

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**



**CARACTERIZACIÓN DE RIESGO ECOTOXICOLÓGICO
DE DOS CUERPOS DE AGUA DE TLAXCALA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

PRESENTA:

BIOL. AZUCENA GONZÁLEZ POZOS

BAJO LA DIRECCIÓN DE:
DRA. LIBERTAD JUÁREZ SANTACRUZ

TUTORAS
DRA. EDELMIRA GARCÍA NIETO
DRA. CLAUDIA IRENE CALVARIO RIVERA



IXTACUIXTLA, TLAX.

ENERO 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Código: 505-RGE-04
Publicación: Febrero 2018
Revisión: 9001.2015 02

BIOL. AZUCENA GONZÁLEZ POZOS
CANDIDATO A MCSA
PRESENTE

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de titulación ha revisado el trabajo de investigación titulado: "**Caracterización de riesgo ecotoxicológico de dos cuerpos de agua de Tlaxcala**", realizado bajo la dirección de la Dra Libertad Juárez Santacruz. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

- Dra. Edelmira García Nieto
- MSP. Patricia Limón Huitrón
- Dra. Libertad Juárez Santacruz
- Dra. Arely Anaya Hernández
- MCA. Silvia Castro Hernández
- Dr. Héctor Santos Luna Zendejas

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"
Ixtacuixtla, Tlax., 25 de enero de 2019

MSP. PATRICIA LIMÓN HUITRÓN
COORDINADOR(A) DE LA MCSA

c.c.p. Expediente



Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la vida por permitirme llegar a este momento tan importante en mi formación profesional.

Te agradezco Brien por todo ese apoyo que me brindas día con día, en especial por permitirme crecer en lo profesional, jamás me has dicho un ¡No puedes! al contrario siempre me motivas para lograrlo y esta tesis y este grado que obtengo de Maestra en Ciencias en Sistemas del Ambiente es producto de ello. Cosas como estas son las que marcan la vida de una persona ¡Gracias! Y por su puesto a una personita especial, mi hija Naomi que comprende cuando tengo trabajo o que tengo que estudiar y me da tiempo para hacerlo, es mi motivación para siempre ser mejor día con día y que en algún momento sea su persona a seguir.

Agradezco a mis padres y hermanos y obvio a mi hermana que jamás me ha negado el apoyo que necesito, que gracias a ello puedo estar tranquila y puedo superarme sin ningún problema igual agradezco a mis cuñadas y sobrinos por su compañía, cariño y aprecio y a mis suegros por su apoyo incondicional.

Doctoras Libertad y Edelmira, infinitamente les doy las gracias por su amistad, apoyo, dedicación y más que nada por su PACIENCIA y sabemos a qué me refiero, pero finalmente el logro se ha cumplido.

Les agradezco a mis compañeros de generación que tuvieron esa paciencia para convivir conmigo y que en su momento nos apoyamos para entender algunas materias. Les agradezco Eduardo y José Antonio que se han vuelto personas indispensables en mi vida, agradezco el tiempo que se toman para tener charlas científicas y debates que han servido para mi formación académica.

Agradezco a todo el personal que comprende el CIGyA que cada uno de ellos apporto algo positivo a mi formación durante mi estancia en el posgrado, así mismo a CONACYT que gracias a la Beca No. 605717 que me otorgo pude permanecer y concluir con mi trabajo de investigación y así obtener el grado.

AGRADECIMIENTO A:

Dra. Claudia Romo Gómez
Laboratorio de Ciencias Ambientales AAQ-UAEH
Por el apoyo para el análisis de elementos potencialmente tóxicos

Asociación Zahuapan Vivo AC
Por el apoyo durante la inspección e identificación de fuentes de contaminación de los sitios de estudio.

Proyecto PRODEP: UATLX-PTC-127-Oficio No. DSA/103.5/16/10475.

