente con los expuestos a las aguas de las ZU y ZT (Fig. 11).

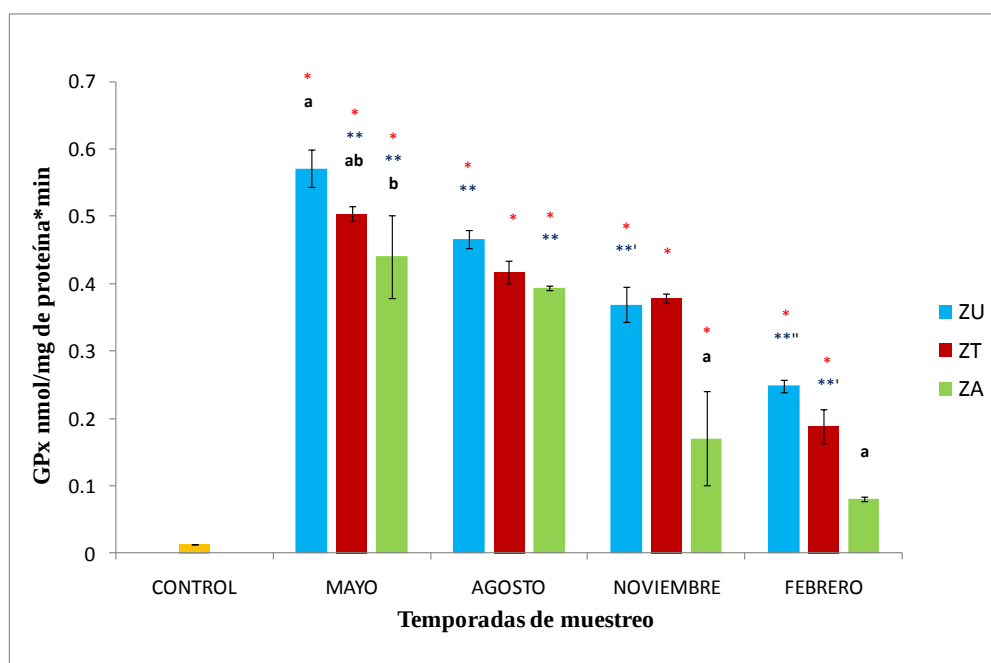


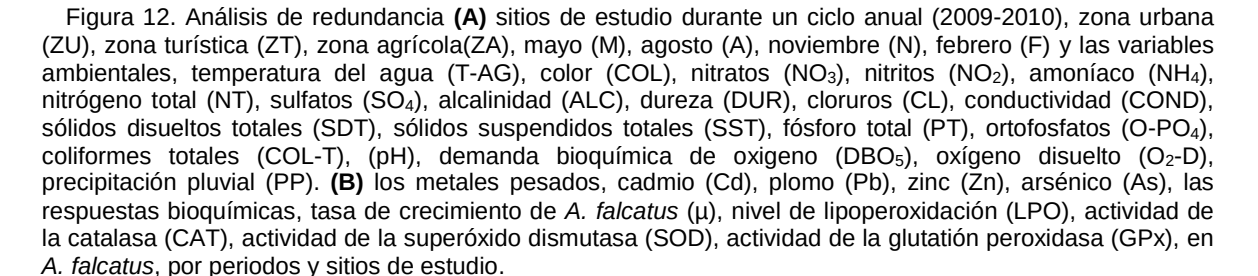
Figura 11. Actividad de la glutatión peroxidasa en *A. falcatus*, durante un ciclo anual 2009 y 2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.5.3. Análisis de variables ambientales, metales pesados y las respuestas bioquímicas en *A. falcatus*

El Análisis de Redundancia (RDA) mostró una segregación de los sitios de estudio por época del año, las variables ambientales más representativas y las respuestas de los biomarcadores alcanzando un 94.50% de la varianza explicada. En los cuadrantes del extremo derecho de la figura 12-A, los sitios ZU, ZT y ZA de los meses de mayo y agosto, así como, la ZT del mes de noviembre, se relacionan con la mayor concentración de nitratos, nitritos y amoníaco, el mayor color, la temperatura más cálida del agua y la mayor precipitación pluvial. En el cuadrante superior izquierdo se encuentra la ZU de los meses de noviembre y febrero, relacionándose con la mayor concentración de coliformes totales, la mayor concentración de sólidos suspendidos totales y la mayor demanda bioquímica de oxígeno. Así mismo, en el cuadrante inferior izquierdo, las ZT y ZA del mes de febrero y la ZA del mes de noviembre están altamente relacionadas con el valor más alto del oxígeno disuelto, la mayor concentración del nitrógeno total, el fósforo total y los ortofosfatos, los cloruros, los sólidos disueltos totales, la mayor alcalinidad, la mayor dureza, la mayor conductividad, la mayor concentración de los sulfatos y el valor del pH más alto (Fig. 12-A).

Con respecto a las respuestas de los marcadores en *A. falcatus* expuesta a las aguas de cada uno de los sitios de estudio y por temporadas de muestreo, se observó que durante los meses de mayor precipitación pluvial, los niveles de la LPO en *A. falcatus* fueron altos, destacando la ZA del mes de agosto y la ZU del mes de mayo, relacionándose estas dos zonas con la mayor concentración del Arsénico. Así mismo, en la temporada de lluvias se

observó la mayor respuesta antioxidante de las enzimas GPx y la CAT y la SOD en las ZU y ZT del mes de agosto, la ZT y la ZA del mes de mayo, persistiendo hasta el mes de noviembre en las ZU y ZT. Esta respuesta antioxidante se encuentra relacionada con la mayor concentración del cadmio en el agua de los sitios de estudio. Además, se apreció una mayor tasa de crecimiento de *A. falcatus* en la ZU, ZT del mes de noviembre, la ZT del mes de agosto y la ZA del mes de mayo (Fig. 12-B). Por otro lado, en el cuadrante inferior izquierdo, la ZT y ZA del mes de febrero y la ZA del mes de noviembre están altamente relacionadas con la mayor concentración del plomo y del Zinc en el agua y la menor tasa de crecimiento de *A. falcatus* (Fig. 12-B).



8.5.4. Respuesta integrada de biomarcadores (RIB) en *Ankistrodemus falcatus*

La RIB en *A. falcatus* por zonas de estudio, mostró que la ZU en el mes de mayo presentó el valor más alto con respecto a las ZT y ZA, donde la GPx y la CAT fueron las enzimas que respondieron en asociación con el incremento de la LPO. Por otro lado, en el mes de agosto, la RIB fue mayor en la ZA con respecto a la ZU y la ZT y los biomarcadores que más aportaron a esta respuesta fueron el nivel de la LPO y la actividad de la GPx y la CAT y en menor medida la SOD, así mismo, en la ZT se apreció que la SOD se vio abatida. La RIB, en el mes de noviembre fue mayor en la ZT contribuyendo a la respuesta el nivel de la LPO, la GPx, la CAT y la SOD. Por otro lado, se observó que en la ZU la LPO disminuyó, en asociación con el incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes. En la ZA la actividad de la SOD se abatió, pero la respuesta la determinó la GPx, la CAT y el nivel de LPO. Durante el mes de febrero, el valor más alto de la RIB se encontró en la ZU y los biomarcadores que contribuyeron a esta respuesta fueron el nivel de LPO, la actividad de las enzimas antioxidantes (GPx, la CAT y la SOD). Para la ZT, la respuesta la determinaron la GPx y la CAT asociadas al nivel de lipoperoxidación. Por otro lado, se observó que la actividad de la SOD se vio abatida. En la ZA disminuyó la actividad de la GPx, sin embargo, se incrementó la actividad de la CAT y la SOD, además del nivel de LPO (Fig. 13). En cuanto a la RIB por periodos de muestreo, se observó la mayor RIB en noviembre (17.42), posteriormente, el mes de febrero con un valor de RIB total de 16.22. La RIB total en el mes de mayo fue de 15.36 y el mes con la menor RIB fue el mes de agosto (13.09). Con respecto a los sitios de estudio, la ZU presentó la RIB más alta durante todo el ciclo anual (24.64); La ZA tiene una RIB total de 18.37 y La ZT presentó la menor RIB total (13.09) (Fig. 13).

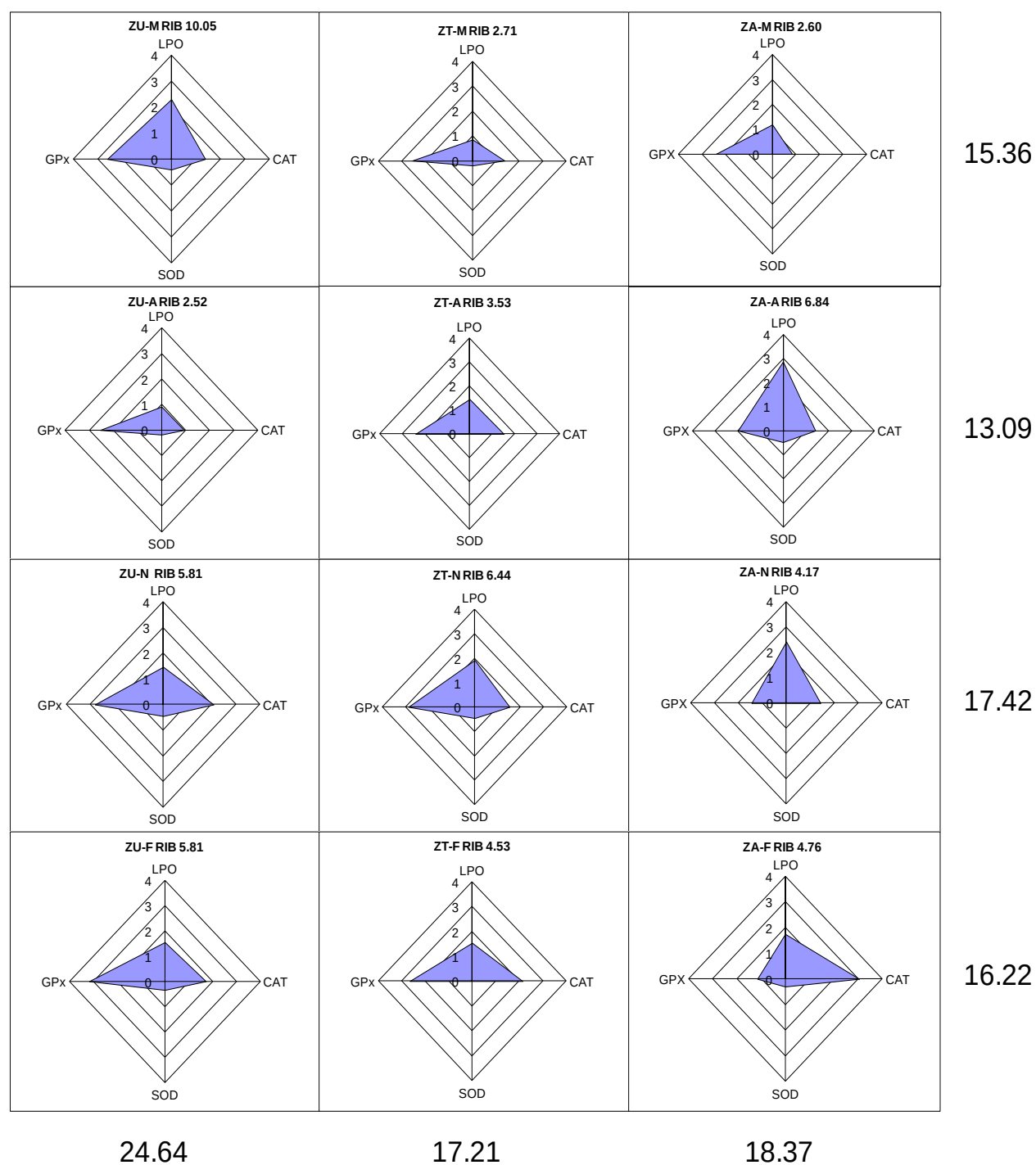


Figura 13. Respuesta Integrada de Biomarcadores (RIB) en *A. falcatus*, durante un ciclo anual (2009-2010), por sitios de estudio y meses de muestreo; zona urbana (ZU), zona turística (ZT), zona agrícola (ZA), mayo (M), agosto (A), noviembre (N), febrero (F), nivel de lipoperoxidación (LPO), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx).

8.6. Respuestas bioquímicas en *Hyallela azteca*

8.6.1. Nivel de lipoperoxidación en *H. azteca*

El nivel de la LPO en los ejemplares de *H. azteca*, expuestos a las aguas de las ZU y ZT alcanzó sus valores más altos en los meses de noviembre, mayo y agosto, presentando diferencia significativa con respecto a los organismos control con una $p < 0.05$. Por otro lado, los organismos expuestos a las aguas de la ZA presentaron sus valores más altos en los meses de agosto y noviembre, con diferencia significativa respecto al control (Fig. 14). En cuanto al análisis de un mismo sitio entre periodos de estudio, la LPO cuantificada en la ZU durante el mes de febrero mostró diferencia significativa con respecto a los demás meses de estudio. La LPO durante el mes de noviembre alcanzó su nivel más alto, mostrando diferencia con la LPO observada en los meses de mayo y agosto. Así mismo, en la ZT la lipoperoxidación en los meses de agosto y noviembre cambió significativamente con respecto a los meses de mayo y febrero. El nivel de la LPO en la ZA no mostró diferencia entre los meses de muestreo de mayo, agosto y noviembre, no así en el mes de febrero que mostró la LPO más baja. (Fig. 14).

En el análisis entre los sitios por meses de estudio, se encontró diferencia significativa en el nivel de la LPO de las zonas ZU y ZA en el mes de mayo, así mismo, la ZT difiere significativamente con respecto a la ZA en el mes de agosto. Por otro lado, durante el mes de noviembre la ZU mostró diferencia significativa con respecto a la ZA, en cuanto al nivel de LPO obtenida en el mes de febrero en los tres sitios de estudio, no se encontró diferencia alguna entre sitios (Fig. 14).

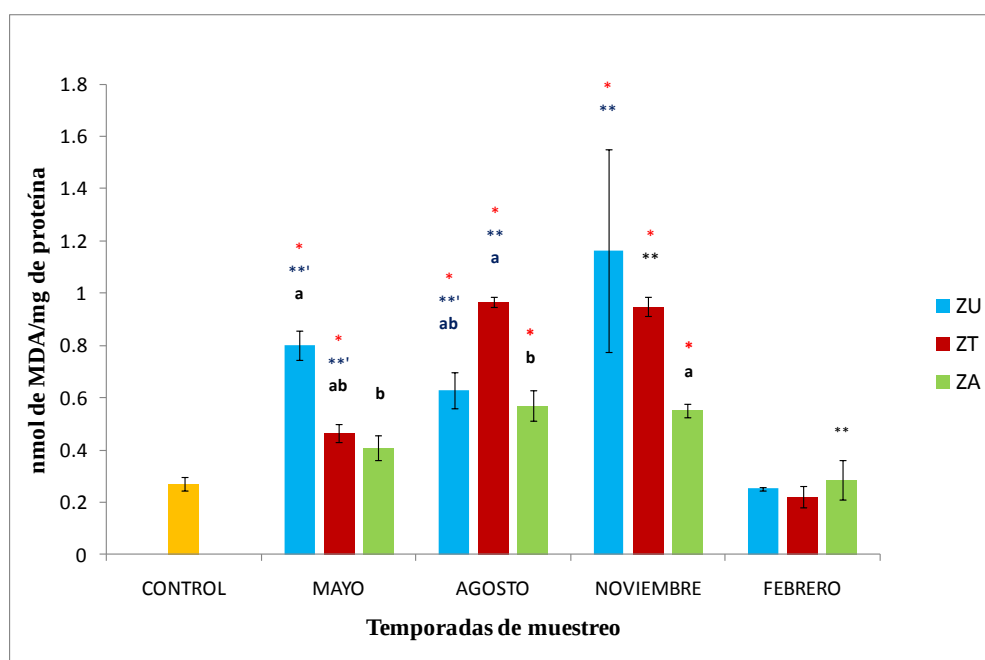


Figura 14. Nivel de lipoperoxidación en *H. azteca*, durante un ciclo anual 2009-2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.6.2. Actividad de las enzimas antioxidantes en *Hyaella azteca*

8.6.2.1. Actividad de la superóxido dismutasa en *H. azteca*

La SOD presentó una actividad muy baja en los organismos en los tres sitios y periodos de estudio. No obstante, se observaron diferencias significativas en los ejemplares de la ZU durante los meses de mayo y febrero, con respecto al control. La actividad de la SOD en los organismos expuestos a aguas de la ZT registró diferencias en los meses de mayo, noviembre y febrero con respecto al control, mientras que la SOD obtenida la ZA, sólo difirieron del control durante los meses de mayo y agosto (Fig. 15).

En el análisis de un mismo sitio entre meses de muestreo, la actividad de la SOD en los ejemplares expuestos a la ZU en mayo, fue mayor significativamente a la actividad de agosto, noviembre y febrero. La SOD en la ZT presentó valores significativamente más altos en mayo, y los valores más bajos se presentaron en la exposición de los organismos a las aguas del mes de agosto, observándose diferencias significativas entre cada uno de los periodos de estudio. La actividad de la SOD en la ZA, disminuyó durante los meses de agosto, noviembre y febrero, mostrando diferencias significativas, con respecto al mes de mayo, en el mes de noviembre se detectó la actividad más baja (Fig. 15). La SOD entre sitios en un mismo mes de estudio mostró diferencias significativas entre las tres zonas ZU, ZT, y ZA del mes de mayo. Así mismo, durante el mes de agosto se encontró diferencia significativa, entre la ZT con una actividad menor a la obtenida en los ejemplares expuestos a las aguas de la ZU y la ZA. Para los meses de noviembre y febrero, la actividad de la SOD en la ZT, fue significativamente diferente con respecto a la SOD de la ZU y ZA, siendo mayor la actividad en la ZT (Fig. 15).

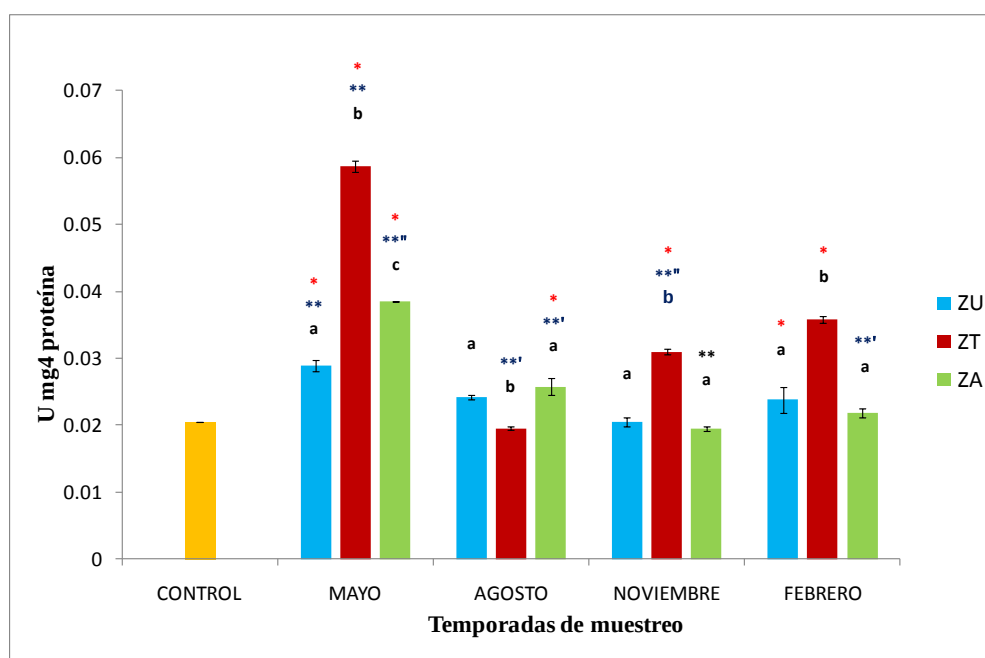


Figura 15. Actividad de la superóxido dismutasa en *H. azteca*, durante un ciclo anual 2009-2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue: $p < 0.05$.

8.6.2.2. Actividad de la catalasa en *H. azteca*

La CAT mostró sus valores más altos en los ejemplares expuestos a las aguas de la ZU, ZT y ZA del mes de mayo con diferencias significativas con respecto a los organismos control, en cuanto al mes de agosto sólo se observó diferencia significativa en la ZT respecto al control. Por otro lado, los ejemplares expuestos a las aguas de las ZT y ZA, en el mes de noviembre mostraron diferencias con respecto al control; no así aquellos expuestos a las aguas de la ZU. Durante el mes de febrero, se encontró diferencia en los organismos expuestos a las aguas de las ZU y ZA con respecto al control (Fig. 16). El análisis de las diferencias de un mismo sitio entre los meses de estudio indica que la actividad de la CAT en la ZU en febrero, alcanzó los valores más altos con respecto, a la actividad de los demás

meses de muestreo siendo significativas las diferencias. La actividad de la CAT en la ZT, fue significativamente diferente en el mes de mayo, con respecto, a la actividad registrada en agosto, noviembre y febrero. Sin embargo, la actividad en el mes de febrero fue la más baja. Así mismo, la actividad que se registró en los ejemplares expuestos a las aguas de la ZA del mes de mayo y noviembre fueron diferentes con la CAT registrada en los meses de febrero y agosto, siendo este último mes el que presentó la actividad más baja (Fig. 16).

El análisis de la CAT entre sitios en un mismo mes de estudio, mostró que en el mes de mayo hubo diferencias significativas entre la ZU con respecto a las ZT y la ZA. Por otro lado, en el mes de noviembre la ZA presentó diferencias con la ZT y la ZU. Así mismo, para el mes de febrero la CAT de la ZT difiere significativamente de la ZU y la ZA (Fig. 16).