Proyecto Cátedras-CONACyT No. 467

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. CALIDAD DEL AGUA.....	11
1.2. ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS.....	12
1.2.1. CADMIO.....	13
1.2.2. PLOMO.....	14
1.2.3. ZINC.....	14
1.2.4. NIQUEL.....	15
1.2.5. CROMO.....	16
1.2.6. COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE LOS METALES PESADOS.....	16
1.2.7. EXPOSICIÓN Y EFECTO DE LOS METALES SOBRE LA BIOTA.....	17
1.2.8. MECANISMOS DE TOXICIDAD.....	18
1.3. ANÁLISIS DE RIESGO.....	19
1.4. BIOINDICADORES.....	22
1.4.1. <i>Cyprinus carpio</i> L.....	24
1.5. BIOMARCADORES.....	25
1.5.1. ENSAYO DE MICRONÚCLEOS (EMN).....	26
1.6. DESCRIPCIÓN DE LOS SITIOS DE ESTUDIO.....	28
1.6.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	28
1.6.1.1. PRESA DE ATLANGATEPEC.....	28
1.6.1.2. PRESA DE LÁZARO CÁRDENAS.....	30
2. ANTECEDENTES.....	31
3. JUSTIFICACIÓN.....	36
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	38
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	39
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
4.3. HIPÓTESIS.....	39

5. METODOLOGÍA.....	40
5.1. SITIOS DE ESTUDIO.....	41
5.2. INTEGRACIÓN PRELIMINAR.....	41
5.2.1. MUESTREO AMBIENTAL.....	41
5.2.2. MUESTREO BIOLÓGICO.....	41
5.2.2.1. MUESTRA DE SANGRE.....	42
5.2.2.2. MUESTRA DE TEJIDO MUSCULAR.....	42
5.3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS.....	43
5.3.1. AGUA, DETERMINACIÓN <i>in situ</i>	43
5.3.2. PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE SEDIMENTO.....	43
5.3.2.1. DETERMINACIÓN DE PH.....	43
5.3.2.2. PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA, MÉTODO DE WALKLEY-BLACK.....	44
5.3.2.3. DETERMINACIÓN DE TEXTURA.....	44
5.4. CUANTIFICACIÓN DE METALES (NMX-AA-051-SCFI-2001).....	45
5.4.1. DIGESTIÓN DE MUESTRAS.....	46
5.4.1.1. AGUA.....	46
5.4.1.2. SEDIMENTO Y TEJIDO MUSCULAR.....	46
5.4.2. CUANTIFICACIÓN DE METALES.....	46
5.4.3. COCIENTE DE PELIGRO.....	47
5.5. EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD.....	47
5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	48
6. RESULTADOS.....	49
6.1. MUESTREO AMBIENTAL.....	50
6.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS.....	54
6.2.1. AGUA DETERMINACIÓN <i>in situ</i>	54
6.2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SEDIMENTOS.....	55
6.3. CUANTIFICACION DE METALES EN AGUA Y SEDIMENTO.....	56
6.4 COCIENTE DE PELIGRO (CP).....	60
6.5. ANÁLISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	62
6.5.1. PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS DE <i>Cyprinus carpio</i> L.	62
6.5.2. CUANTIFICACIÓN DE METALES EN TEJIDO MUSCULAR DE PECES.....	63