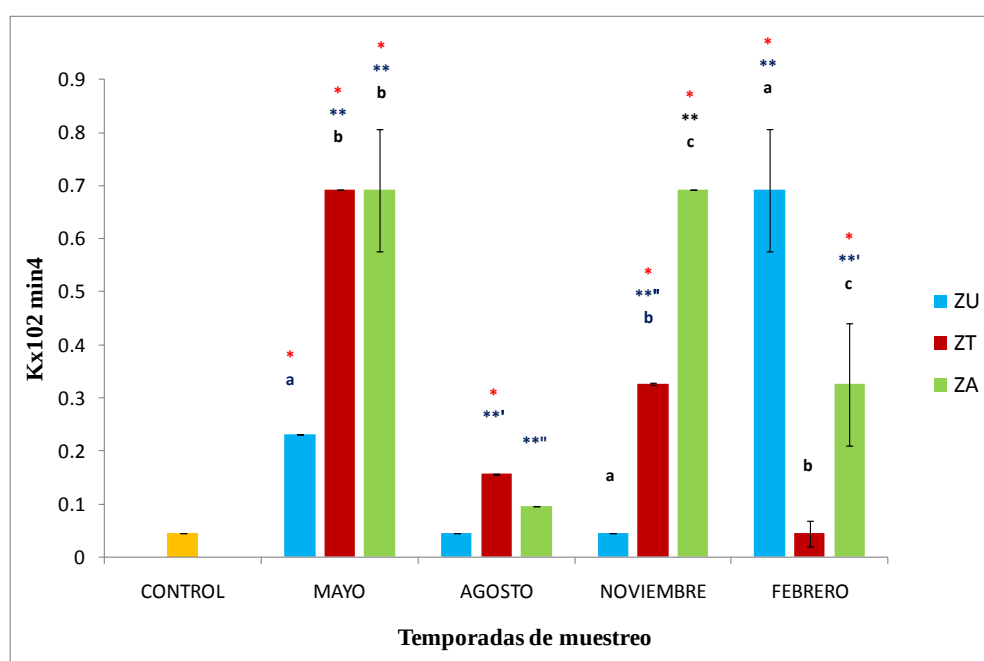


Figura 16. Actividad de la catalasa en *H. azteca*, durante un ciclo anual 2009-2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.6.2.3. Actividad de la glutatión peroxidasa en *H. azteca*

La GPx mostró una actividad significativamente diferente entre los sitios de estudio durante el ciclo anual, en los ejemplares expuestos a las aguas de las ZT y ZA durante el mes de mayo, con respecto a los organismos control. Para el mes de agosto, la GPx disminuyó incluso por debajo de la actividad del control, como fue el caso de la ZT y la ZA. Sin embargo, para el mes de noviembre y febrero la GPx se incrementó sobre todo en la ZT y ZA en noviembre y en los tres sitios de estudio durante el mes de febrero, mostrando diferencia significativa con la GPx del control (Fig. 17). La actividad de la GPx por sitios de estudio y durante las temporadas de muestreo, mostró que la GPx en la ZU del mes de febrero se incrementó significativamente con respecto a la actividad de la glutatión peroxidasa en los meses de agosto, mayo y noviembre. La GPx de la ZT de los meses de mayo, noviembre y febrero mostró diferencias con respecto a la GPx del mes de agosto, registrándose en este mes la GPx más baja. Por otro lado, la actividad de la GPx en los ejemplares expuestos a las aguas de la ZA mostró diferencia en el mes de mayo donde fue mayor con respecto a la actividad de noviembre y febrero y la menor GPx se obtuvo en el mes de agosto (Fig. 17).

En el análisis entre los sitios para cada mes de estudio, se observó que en mayo y noviembre, la actividad de la GPx fue significativamente menor en la ZU con respecto a las ZT y ZA. En el mes de febrero, la actividad en la ZT fue significativamente mayor a la GPx de las ZU y ZA, respectivamente (Fig. 17).

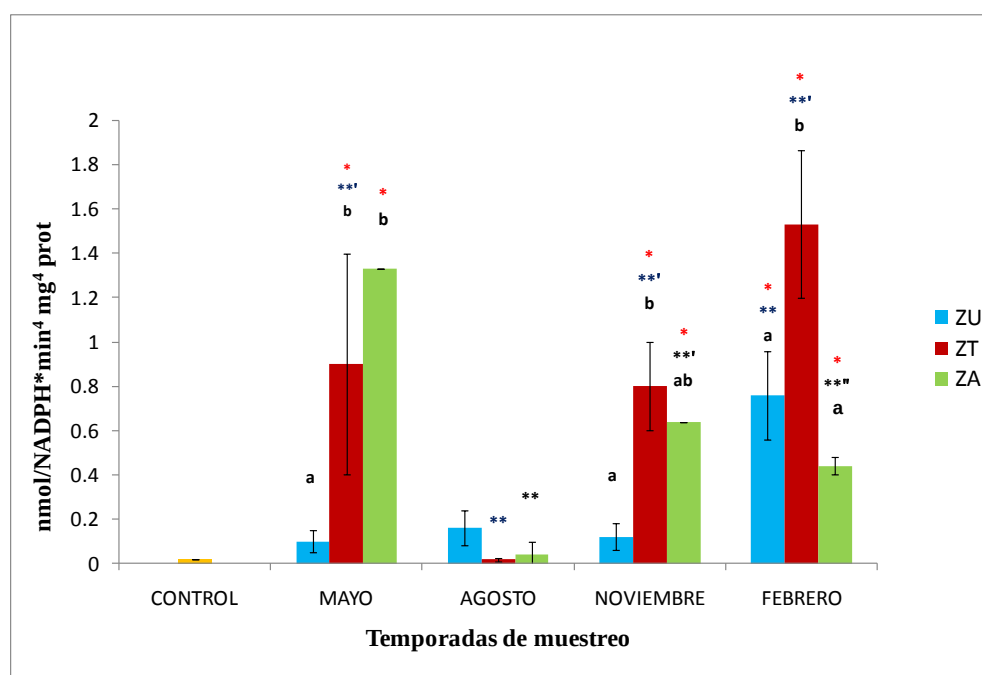


Figura 17. Actividad de la glutatión peroxidasa en *H. azteca*, durante un ciclo anual 2009-2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, las barras representan el promedio $\pm$ el error estándar, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.6.3. Inhibición de la acetilcolinesterasa en *Hyaella azteca*

La AChE en *H. azteca* mostró mayor inhibición en los organismos expuestos en el mes de agosto, con una inhibición del 91.92% para los tres sitios de estudio, en el mes de noviembre la inhibición fue de 89.1% en los ejemplares expuestos a las ZT y ZA y para los de la ZU fue del 87.73%. En febrero, la inhibición de la acetilcolinesterasa en los organismos de la ZA fue del 50%, 55% para los de la ZT y 26% para los de la ZU. Durante el mes de mayo se obtuvo la inhibición más baja en los organismos expuestos al agua de los tres sitios de estudio, con un 27% para la ZA, 25% para la zona ZU y 8% para la ZT (Fig. 18).

La AChE por sitios de estudio en diferentes períodos, mostró diferencias significativas en la ZU durante los cuatro meses de muestreo, donde los mayores valores de inhibición se observaron en los meses de agosto y noviembre, y la inhibición más baja fue en el mes de mayo. Por otro lado, la ZT mostró la mayor inhibición en el mes de agosto y noviembre y en el mes de mayo se presentó el menor porcentaje de inhibición resultando significativamente diferentes en los cuatro meses de muestreo. La inhibición de la AChE para la ZA fue significativamente menor en los meses de febrero y mayo con respecto a la inhibición que se observó durante los meses de noviembre y agosto, respectivamente (Fig. 18).

El análisis entre los sitios de estudio, en el mismo mes de muestreo mostró que la inhibición de AChE en la ZT difiere significativamente de la ZU y ZA en el mes de mayo. Así mismo, la inhibición de la AChE durante el mes de noviembre en la ZU fue significativamente diferente de la inhibición obtenida en las ZT y ZA. Por otro lado, en el mes de febrero, la inhibición de la AChE en los tres sitios de estudio fue significativamente diferente entre ellos. Por otro lado, en el mes de agosto no se observó ninguna diferencia en la inhibición de la AChE entre los sitios de estudio (Fig. 18).

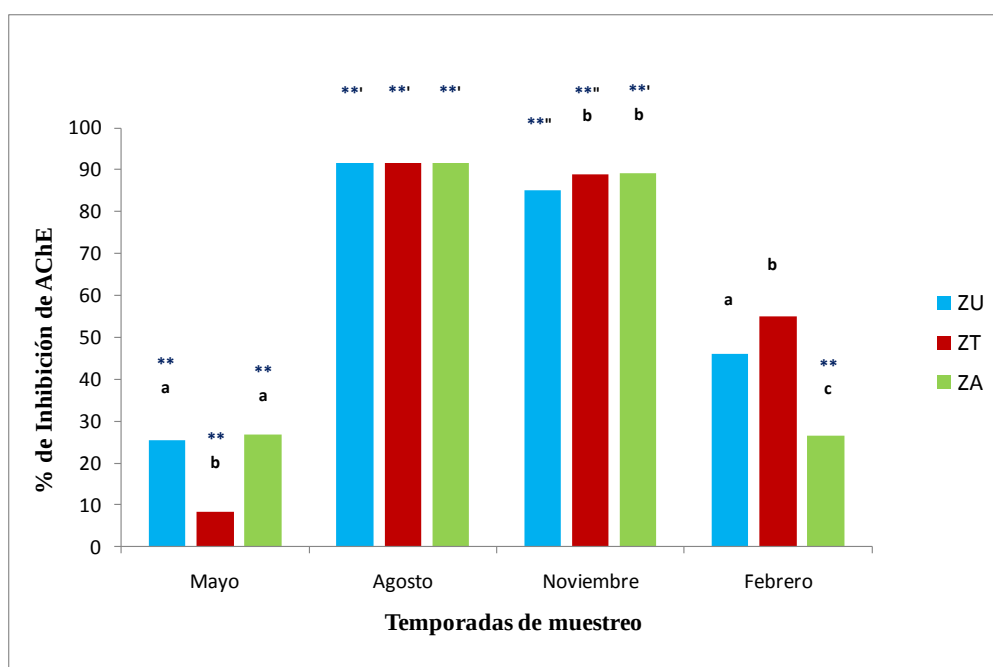


Figura 18. Inhibición de la AChE en *H. azteca*, durante un ciclo anual 2009-2010, (*) diferencia significativa con el control, (**) diferencia significativa entre sitios por mes de estudio, (abc) diferencia entre sitios de estudio en el mismo mes, el nivel de significancia fue $p < 0.05$.

8.7. Análisis de las variables ambientales, los metales pesados y las respuestas bioquímicas en *H. azteca*

El Análisis de Redundancia (RDA) de las variables ambientales y respuestas bioquímicas por sitio y periodo de estudio alcanzó un 94.28% de la varianza explicada. En general, los sitios de estudio se disgregan por cuadrantes y cada cuadrante muestra los periodos de estudio. En el cuadrante inferior derecho, se encuentran los tres sitios de estudio en el mes de agosto y a ellos se incorpora el sitio ZU del mes de noviembre. Estos sitios se caracterizan por presentar una alta correlación con los nitratos y el Nitrógeno total. En el cuadrante inferior izquierdo, la ZU y la ZT del mes de mayo, así como también la ZA del mes de febrero están altamente relacionadas con la mayor precipitación pluvial, los

valores más altos de la temperatura del agua, mayor demanda bioquímica del oxígeno, el mayor color, así como también la concentración más alta de los nitritos, el amoníaco y los sulfatos. Por otra parte, el cuadrante superior izquierdo donde se ubican la ZU y la ZT del mes de febrero y la ZA del mes de mayo, se asocian a las siguientes variables: la mayor alcalinidad, la conductividad más alta, la mayor concentración de sólidos disueltos totales y sólidos suspendidos totales, el pH más alto, así, como la mayor densidad de coliformes totales y la mayor concentración de fósforo total y los ortofosfatos. En el cuadrante superior derecho, las ZT y ZA del mes de noviembre presentan una asociación con la mayor concentración de los cloruros, la mayor dureza y la mayor concentración de oxígeno (Fig. 19A).

El diagrama del RDA de los metales pesados, en los sitios de estudio y las respuestas de los biomarcadores en *H. azteca* muestra una estacionalidad por meses de estudio, donde la ZU, la ZT y la ZA de los meses de agosto y noviembre se caracterizan por estar altamente relacionados con el mayor nivel de LPO, la mayor inhibición de la AChE y el metaloide arsénico. Por otra parte, en el cuadrante superior izquierdo, la ZU y la ZT del mes de febrero, así, como la ZA del mes de mayo están altamente asociadas con la mayor actividad de la GPx, la CAT y la SOD, así como también con la concentración de metales como el Zn y el Cd. Por otro lado, en el cuadrante inferior izquierdo, la ZU y la ZT del mes de mayo y la ZA del mes de febrero se relacionan con la actividad de la CAT, la SOD y la mayor concentración de los metales Pb y Cd, además de la mayor precipitación pluvial (Fig. 19B).

63

8.8. Respuesta integrada de biomarcadores (RIB) en *Hyaella azteca*

La Respuesta Integrada de Biomarcadores (RIB) por zonas de estudio mostró que la ZU, durante el mes de mayo presentó la mayor respuesta comparada con la ZA y la ZT y los biomarcadores que mayor respuesta aportaron fueron el nivel de LPO asociada a la actividad de la CAT y la GPx, así como también el porcentaje de inhibición de la AChE indicando el impacto generado por el estrés oxidativo y el daño neurotóxico que afectó a los organismos expuestos (Fig. 20). En el mes de agosto, se observó la mayor RIB en la ZT con respecto a la RIB de la ZU y la ZA, y los marcadores que contribuyeron fueron el nivel de LPO y el porcentaje de inhibición de la AChE y en menor medida, la actividad de la CAT.

Para el mes de noviembre, la respuesta integrada fue ligeramente mayor en la ZT comparada con la RIB de la ZA y la ZU; en este caso, los biomarcadores que contribuyeron fueron el nivel de la LPO asociado a la actividad de la SOD, la GPX y la CAT, además del incremento en la inhibición de la AChE. Durante el mes de febrero, la RIB presentó variaciones más marcadas entre los sitios de estudio, ya que la ZU es la que alcanzó el mayor valor de RIB de 12.05, debido a que se detectó una mayor actividad de la CAT, de la GPx y la SOD, en asociación con los niveles de la LPO y un alto porcentaje de inhibición (46%) de la acetilcolinesterasa. En este mismo periodo, la ZT alcanzó un valor de la RIB de 7.08, con el nivel de la LPO más bajo, relacionado con un incremento en la actividad de la GPx y la SOD, además del 55% de inhibición de la AChE. Por otro lado, la RIB para la ZA estuvo en relación con el nivel de la LPO, así como el incremento en la actividad de la CAT y la inhibición de la AChE con una RIB total de 5.46 (Fig. 20).

En cuanto a la RIB total analizada por sitios de estudio durante todo el ciclo anual de muestreo, mostró que la ZU alcanzó un valor de RIB de 20.79, mientras que para la ZT la RIB fue de 16.51 y la zona con la menor respuesta integrada fue la ZA, con un valor de RIB de 14.91.

Con respecto a la RIB analizada por meses de estudio, la RIB total fluctuó con valores desde 6.45 para el mes de mayo y para el mes de agosto la RIB fue de 7.12; siendo en estos meses cuando se presentó la menor respuesta integrada en *H. azteca*. Por otro lado, en el mes de noviembre se observó una RIB total de 14.05, misma, que se incrementó hasta 24.59 en el mes de febrero, siendo este mes el que presentó la mayor respuesta integrada en *H. azteca* (Fig. 20).

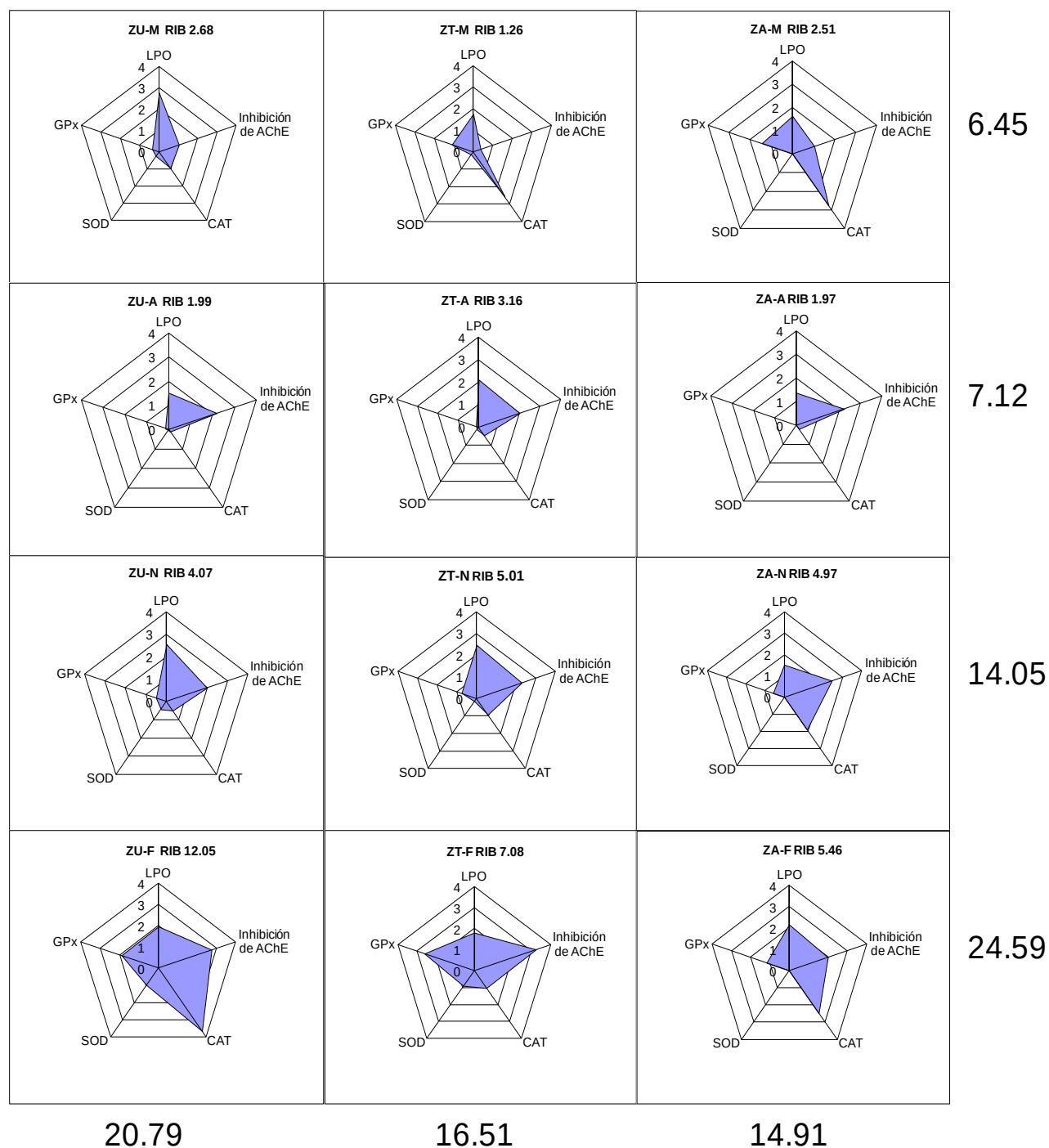


Figura 20. Respuesta Integrada de Biomarcadores (RIB) en *H. azteca*, en un ciclo anual (2009-2010), por sitios de estudio y meses de muestreo; zona urbana (ZU), zona turística (ZT), zona agrícola (ZA), mayo (M), agosto (A), noviembre (N) y febrero (F), nivel de lipoperoxidación (LPO), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), inhibición de la acetilcolinesterasa (Inh de AChE).

9.- Discusión

Los ecosistemas acuáticos presentan múltiples cambios en las variables ambientales, debido a la constante alteración que sufren por el incremento de xenobióticos que ingresan a los sistemas como consecuencia de las actividades antropogénicas. El sistema lacustre de Xochimilco presenta características de un cuerpo de agua con un alto grado de deterioro, que se pudo apreciar en los valores de varios de los factores ambientales, como es el caso de los compuestos nitrogenados, el fósforo total, además de algunos factores conservativos como los sólidos suspendidos totales, los sólidos disueltos totales, la conductividad, la alcalinidad, la concentración de cloruros, además de la dureza. De acuerdo con lo anterior y los valores que se encontraron de carbonatos y alcalinidad, el sistema lacustre de Xochimilco contiene aguas moderadamente alcalinas, observándose una mayor alcalinidad durante la época de sequía. Por otro lado, los intervalos de la conductividad caen dentro de los registrados para la mayoría de las aguas dulces que van de 10-1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Chapman y Kimstach, 1992). Sin embargo, estos valores muestran una tendencia al incremento debido al grado de contaminación y la presencia de sólidos disueltos.

Cabe resaltar, que la concentración de los sulfatos es alta en los tres sitios de estudio fluctuando desde 38 a 67.5 mg/L, estando relacionada con el origen lacustre y aluvial de sus suelos ricos en material detrítico, que ha sido transportado y depositado por las escorrentías de los alrededores al sistema (Ramos-Bello *et al.*, 2001). Por otra parte, el pH juega un papel importante en los cuerpos de agua ya que puede estar determinado por el equilibrio carbónico, mediante la disolución de los carbonatos e insolubilización de los bicarbonatos,

además, de la actividad respiratoria de los microorganismos acuáticos y la producción de dióxido de carbono, factores que modifican el pH del agua como lo señalan Álvarez *et al.* (2006). Además, el pH influye en la solubilidad de muchas sustancias y elementos químicos tornándolos fácilmente solubles en un ambiente ácido ó a su vez haciéndolos precipitar en forma de sales o hidróxidos en ambientes más alcalinos (Ramos-Bello *et al.*, 2001).

Por otro lado, Chapman y Kimstach (1992), reportan valores de pH de 6.0 a 8.5 para la mayoría de las aguas naturales, señalando que en aguas con alto contenido orgánico el pH puede ser más bajo y en aguas eutrofizadas tiende a incrementarse. De acuerdo con lo anterior, el pH en los sitios de estudio supera los valores de pH para la mayoría de las aguas naturales, además presenta una asociación con los valores más altos de la alcalinidad, la dureza y los cloruros, lo cual indica que las aguas del sistema lacustre son aguas eutrofizadas y alcalinas.

El sistema lacustre de Xochimilco, presentó altas concentraciones de fósforo total y de los ortofosfatos mostrando que la influencia de las actividades antropogénicas ha acelerado su concentración en el lago a través de los años. Según Chapman y Kimstach (1992), estos compuestos ingresan a los ecosistemas acuáticos de manera natural por la erosión de las rocas ricas en fósforo y la descomposición de la materia orgánica, además mediante la lixiviación de los suelos utilizados para agricultura, los efluentes industriales, los desechos domésticos que contienen derivados de fertilizantes y detergentes, contribuyendo al incremento en la concentración de estos nutrientes en los sistemas acuáticos. Por otro

lado, Salas y Martino (1990), señalan que un incremento en el fósforo orgánico permite el crecimiento de las poblaciones de algas y en gran parte es responsable del problema de eutrofización en estos ambientes. De acuerdo con lo anterior y tomando en cuenta que las concentraciones determinadas de los ortofosfatos y el fósforo total fueron mayores a las referidas en los estándares que establecen los límites para su uso de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-001-ECOL-1996), se puede establecer que el sistema lacustre de Xochimilco se encuentra en un alto grado de eutrofización.

El nitrógeno está presente en las aguas naturales en distintas formas o en diferentes estados de oxidación como: amoníaco, nitritos y nitratos, además de una gran cantidad de nitrógeno orgánico, debido a la descomposición de los compuestos orgánicos e inorgánicos, así como la reducción del gas nitrógeno atmosférico en el agua, las descargas domésticas y el uso de fertilizantes nitrogenados (Chapman y Kimstach, 1992; Camargo y Alonso, 2006). Por otro lado, el amoníaco es el primer producto de la descomposición del nitrógeno orgánico y al ser oxidado forma los nitritos, posteriormente estos forman los nitratos, como parte del ciclo del nitrógeno (Wetzel, 2001).