6.5.3. EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD	64
7. DISCUSIÓN.....	68
8. CONCLUSIONES	76
9. REFERENCIAS	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I	Parámetros físicos y químicos <i>in situ</i> del agua de las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas.	55
Tabla II	Parámetros físicos y químicos de sedimento de la presa de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas.	57
Tabla III	Concentración de metales en agua de la presa de Atlangatepec.	58
Tabla IV	Concentración de metales en sedimento de la presa de Atlangatepec.	59
Tabla V	Concentración de metales en agua de la presa de Lázaro Cárdenas.	60
Tabla VI	Concentración de metales en sedimento de la presa de Lázaro Cárdenas.	61
Tabla VII	Cociente de peligro (CP) de metales cuantificados en agua y sedimento de la presa de Atlangatepec.	61
Tabla VIII	Cociente de peligro de metales cuantificados en agua y sedimento de la presa de Lázaro Cárdenas.	62
Tabla IX	Medidas morfométricas y factor de condición de carpas (<i>C. carpio</i>) L. capturados en cada uno de los sitios de estudio.	63
Tabla X	Promedio de las concentraciones de metales pesados (mg/Kg) en tejido muscular de <i>C. carpio</i> L. de los sitios de estudio.	63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema que representa la Evaluación Integral de Riesgo (Modificado de Díaz-Barriga, 1999; Ilizaliturri et al., 2009; Mejía et al., 2002; Torres et al., 2006).	22
Figura 2.	Morfología de <i>C. carpio</i>	24
Figura 3.	Ubicación geográfica de los sitios de estudio en el estado de Tlaxcala.	30
Figura 4.	Obtención de muestra de sangre de <i>C. carpio</i> L..	42
Figura 5.	Obtención de muestra de tejido muscular de <i>C. carpio</i> L.	43
Figura 6.	Descargas de agua de origen doméstico al cauce del río Zahuapan.	50
Figura 7.	Descargas de aguas sin tratamiento de la PTAR del municipio de Tlaxco al río Zahuapan.	50
Figura 8.	Simulador de flujos de agua de cuencas hidrográficas para la presa de Atlangatepec DR© (INEGI, 2012).	51
Figura 9.	Ubicación de los sitios de muestreo en la presa de Atlangatepec (Google Earth Pro, 2017).	52
Figura 10.	Simulador de flujos de agua de cuencas hidrográficas para la presa de Lázaro Cárdenas DR© (INEGI, 2012).	53
Figura 11.	Ubicación de los sitios de muestreo de la presa de Lázaro Cárdenas (Google Earth Pro, 2017).	53
Figura 12.	Promedio de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de <i>C. carpio</i> L. de los sitios de estudio. Análisis de varianza de un factor, prueba de Tukey $p>0.05$	65
Figura 13.	Anormalidades nucleares de eritrocitos de sangre periférica de <i>C. carpio</i> L., a) eritrocito glomerular (EG), b) célula dentada (DE), c) célula binuclear (BN) d) eritrocito binuclear con puente (BNP).	65
Figura 14	Frecuencia de células binucleadas en eritrocitos de sangre de <i>C. carpio</i> L. de ambos sitios de estudio.	66
Figura 15.	Frecuencia de NB en eritrocitos de <i>C. carpio</i> L. de ambos sitios de estudio	66
Figura 16.	Frecuencia de células DE en eritrocitos de <i>C. carpio</i> L. de ambos sitios de estudio	67
Figura 17.	Frecuencia de células EG en eritrocitos de sangre de <i>C. carpio</i> L. de ambos sitios de estudio	67

RESUMEN

En la actualidad uno de los principales problemas que aquejan a los cuerpos de agua es la contaminación derivada de fuentes relacionadas con actividades antrópicas de origen doméstico, industrial y agrícola. Las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas, son dos ecosistemas acuáticos de gran relevancia ecológica, económica y social, para el estado de Tlaxcala, sin embargo, ambos cuerpos han sido potencialmente afectados por diferentes actividades antrópicas. Una forma de evaluar la contaminación ambiental, es mediante la aplicación de la metodología de Evaluación Integral de Riesgo, la cual permite obtener resultados encaminados con la toma de decisiones encaminadas a la protección del ambiente. El objetivo de esta investigación fue realizar una evaluación ecotoxicológica en estos sitios a través de la cuantificación de elementos potencialmente tóxicos en agua, sedimento y tejido de peces de la especie *Ciprinus carpio* L., así como del daño al DNA mediante el ensayo de micronúcleos. De los cinco EPT (Pb, Zn, Cr, Cd y Ni) únicamente fueron detectados Pb, Cr, Ni y Zn. Los resultados de la cuantificación en agua indican la presencia de Pb tanto en la presa de Atlangatepec (0.34-1.05 mg/L) como en la de Lázaro Cárdenas (0.59-1.40 mg/L) rebasando los límites máximos permisibles de contaminantes para protección de vida acuática mencionado en la NOM-001-ECOL-1996, para el caso de los sedimentos únicamente en la presa de Atlangatepec las concentraciones de Pb (58.9-786.1 mg/Kg) y Cr (1.1-104.8 mg/Kg) fueron superiores a la norma canadiense (ISQG: Guía Provisional de Calidad del Sedimento) a su vez los peces capturados en dicha presa presentaron concentraciones de Pb en tejido muscular de 395.7 ± 125.3 mg/Kg con un valor superior a los de Codex-Alimentarius (>0.3 mg/kg) (FDA, enmienda 2015). Con respecto a la evaluación de la genotoxicidad la frecuencia de micronúcleos (MN) osciló entre 25 ± 15.56 MN/1000 y 69.5 ± 6.36 MN/1000 para los organismos de Atlangatepec y en los de la presa de Lázaro Cárdenas fue de 11.5 ± 7.78 a 41 ± 14.14 MN/1000, en ambos casos los valores fueron de 2 a 8 veces más altos que el valor estimado en los peces de referencia (8.25 ± 2.12 MN/1000 CT).