En el presente estudio, la presencia del amoníaco y nitratos, fueron altas en los tres sitios analizados; sin embargo, se evidenció una mayor concentración de estos compuestos en la ZU donde los vertidos de aguas residuales y domésticas son más frecuentes. Además, se observó un incremento tanto de amoníaco como nitratos durante la temporada de lluvias con respecto a la época de secas, debido a la descomposición de la materia orgánica que

ingresó al sistema por las escorrentías de los campos de cultivo y por los desechos domésticos, ya que de acuerdo con Favari *et al.*, (2003) estas son fuentes potenciales que permiten la acumulación de compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos. Por otra parte, los nitritos son compuestos inestables que se oxidan o se reducen fácilmente, por lo cual su concentración en los cuerpos de agua es baja según Chapman y Kimstach (1992). Sin embargo, en este estudio, los nitritos están presentes en los tres sitios de muestreo, destacando la ZU con respecto a la ZT y a la ZA con una mayor concentración de este compuesto durante todo el ciclo anual, indicando la presencia de contaminación por las descargas de origen doméstico en este sitio.

Se detectó la presencia de coliformes totales en todos los sitios y en los cuatro periodos de estudio, alcanzando valores de hasta 1600 NMP/100 mL, de las coliformes totales. Así mismo, la mayor densidad de coliformes fecales se presentó en las ZU y ZT, sitios considerados como los más impactados por la actividad antropogénica por las descargas de aguas domésticas y residuales previamente tratadas. De acuerdo con la NOM-001-ECOL-1996, los coliformes totales y fecales se consideran indicadores de contaminación por patógenos de origen biológico, derivado de las descargas domiciliarias y residuales, además de las actividades pecuarias de traspasío que se desarrollan en la zona chinampera, que contribuyen al deterioro del ecosistema. En cuanto a la concentración de coliformes totales y fecales, así como la DBO₅ en el agua del sistema lacustre de Xochimilco se presentó contaminación de origen biológico y por materia orgánica, no obstante, estos valores no rebasaron los límites permisibles para coliformes totales. Por otro lado, estos

valores coinciden con el estudio realizado por Juárez-Figueroa *et al.*, (2003), donde encontraron que los coliformes totales y fecales en los canales del lago y los efluentes de las plantas de tratamiento, no rebasaron los límites permisibles para las coliformes de acuerdo con la NOM-001-ECOL-1996.

Los valores del ICA determinados para los tres sitios de estudio, se encuentran ligeramente por arriba de los valores registrados para el Río Lerma (una de las cuencas más contaminadas de México), mismos que van desde 26 a 67 (Sedeño-Díaz y López-López, 2007). En el presente estudio, el sitio que presentó el ICA más alto durante todo el ciclo anual fue la ZT, esto se debe probablemente a la cercanía con la descarga del agua residual previamente tratada de la planta del Cerro de la Estrella. Por otra parte, Zambrano *et al.*, (2009) reportaron índices de calidad del agua más altos en la región norte de la ZA del lago de Xochimilco, atribuyéndole esta mejoría a la proximidad con el humedal del Parque Ecológico de Xochimilco y a la actividad agrícola tradicional que en ella aún se desarrolla. De acuerdo con esto la mejoría de la calidad del agua en la ZA, se complementó con la baja densidad de coliformes totales y fecales en esta área de estudio. Por otro lado, la ZU mostró el ICA más bajo durante todo el ciclo de muestro, asociándose con las descargas de aguas de desecho doméstico, además de la alta densidad de coliformes totales y fecales observadas. El oxígeno disuelto en las tres zonas de estudio durante todo el ciclo anual mostró niveles aceptables, capaces de soportar la supervivencia de la biota acuática residente del sistema lacustre de Xochimilco, lo anterior coincide con lo registrado por

Zambrano *et al.*, (2009), quienes reportaron concentraciones altas de oxígeno disuelto en el agua de los canales del lago.

El crecimiento algal que se detectó en los bioensayos a las 72 horas de exposición a las aguas de los tres sitios de estudio, se asocia con la concentración de nutrientes en el Lago de Xochimilco, ya que se observó una mayor estimulación de crecimiento en la ZU y la ZT, en el mes agosto, así como también en la ZT y la ZA, durante noviembre. Esta relación con la temporada de lluvia se debe al acarreo de materia orgánica y una gran cantidad de nutrientes que ingresan al sistema y persisten hasta el mes de noviembre, entre ellos el fósforo que a menudo se considera como el nutriente limitante principal para el crecimiento de las algas en los ambientes de agua dulce según Camargo y Alonso (2006). También, se ha registrado que el nitrógeno puede desempeñar un papel importante en la producción primaria ya que en combinación con el fósforo favorecen el crecimiento del fitoplancton y otras plantas acuáticas en ambientes dulceacuícolas (Cloern, 2001).

La estimulación del crecimiento algal en la ZA sobre el control se reflejó en el mes de noviembre, con respecto a los meses de mayo, agosto y febrero donde el alga presentó inhibición, este crecimiento se debe a la presencia de P y N, así como otros micronutrientes necesarios para el crecimiento del alga, ya que en las zonas agrícolas es usual la aplicación de abonos orgánicos ó fertilizantes lo que favorece la concentración de estos compuestos en los suelos y mediante el escurrimiento ingresan al lago. Por otro lado, la inhibición del alga observada en las ZU, la ZT y la ZA en los distintos meses de muestreo, a pesar de que

en estos se presentaron valores altos de nutrientes inorgánicos como los ortofosfatos y los compuestos nitrogenados. Esta inhibición, se ha asociado a la presencia de xenobióticos de diversa naturaleza, así como también a metales pesados como el cadmio, plomo y el metaloide arsénico sin funciones bioquímicas útiles. No obstante, Pinto *et al.*, (2003) y Li *et al.*, (2006) señalan que algunos metales como el cobre y zinc son esenciales para los organismos que realizan actividad fotosintética, sin embargo en concentraciones altas pueden afectar los procesos fisiológicos como la fotosíntesis en las algas, muchas veces incrementando la producción de especies reactivas de oxígeno generadoras de daño oxidativo.

Además, Russo, (1985) y Camargo *et al.*, (2005) establecen que las altas concentraciones de amoníaco, nitritos y nitratos, pueden poner en riesgo a los organismos que presentan actividad fotosintética, siendo los nitratos los menos tóxicos en relación a los otros compuestos nitrogenados. Por su parte, Pinto *et al.*, (2003) plantean que la disponibilidad de nutrientes en particular el nitrógeno aumentan la capacidad de las algas a acumular metales tóxicos, lo cual también puede incrementar la producción de ROS como: el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, especies que pueden oxidar las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos, generando cambios en la estructura celular como consecuencia del daño oxidativo (Pokora y Tukaj, 2010).

Por otro lado, existen registros de la presencia de metales pesados en el agua del sistema lacustre como los de Bojórquez y Amaro, (2003). En el presente estudio, cabe

resaltar que los metales analizados como el cadmio y zinc mostraron su mayor concentración en los meses de mayo y agosto, coincidiendo con la época de lluvias y los arrastres naturales que ingresan al sistema lacustre, asociado a estos, las descargas de aguas residuales de las dos plantas de tratamiento la del Cerro de la Estrella y la de San Luis Tlaxialtemalco, que se encargan de recargar de agua al sistema lacustre. Además, de que los escurrimientos urbanos y las descargas domésticas directas al sistema, incrementan la concentración de estos metales durante la temporada de lluvias como lo señalan (Ramos-Bello *et al.*, 2001 y López López *et al.*, 2006). Sin embargo, el plomo se mantuvo constante durante el ciclo anual de muestreo y su concentración se debe principalmente a los escurrimientos urbanos de talleres y lavado del asfalto por las lluvias, así mismo, la presencia del metaloide arsénico en las ZA y ZT, está relacionado con la utilización de algunos plaguicidas y fungicidas en las labores agrícolas de acuerdo con (Valdez y Cabrera, 1999).

Por otra parte, para la evaluación de los sistemas acuáticos contaminados no basta con el análisis de factores físicos y químicos, sino que es necesaria la aplicación de herramientas como los biomarcadores que permitan medir la respuesta de los organismos, generada por la mezcla de xenobióticos existentes en los sistemas acuáticos (Dorval *et al.*, 2005). Ahora bien, existen evidencias que indican que las diversas mezclas de xenobióticos presentes en el agua generan agentes prooxidantes como las ROS, capaces de provocar efectos negativos en la biota acuática existente (Livingstone, 2001), entre ellos algunos metales pesados y varios pesticidas inducen estrés oxidativo en los diferentes tejidos de los

organismos (Dorval *et al.*, 2005). Estos efectos pueden ser el aumento de radicales libres que causan daño oxidativo a las algas, entre estos generadores de radicales libres se encuentran algunos metales de transición (como Fe^{3+} y Cu^{2+}) que participan en la reacción Haber-Weiss, generando radicales ($\text{OH}\bullet$) a partir de iones $\text{O}_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 . También los metales con poca capacidad de oxido-reducción (como el Cd^{2+} , Pb^{2+} y Hg^{2+}), pueden intensificar el estado pro-oxidante con el glutatión reducido, estos metales pueden interrumpir el transporte de electrones en los organismos fotosintéticos, produciendo $\text{O}_2^{\bullet-}$ y O_2 (Pinto *et al.*, 2003; Asada, 2006; Flora *et al.*, 2008). Además, se ha demostrado que elementos de transición como Cr(VI) y Fe(III) generan radicales ($\text{OH}\bullet$) a partir de H_2O_2 a través de la reacción de Fenton (Halliwell y Chirico, 1993; Pinto *et al.*, 2003; Flora *et al.*, 2008).

La formación de ROS es un proceso natural en el metabolismo de plantas y animales (Choo *et al.*, 2004). Sin embargo, en condiciones de oxidación, las plantas, las macro y microalgas, como muchos otros organismos; responden mediante un mecanismo de defensa que incluye una serie de enzimas antioxidantes como la SOD, la CAT, la GPx y algunos componentes no enzimáticos de bajo peso molecular como: el glutatión reducido, los fenoles, los flavonoides, los tocoferoles, los carotenoides y el ácido ascórbico (Storey, 1996; Pinto *et al.*, 2003; Choo *et al.*, 2004), que en muchas ocasiones trabajan en conjunto para reducir y eliminar las especies reactivas de oxígeno, antes de que éstas puedan dañar a la célula (Pinto *et al.*, 2003; Choo *et al.*, 2004). Por lo tanto, la resistencia de las algas a la contaminación por metales pesados en ambientes acuáticos se debe principalmente a la

eficiente capacidad de respuesta antioxidante que impiden el daño oxidativo (Pinto *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2006).

En el presente trabajo, la respuesta de biomarcadores en *A. falcatus* y el anfípodo *H. azteca*, expuestos a las aguas de los diferentes sitios de estudio (ZU, ZT y ZA) muestran la capacidad toxica que tiene el agua del sistema lacustre de Xochimilco de ejercer estrés oxidativo en los organismos residentes. Por otra parte, los parámetros de calidad del agua, así como los índices del ICA determinados, la gran cantidad de materia orgánica presente, la contaminación de origen fecal, la alta concentración de nutrientes, ponen de manifiesto el alto deterioro en el que se encuentra el sistema lacustre de Xochimilco. Sin embargo, algunos autores como Zambrano *et al.*, 2006, sólo califican al lago como hipertrófico.

Por lo tanto, con los resultados obtenidos en el presente estudio se evidenció el potencial de la toxicidad de sus aguas, mediante el daño oxidativo que se expresó con el incremento en la LPO, así como por una mayor inducción en la actividad de las enzimas antioxidantes como la SOD, la CAT y la GPx, del alga *A. falcatus*, responsables de la transformación de los radicales y peróxidos en especies no reactivas, además de encargarse de la reparación de la célula por los daños por la oxidación. El daño peroxidativo se reflejó principalmente en los meses de mayo y agosto persistiendo hasta el mes de noviembre, estos biomarcadores además están altamente relacionados con la mayor concentración del cadmio y el metaloide arsénico. Así como también, con la mayor

concentración de nitratos, nitritos y amoníaco, lo que pudo favorecer la generación de ROS como se puede apreciar en la Fig. 12 (A y B).

La superóxido dismutasa es la primer enzima en actuar transformando el $O_2^{\cdot-}$ en peróxidos y oxígeno molecular (Livingstone, 2001), esta se vio abatida en los tres sitios durante el mes de febrero y en la ZA en el mes de agosto, mostrando una alta relación con la mayor concentración de plomo y zinc, así mismo, con algunos parámetros conservativos como: la conductividad, la dureza, la alcalinidad, además del nitrógeno y el fósforo total. Sin embargo, se observó un incremento en la actividad de esta enzima en la ZA, durante los meses de mayo, agosto y noviembre, coincidiendo con la mayor concentración de metales como el cadmio, arsénico y los compuestos nitrogenados, como se pudo apreciar Fig. 12 (A y B). Ahora bien, la actividad de la superóxido dismutasa en la ZU presentó un incremento durante los meses de mayo y noviembre, lo que reflejó una mejor respuesta antioxidante ante la presencia de iones superóxido como el principal biomarcador de defensa ante el daño oxidativo, de acuerdo con (Choo *et al.*, 2004; Mallick, 2004). Por otra parte, (Atli y Canli, 2010 y López-López *et al.*, 2010b) señalan que la producción excesiva de radicales superóxido provoca la oxidación de la cisteína que desactiva a la superóxido dismutasa. De acuerdo con lo anterior, el abatimiento de la SOD en este estudio sugiere que la capacidad de respuesta de la enzima resultó insuficiente para responder al incremento de radicales superóxido y para reparar el daño causado por el estrés oxidativo en el alga.

La actividad de la catalasa que es la responsable de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, pero de una manera independiente de la GPx (Livingstone, 2001), mostró un incremento en su actividad en todos los sitios y durante los cuatro periodos de muestreo. El incremento de esta enzima en el alga *A. falcatus*, está asociada con un sistema de defensa antioxidante eficaz que actúa contra el incremento de la LPO generado por la presencia de peróxidos de hidrógeno en los sitios de estudio o la catalasa trata de compensar la disminución de las enzimas antioxidantes, tales como la SOD y la GPx de acuerdo con lo señalado por Atli y Canli, (2010).

En cuanto a la glutatión peroxidasa esta aumentó su actividad en los tres sitios y durante los meses de mayo, agosto y noviembre, como resultado a la presencia de peróxidos e hidroperóxidos de hidrógeno que incrementaron la lipoperoxidación en al alga durante estos meses. Por otro lado, Dorval *et al.*, 2005 y Storey, 1996), señalan que la GPx, es uno de los componentes más importantes en la defensa antioxidante de las células, es la responsable de reducir los peróxidos de hidrógeno a agua y los hidroperóxidos orgánicos a alcohol usando al glutatión reducido (GSH) como donador de electrones. El uso de esta enzima como biomarcador de exposición a xenobióticos que generan lipoperoxidación, refleja su función protectora en la detoxificación y excreción de radicales libres, así como también en la regeneración de los carotenoides y tocoferoles de las membranas celulares de acuerdo como lo señala Mallick, 2003.

Por otra parte, la actividad tanto de la CAT como la de la GPx está altamente relacionada con la presencia de peróxidos que pudieron ser generados por la existencia de cadmio y arsénico presentes en el agua, así como también, por la mayor concentración de nitratos, nitritos y amoníaco, lo cual desencadenó un aumento de radicales que se expresaron en el nivel de la LPO y así mismo, en el incremento de la actividad antioxidante de estas enzimas para tratar de reparar el daño causado por la peroxidación lipídica en el alga como se puede apreciar en la Fig. 12 (A y B).

Por otro lado, diversos estudios en invertebrados y macroinvertebrados acuáticos han mostrado la función de estas enzimas antioxidantes, como biomarcadores sensibles a la exposición de varios xenobióticos, estos antioxidantes pueden ser inducidos ó bien inhibirse por la exposición a los contaminantes ambientales y a algunos metales pesados. Sin embargo, Dorval *et al.*, (2005) y Barata *et al.*, (2005) mencionan que una inhibición de los antioxidantes perjudica la capacidad de prevenir la formación de las ROS y el daño celular por estrés oxidativo.

En el presente estudio, el daño peroxidativo se expresó por el incremento en los niveles de la LPO y en la actividad de las enzimas antioxidantes, así mismo en forma adicional se presentó la inhibición de la AChE, en el anfípodo *H. azteca*, como indicador de daño neurotóxico. Con respecto al daño oxidativo, se observó una estacionalidad por meses de muestreo en los ejemplares expuestos, debido a que los niveles más altos de la LPO, se observaron en la ZU, la ZT y la ZA durante los meses de agosto y noviembre, además, la

LPO, se relaciona con el metaloide arsénico, los nitratos, el nitrógeno total, la mayor dureza, la mayor alcalinidad y los cloruros. Así mismo, coinciden con la menor actividad antioxidante de la SOD, la CAT y la GPx durante estos meses, indicando la presencia de radicales libres que incrementaron los niveles de LPO y generaron daño peroxidativo en los organismos como se puede apreciar en la Fig. 19 (A y B). Por otro lado, los niveles de LPO en el presente trabajo, coinciden con los niveles de lipoperoxidación reportados por López-López *et al.*, (2010a) en *H. azteca* expuesta a elutriados de los sedimentos de la ZU y ZA del sistema lacustre de Xochimilco. En cuanto a los niveles más bajos de la LPO determinados en *H. azteca* estos se asocian con los valores más altos de la actividad antioxidante de la CAT y la GPx durante los meses de febrero y mayo en los tres sitios de estudio, como respuesta al daño peroxidativo ocasionado por la LPO, ya que de acuerdo con Hidalgo *et al.* (2006) a mayor respuesta antioxidante el nivel de lipoperoxidación debe ser menor.

La disminución enzimática de la SOD, en las zonas de estudio ZU, ZT y ZA durante agosto, noviembre y febrero, se ha asociado a la presencia del cadmio, zinc y el nitrógeno total lo que pudo generar un aumento de los radicales superóxido en el agua ocasionando una alteración en el sistema de defensa antioxidante de los organismos como lo señala (Atli y Canli, 2010). No obstante, se ha reportado que los contaminantes ambientales pueden incrementar la actividad de la GPx y la CAT ya que éstas juegan un papel importante en la protección celular del daño oxidativo (Almeida *et al.*, 2002; Livingstone, 2003). La GPx mediante la reducción del glutatión en los grupos sulfhídrido de las proteínas y otras moléculas celulares, elimina los radicales libres a través de la detoxificación de los peróxidos de hidrógeno y aquellos de tipo orgánico (Ahmed, 2005). Así mismo, la asociación SOD-

CAT, constituye la primer línea de defensa contra la toxicidad del oxígeno causada por la exposición a xenobióticos, debido a la capacidad inhibitoria de estas enzimas a la formación de ROS (Atli y Canli, 2010). De acuerdo con lo anterior el incremento de la actividad de la GPx y la CAT, especialmente en las ZT y ZA durante los meses de mayo, noviembre y febrero, así como en la ZU durante el mes de febrero, asociadas a la concentración de cadmio, zinc y plomo, Además, de las variables como los ortofosfatos, el fósforo total, el amoníaco y los sulfatos, puede interpretarse como la expresión del sistema de defensa antioxidante que actuó contra el daño peroxidativo en *Hyaella azteca*. Además, este incremento en estas enzimas antioxidantes puede traducirse como una respuesta para compensar la disminución de la actividad de la SOD como lo señala (Atli y Canli, 2010).

El daño neurotóxico en *H. azteca*, se expresó como la inhibición de la AChE, enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina dentro de la sinapsis colinérgica después de la transmisión del impulso nervioso, en las terminales de las fibras nerviosas, uniones neuromusculares y ciertas sinapsis del sistema nervioso central de los organismos (Sarkar *et al.*, 2006). La AChE controla las corrientes iónicas en membranas excitables y desempeña un papel esencial en los procesos neuromusculares, la AChE está vinculada directamente con la acción tóxica de los insecticidas organofosforados y carbamatos, además de algunos metales pesados (Bodin *et al.*, 2004). Por otra parte, diversos estudios sugieren que la inhibición de la AChE, ante agentes neurotóxicos puede ser utilizada para diagnosticar la intoxicación por plaguicidas organofosforados y carbamatos, además, de

algunos productos químicos de la familia de los pesticidas que causan daños a los organismos (Sarkar *et al.*, 2006; López-López *et al.*, 2006).

En el presente trabajo, la AChE presentó su mayor inhibición durante los meses de agosto y noviembre en los tres sitios de estudio, esto indica la presencia de una serie de sustancias como fungicidas e insecticidas de tipo organofosforados y carbamatos, utilizados en las labores agrícolas y que ingresan al agua de los canales del Lago de Xochimilco (Robles-Mendoza *et al.*, 2009). La inhibición de la AChE, se acentuó notoriamente durante la temporada de lluvias, como resultado del escurrimiento natural de los suelos agrícolas donde aún se emplean agroquímicos, para la eliminación de algunas plagas de plantas e insectos en los campos de cultivo. Sin embargo, estos compuestos persisten hasta el mes de noviembre, lo que permitió una alta inhibición de la AChE en los sitios durante este mes, como se puede ver en la Fig. 19 (A y B). Los resultados de inhibición de la AChE en el presente trabajo, coinciden con los obtenidos por López-López *et al.*, (2010a), donde reportan un incremento en la inhibición de la AChE en *H. azteca*, expuesta a elutriados de los sedimentos de las ZA, ZU y ZT del sistema lacustre de Xochimilco. La inhibición de la AChE determinada en *H. azteca*, indica que existe contaminación por plaguicidas organofosforados, carbamatos entre otros, que están generando daño neurotóxico a los organismos residentes del sistema lacustre de Xochimilco.

En cuanto a la respuesta integrada de los biomarcadores determinada en *A. falcatus*, la ZU presentó la mayor RIB en el mes de mayo, no obstante durante todo el ciclo de muestreo se observó un patrón similar en el aumento del nivel de LPO, así como también

alta actividad en la GPx y la catalasa además de la actividad de la superóxido dismutasa. La ZT mostró la mayor RIB durante el mes de noviembre, con el nivel de LPO alto asociado con una gran actividad de la GPx, la CAT y la SOD. Además, en esta zona se presentó un patrón similar en cuanto al aporte de los biomarcadores en los meses de mayo, agosto y febrero, donde el menor nivel de LPO se relaciona a la mayor actividad de la GPx y la CAT. Por otra parte, la RIB en *A. falcatus* en la ZA reflejó una mayor variación con respecto a los periodos de muestro, debido a que la mayor RIB se registró en el mes de agosto, mostrando un patrón similar al mes de noviembre con un mayor nivel de LPO y una menor actividad en la GPx y la CAT. Por otro, lado los meses de febrero y mayo, presentan niveles bajos de LPO y un incremento la CAT y la GPx respectivamente como se puede apreciar en la Fig. 13.

Por otra parte, la respuesta integrada en el anfípodo *H. azteca* presentó mayor variación entra los meses de muestreo y entre los sitios de estudio, la mayor RIB para la ZU se obtuvo en el mes de febrero, con niveles altos de LPO y una mayor actividad en la CAT, la GPx y la SOD, además de un alto porcentaje de inhibición de la AChE. En los meses de noviembre, agosto y mayo, la RIB la determina el incremento en la LPO y el porcentaje de inhibición de la AChE, en asociación con la baja actividad antioxidante. Por su parte, la ZT mostró el valor de RIB más alto durante el mes de febrero con altos niveles de LPO y la mayor actividad de la GPx, la CAT y la SOD, además de un elevado porcentaje de inhibición de la AChE, así mismo en los meses de noviembre y agosto, se incrementó la LPO, asociada a la menor actividad antioxidante de la SOD, la GPx y a la mayor inhibición de AChE. En el mes de mayo se registró la RIB más baja de todo el periodo de estudio,

asociada a la menor LPO y al incremento en la actividad de la CAT y la GPx, además de la inhibición más baja de la AChE. En cuanto a la ZA se observó la RIB más alta durante los meses de febrero y noviembre, asociada con el incremento de la LPO y la actividad de la CAT, además de la inhibición de la AChE. Durante el mes de agosto se observó la RIB más baja determinada por el nivel de LPO asociada a la baja actividad antioxidante y a la mayor inhibición de la AChE y en el mes de mayo la RIB la determinó el nivel la LPO y el incremento en la actividad de la CAT y la GPx, además del la inhibición de la AChE.

De acuerdo a lo anterior, el aumento en los niveles de la LPO en *A. falcatus* y *H. azteca*, evidencian daño peroxidativo por exposición a las aguas del sistema lacustre de Xochimilco, además de las implicaciones de la actividad de la SOD, la CAT y la GPx que sugieren que la respuesta antioxidante es el resultado del incremento de las ROS, estimuladas por la mezcla de xenobióticos de diversa índole y metales pesados como el cadmio, plomo, zinc y metaloide arsénico, que circulan en las aguas del Lago de Xochimilco. Estos radicales libres, lograron inhibir la actividad antioxidante de la SOD, sin embargo, también incrementaron la actividad de las enzimas antioxidantes captadoras de radicales libres como la CAT y la GPx, de acuerdo con (Favari *et al.*, 2003).

Por otro lado, la mayor RIB en ambos organismos fue mayor durante la época de sequía noviembre y febrero respectivamente, lo anterior sugiere que durante la temporada se sequía el sistema de defensa de *A. falcatus* y *H. azteca*, está respondiendo adecuadamente para contrarrestar el aumento de las ROS y el daño oxidativo. Transformando los radicales en especies no dañinas para los organismos, mediante la

actividad de la SOD, la CAT y la GPx, ya que estas enzimas representan la primer defensa de los organismos aerobios al daño peroxidativo (Livingstone, 2003; Choo *et al.*, 2004; Ahmed, 2005; Hidalgo, *et al.*, 2006).

No obstante, durante la época de lluvias la RIB disminuyó en *A. falcatus*, como resultado de los bajos niveles de lipoperoxidación y por la baja actividad de las enzimas antioxidantes en los sitios de estudio; por el contrario, durante la época de sequía la RIB en *A. falcatus* se incrementó debido al aumento en los niveles de LPO y la actividad de las enzimas como la GPx, la CAT y la SOD para tratar de equilibrar el daño generado por la lipoperoxidación en el alga. Por otra parte, la RIB en *H. azteca*, fue más baja durante los meses de mayo y agosto en los tres sitios analizados, pese al incremento en los niveles de LPO y a la inhibición de la AChE. Sin embargo, se observó una menor actividad antioxidante, relacionándose con el ingreso de los xenobióticos y la presencia de metales pesados, manifestándose en el incremento de las ROS que generaron alteraciones en los organismos y que se exhibieron en el aumento de la LPO y el abatimiento de la SOD, la GPx y la CAT. Con respecto a la RIB durante los meses de noviembre y febrero, esta fue mayor comparada con el periodo de lluvias, observándose un incremento en los niveles de la LPO, además de una mayor actividad antioxidante tanto de la SOD, como de la GPx y la CAT, que actuaron en contra del daño peroxidativo generado por la presencia de los xenobióticos en *H. azteca*. Además, fue evidente el ingreso de plaguicidas de tipo organofosforados y carbamatos durante la época de lluvias logrando persistir hasta el mes de noviembre, que generaron daño neurotóxico en *H. azteca*, el cual se reflejó en los altos porcentajes de inhibición de la acetilcolinesterasa durante estos meses.

10.- Conclusiones

De acuerdo con los parámetros de calidad de agua analizados se puede concluir que el agua del sistema lacustre de Xochimilco presenta un enriquecimiento de nutrientes derivados de las actividades antropogénicas, que han acelerado el proceso de eutrofización del lago, mismo que se evidenció en el crecimiento del alga *A. falcatus*. Sin embargo, también se encuentran xenobioticos capaces de inhibir el crecimiento del alga.

El agua del sistema lacustre de Xochimilco presenta valores de ICA que van de 56 a 68, que la califica de contaminada a aceptable, por otro lado, los valores más bajos del ICA se observan en la zona urbana, lo que indica una mejor calidad en la zona turística y la zona agrícola.

Las aguas de los tres sitios de estudio mostraron su capacidad de impactar negativamente a los organismos de los dos niveles tróficos, esta alteración del hábitat provocó daño oxidativo por el incremento de la peroxidación lipídica y la activación de las enzimas antioxidantes como la SOD, la CAT y la GPx, como consecuencia de la generación de las especies reactivas de oxígeno, que ejercen estrés oxidativo en las algas y los anfípodos.

En las agua de los tres sitios de estudio, fue evidente la presencia de xenobióticos del grupo de los organofosforados y carbamatos capaces de desencadenar daño neurotóxico en el anfípodo, durante la época de lluvias y persistiendo hasta el mes de noviembre.

De acuerdo a lo anterior, podemos inferir que las mezclas complejas de contaminantes y los metales pesados que se encuentran circulando en el agua de los canales, así como también aquellos que ingresan al sistema lacustre durante la época de lluvias logran persistir hasta el período de sequías y repercuten en daños en los procesos fisiológicos de los organismos residentes, alterando su sobrevivencia y afectando el flujo de energía de un nivel trófico a otro.

11. LITERATURA CITADA

- Abel, P. D. 1989. Water pollution biology. Ellis Horwood Limited. Chichester England. pp. 71
- Acevedo, L. S. 1972. Monografía histórica de Xochimilco. Boletín de la Delegación del Distrito Federal. pp. 8-15.
- Aguilera, H. M. 1987. Rehabilitación de suelos de Chinampas y su relación con las plantas cultivadas. Boletín del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. pp. 1-28.
- Ahmed, R. G. 2005. Is there a balance between oxidative stress and antioxidant defense system during development?. Med J Islamic World Acad Sci. 15:55-63.
- Almeida, J. A., Y. S. Diniz, S.F. G. Marques, L. A. Faine, B. O. Ribas, R. C. Burneiko, & E. L. B. Novelli. 2002. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environ. Int. 27:673-679.
- Álvarez, A. J., P. E. Rubiños, R. F. Gavi, C. J. J. Alarcón, A. E. Hernández, A. C. Ramírez, S. E. Mejía, S. F. Pedrero, N. E. Nicolás, & S. E. Salazar. 2006. Water quality in the basin of the Amajac River, Hidalgo, México: diagnosis and prediction. Phytol. Rev. Int. Bot. Exper. 75:71-83.
- Ankistrodemus falcatus (Figura): Fecha de consulta: 10 de agosto de 2009 <http://www.sciencephoto.com/media/15681/view#>.

APHA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Waste water. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation Washington, D.C.USA. p. 1268.

Asada, K. 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplast and their functions. *Plant Physiol.* 141:391–396.

Atli, G. & Canli, M. 2010. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* Doi: 10.1016.

Baścik, R. A., A. Aksmann, A. Zak, M. Kowalska, & Z. Tukaj. 2010. Toxicity of cadmium, anthracene, and their mixture to *Desmodesmus subspicatus* estimated by algal growth-inhibition ISO standard test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60:610-617.

Balanzario, Z. J. 1992. Contaminación de los canales de Xochimilco y su repercusión en las actividades económicas. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Geografía y Estadística. Archivo Histórico de la Delegación Xochimilco.* México.

Barata, C., I. Lekumberri, M. Vila-Escale, N. Prat, & C. Porte. 2005. Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities and susceptibility to oxidative stress in the tricoptera larvae *Hydropsyche exocellata* from the Llobregat river basin (NE Spain). *Aquatic Toxicol.* 74:3-19.

Battaglin, W. A. & Fairchild, J. 2002. Potential toxicity of pesticides measured in Midwestern streams to aquatic organisms. *Water Sci. Technol.* 45:95-103.

Beliaeff, B. & Burgeot, T. 2002. Integrated biomarker response (IBR): A useful graphical tool for ecological risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 2:1316-1322.

Baudo R. 1987. Ecotoxicological testing with *Daphnia*. Mem. Ist. Ital. Idrobiol. 45:461-482.

Bojórquez, C. L. & Amaro, M. E. J. 2003. Caracterización múltiple de la calidad del agua en los canales de Xochimilco. En: E. Stephan-Otto (Ed). El agua en la Cuenca de México. Fundación del parque ecológico Xochimilco. Universidad Autónoma Metropolitana, México. pp. 281-302.

Bodin N, T Burgeot, J,Y. Stanisière, G. Bocquené, D. Menard, C. Minier, I. Boutet, A. Amat, Y. Cherel, & H. Budzinski. 2004. Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 138:411–427.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.

Buege, A. & Aust, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 53:302-305.

Camargo, J. A. & Alonso, A. 2005. Nítrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. Chemosphere 58:1255-67.

Camargo, J. A. & Alonso, A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. Environ. Int. 32:831-849.

Chapman, D. & Kimstach, V. 1992. The selection of water quality variables. En: Chapman, D. 1992. Water Quality. Assessments a guide the use of biota, sediments and water in environmental monitoring. University Press. Great Britain. pp. 57-183.

Chapa, S. 1987. San Gregorio Atlapulco Xochimilco. Ed. Quetzalcoatl. México D.F. p. 84.

Choo, K. S., P. Snoeijs, & M. Pedersén. 2004. Oxidative stress tolerance in the filamentous green algae *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha ahlnheriana*. J Exp. Mar. Biol. Ecol. 298:111–123.

Cloern, J. E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. Mar. Ecol. Prog. Ser. 210:223-257.

De la Lanza-Espino G. & García-Calderón J.L. 1995. Presas de México, Centro de Ecología y Desarrollo, A. C., México, p. 147.

De la Lanza-Espino G. & Hernández-Pulido S. 2007. Las aguas interiores de México conceptos y casos, AGT Editores, México. pp 99-111.

Dinius, S. H. 1987. Design of an index of water quality. Water Resour. Bull. 23:833-842.

Dissanayake, A. 2001. The evaluation of a multi-biomarker approach in assessing environmental contamination in the field. Thesis Degree of Mres. Aquatic. Toxicology University of Plymouth, UK. p. 113.

Dorval J., V. Leblond, C. Deblois, & A. Hontela. 2005. Oxidative stress and endocrine endpoints in white sucker (*Catostomus commersoni*) from a river impacted by agricultural chemicals. *Environ. Ecotoxicol. Chem.* 24:1273-1280.

Dutra, B. K., A. F. Fernandez, M. D. Failace, & T. G. Oliveira. 2011. Effect of roundup® (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive trains of *Hyalella castroi* (Crustace Amphipoda, Dogielinotidae). *Ecotoxicol.* 20:255-263.

Environment Canada. 1997. Biological test method: Test for survival and growth in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. Environmental Protection Service, Report EPS 1/RM/33, Ottawa, ON. p. 123.

Favari P. L., M. Madrigal-Ortiz, & E. López-López. 2003. Efecto del agua del embalse de la vega en la lipoperoxidación y los niveles de la acetilcolinesterasa en el hígado y en el músculo de *Xiphophorus helleri*. Rev. Int. Contam. Ambiental. 19:145-155.

Flora S. J. S., M. Megha, & M. Ashish, 2008. Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. Ind. J. Med. Res. 128:501-523.

García M., E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. p. 252.

Halliwell, B. & Chirico, S. 1993. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement, and significance, Am. J. Clin. Nutr. 57:715S-725S.

Harper. D. 1992. Eutrophication freshwater, principles, problems and restoration. Ed. Chapman & Hall, London. Great Britain. pp. 2-31.

Heath, A. G. 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press, Florida, USA. p. 245.

Hestrin, S. 1949. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine and its analytic applications. J. Biol. Chem.180:249-261.

Hidalgo M.E., E. Fernández, A. Cabello, C. Rivas, F. Fontecilla, L. Morales, A. Aguirre, & Cabrera E. 2006. Evaluation of the response of *Chiton granosus* Frembly, 1928 (*Mollusca Polyplacophora*) to oxidative pollutants. Rev. Biol. Mar. y Oceanogr. 41:155-165.

Hyallolella azteca, Saussure 1858 (Figura). Fecha de consulta 20 de agosto de 2009.
<http://www.ask.com/pictures?q=Hyallolella+azteca>.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1986. Ciudad de México.
Carta de efectos climáticos, mayo-octubre, escala 1:250 000. SPP. México.

International Standards Organization (ISO). 2004. Water quality Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692.

Jáuregui, E. 1971. "La erosión eólica en los suelos vecinos al Lago de Texcoco". Rev. de Ingeniería Hidráulica. XXV. 103-118.

Juárez-Figueroa, L. A., J. Silva-Sánchez, & F. J. Uribe-Salas. 2003. Microbiological Indicators of water quality in the Xochimilco Canals, México City. Salud Públ. Méx. 45:389-395.

Kamaya, Y., S. Tsuboi, T. Takada, & K. Suzuki. 2006. Growth stimulation and inhibition effects of 4-hydroxybenzoic acid and some related compounds on the freshwater green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 51:537-541.

Kuang, Q., Bi, Y. Xia, Y. & Hu, Z. 2004. Phytoplankton community and algal growth potential in Taipinghu Reservoir, Anhui Province, China. Lakes and Reservoirs Research and Manag. 9:119-124.

Lawrence R. A. & Burk R. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem. Biophys. Res. Commun. 71:952-958.

Laws, A. E. 1993. Aquatic pollution: An Introductory Text. Second Edition. John Wiley and Sons, Inc., USA. pp. 351-415.

Li, M., Ch. Hu, Q. Zhu, L. Chen, Z. Kong, & Z. Liu. 2006. Copper and Zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in the microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae). *Chemosphere* 62:565-572.

Livingstone D.R. 2003. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue Med. Vet.* 154(6):427-30.

Lizotte, Jr. E. R., S. S. Knight, T. Ch. Bryant, & S. Smith Jr. (2009). Agricultural pesticides in Mississippi delta oxbow lake sediments during autumn and their effects on *Hyalella azteca*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 57:495–503.

López-López, E., J. E. Sedeño-Díaz, & L. Favari. 2006. Lipid peroxidation and Acetylcholinesterase activity as biomarkers in the Black Sailfin Goodeid, *Girardinichthys viviparus* (Bustamante) exposed to water from Lake Xochimilco (México). *Aquatic Ecosyst. Manage.* 9(3): 379-385.

López-López, E., J. E. Sedeño-Díaz, E. Ortiz-Ordoñez, M. Rosas-Colmenares, & O. Abeja-Pineda. 2010a. Health condition assessment in Lake Xochimilco (México). *Rom. J. Biol.-Zool. Bucharest*, 55(1):69-80.

López-López, E., J. E. Sedeño-Díaz, C. Soto, & L. Favari. 2010b. Responses of antioxidants enzymes, lipid peroxidation, and Na⁺/K⁺-ATPase in liver of the fish *Goodea atripinis* exposed to Lake Yuriria water. *Fish Physiol. Biochem.* DOI:10.1007/s10695-010-9453-0.

López-López E. & Dávalos, L. L. 1998. Algal growth potential and nutrient limitation in a tropical river-reservoir system of the Central Plateau, México. *Aquatic Ecosyst. Health and Manage.* 1:345-351.

Masucchio, H. 2000. "Diccionario enciclopédico del Distrito Federal" en "Delegación Xochimilco. Patrimonio cultural de la Humanidad" México.

Mallick, N. 2004 Copper-induced oxidative stress in the chlorophycean microalga *Chlorella vulgaris*: response of the antioxidant system. J. Plant Physiol. 161:591–597.

Moneada, H. 1989. Recuperación ecológica de Xochimilco. Revista Mexicana Ecológica. 4:20-25.

Mooser, F. 1987. Geología, en Atlas de la ciudad de México. COLMES, DDF. México.

NAERP & EPA: National Eutrophication Research Program and Environmental Agency. 1971. Algal Assay Procedure Bottle Test.

NOM, Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación, Junio de 1996, México.

NOM, Norma Oficial Mexicana NMX-051-SCFI-2001. Análisis de agua-determinación de metales pesados por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas Métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación, Febrero 1982, México.

NOM, Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010. México.

NRC: Committee on Biological Markers of the National Research Council, 1987. Biological Markers in Environmental Health Research. Environ. Health Perspect. 74:3-9.

Ochoa D. M. & González J. F. 2008. Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 55:115-126

Pinto E., K.T.C.S. Sigaud, A.S.M. Leitaó, O.K. Okamoto, D. Morse, & P. Colepicolo. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae, *J. Phycol.* 39:1008-1018.

Pokora, W. & Tukaj, Z. 2010. The combined effect of anthracene and cadmium on photosynthetic activity of three *Desmodesmus* (Chlorophyta) species. *Ecotoxicol. Environ. saf.* 73:1207-1213.

Ramos-Bello R., L. Cajuste J., R. D. Flores, & C. N. E. García. 2001. Heavy metals, salts and sodium in Chinampa soils in México, *Agrociencia.* 35:385-395.

RCW: The Ramsar Convention on Wetlands. 2008. The list of wetlands of international importance. Fecha de consulta: 20 de agosto de 2009 <http://www.ramsar.org/>.

Rippka, R., J. Deruelles, B. J. Waterbury, M. Herdman, & Y. R. Stanier. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 111:1-61

Robles-Mendoza C., B. C. García, H. S. Cram, Q. M. Hernández, & P. C. Vanegas. 2009. Organophosphorus pesticides effect on early stages of the axolotl *Ambistoma mexicanum* (*Amphibia: caudata*), *Chemosphere* 74:703-710.

Rodríguez, L. & Rivera, D. 1995. Efecto del cobre y el cadmio en el crecimiento de *Tetraselmis suecica*, (KYLIN) BUTCHER y *Dunaliella salina* TEODORESCO. *Estud. Oceanol.* 14:61-74.

Russo R.C. 1985. Ammonia, nitrite and nitrate. En Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand G.M. Rand y S.R. Petrocelli, Eds. Hemisphere Publishing Corporation, Washington D.C. pp 455-471.

Salas, H. & Martino, P. 2001. Metodologías simplificadas para la evaluación de eutrofización en lagos cálidos tropicales. Organización Panamericana de la Salud (OPS) - División de Salud y Ambiente Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Lima, Perú. p. 60.

Sampaio, F. G., C. L. Boijink, E. T. Oba, L. R. B. Santos, A. L. Kalinin, & F. T. Rantin. 2008. Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. Comp. Biochem. Physiol. C. 147:43-51.

Sánchez-Meza P.E., J. J. Romero, R. P. Negrete, S. R. López, & S. A. Malpica. 2009. Aprovechamiento de los ambientes reducidos para la producción de organismos acuáticos susceptibles a cultivo para consumo humano. Vet. Méx. 40 (1).

Sarma S. S. S. 1999. En "Proyecto para la participación participativa de un plan de rehabilitación integral del patrimonio cultural de Xochimilco". Proyecto Unesco-Xochimilco. 2005. pp. 1-50. Gobierno del Distrito Federal. Comité Académico Ambiental Diagnóstico Integrado.

Sarkar, A., D. Ray, & A. N. Shrivastava. 2006. Molecular biomarkers: Their significance and application in marine pollution monitoring. Ecotoxicology 15:333–340.

Sedeño-Díaz J.E. & López-López E. 2001. Water quality in the Río Lerma, México: An overview of the last quarter of the twenty century. Water Resour. Manage. 21:1797-1812.

Sherry, J. P. 2003. The role of biomarkers in the health assessment of aquatic ecosystems. *Aquat. Ecosyst. Health Manage.* 6:443-440.

Smith Jr, S., R.E. Lizotte Jr. & M. T. Moore. 2007. Toxicity assessment of Diazinon in a constructed wetland using *Hyalella azteca*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79:58-61.

Smith, T. A., R. H. Badiei, C. J. Evans, & V. Karanassios. 2004. Simultaneous determination of the Cd and Zn total body burden of individual, nearly microscopic, nanoliter-volume aquatic organisms (*Hyalella azteca*) by rhenium-cup in-torch vaporization (ITV) sample introduction and axially viewed ICP-AES. *Anal. Bioanal. Chem.* 380:212-217.

Sorensen P. W., H. L. Schoenfuss, I. R. Adelman, & D. L. Swackhamer. 2001. Assessing the effects of endocrine disruptors (EDCs) from a St. Paul sewage treatment plant on sperm viability and testicular development in fish: Adding a new dimension to an existing project. *WCR Research.* pp. 35-37.

Storey, K. B. 1996. Oxidative stress: Animal adaptations in nature. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29:1715-1733.

Sturm A. & Hansen P. D. 1999. Altered Cholinesterase and monooxygenase levels in *Daphnia Magna* and *Chironomus Riparius* exposed to environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. saf.* 42:9-15.

Sun Y., L.W. Oberley, & Y. Li. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34:497-500.

Tadros, M., P. Bulthia, & W. Smith. 1990. Differential response of marine diatoms to trace metal. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44:826-831.

Valdez-Perezgasca F. & V. Cabrera-Morelos. 1999. La contaminación por metales en torreón Coahuila México. pp. 1-46.

Van der Oost R., J. Beyer, & N. P. E. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environ. Toxicol. Pharm.* 13:57-149.

Van der Ven, L. T. M., P. W. Wester, & J. G. Vos. 2003. Histopathology as a tool for the evaluation of endocrine disruption in *zebrafish*. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:908–913.

Wetzel, R. G. 2001. Limnology Lake and river ecosystems. Academic Press, New York USA. p.1006.

Winston G. W. 1991. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. C* 100:173-176.

Zambrano, L., V. Contreras, H. M. Mazari, & A.M. A. Zarco. 2009. Spatial heterogeneity of water quality in a highly degraded tropical freshwater ecosystem. *Environ. Manage.* 43:249-263.