En cuanto al coeficiente de peligro (CP) en ambos sitios de estudio tanto para Pb como para Ni fueron superiores a 1, lo que indica riesgo para flora y fauna.

ABSTRAC

Currently, most of the bodies of water are mainly contaminated by sources related to the anthropic activities of domestic, industrial and agricultural origin. The Atlangatepec and Lázaro Cárdenas dams are two aquatic ecosystems of great ecological, economic and social relevance, for the state of Tlaxcala, however, both bodies have been potentially affected by different anthropic activities. One way to assess environmental pollution is through the application of the Integral Risk Assessment methodology, which is a useful tool for making decisions aimed at protecting the environment. The objective of this investigation was to carry out an ecotoxicological evaluation in these sites through the quantification of potentially toxic elements in water, sediment and tissue of fish of the species *Ciprinus carpio* L., as well as the damage to DNA by means of the micronucleus test. Of the five EFAs (Pb, Zn, Cr, Cd and Ni) only Pb, Cr, Ni and Zn were detected. The results of the water analysis indicate the presence of Pb both in the Atlangatepec dam (0.34-1.05 mg / L) and in that of Lázaro Cárdenas (0.59-1.40 mg / L) exceeding the maximum limits permissible contaminants for the protection of aquatic life mentioned in NOM-001-ECOL-1996, for the case of sediments only at the Atlangatepec dam, the concentrations of Pb (58.9-786.1 mg / Kg) and Cr (1.1-104.8 mg / Kg) were higher than the Canadian standard (ISQG: Provisional Guide to Sediment Quality), in turn, the fish caught in this dam had Pb concentrations in muscle tissue of 395.7 ± 125.3 mg / Kg with a value higher than Codex-Alimentarius (> 0.3 mg / kg) (FDA, amendment 2015). Regarding the evaluation of genotoxicity, the frequency of micronuclei (MN) ranged between 25 ± 15.56 MN / 1000 and 69.5 ± 6.36 MN / 1000 for Atlangatepec organisms and for those at the Lázaro Cárdenas dam it was 11.5 ± 7.78 a 41 ± 14.14 MN / 1000, in both cases the values were 2 to 8 times higher than the estimated value in the reference fish (8.25 ± 2.12 MN / 1000 CT).

Regarding the danger coefficient (CP) in both study sites, both for Pb and Ni were higher than 1, indicating risk for flora and fauna.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CALIDAD DEL AGUA

El agua es un recurso indispensable para el desarrollo de la vida, el ser humano utiliza los servicios ambientales de los diversos cuerpos de agua como, ríos, lagos o costas, y por ende ejerce una influencia directa o indirecta sobre ellos y su biota (Aguilar y Duran, 2010).

La calidad del agua se establece a través de su caracterización química y física en comparación con lo establecido en las normas y estándares oficiales, condicionando su uso para actividades específicas como el consumo humano o ambiental. Su calidad puede verse afectada por procesos tanto naturales como antrópicos. (CONAGUA, 2017; ONU, 2016). su evaluación se realiza mediante la caracterización de tres indicadores (CONAGUA, 2017):

- Demanda Bioquímica de Oxígeno a cinco días (DBO₅)
- Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- Sólidos Suspendidos Totales (SST).

La DBO₅ y la DQO indican la concentración de materia orgánica (MO) presente en los cuerpos de agua, ésta proviene principalmente de aguas residuales municipales y no municipales. La DQO representa la concentración total de MO, mientras que la DBO₅ solo corresponde a aquella que puede biodegradarse. El incremento en ambos parámetros genera la disminución del oxígeno disuelto, lo cual puede alterar la salud de los ecosistemas acuáticos (CONAGUA, 2016).

La concentración de SST provienen principalmente de la erosión del suelo y de las aguas residuales, el incremento de los niveles de éste parámetro en los cuerpos de agua disminuye el desarrollo de la vegetación acuática y afecta al resto de su biodiversidad, debido a la turbidez que genera, así como por la reducción de la penetración de la luz solar (CONAGUA, 2016).

Por otra parte, la evaluación de la calidad del agua debe abordarse desde un punto

de vista integral, es decir, además de sus características físicas, químicas y biológicas; debe tomarse en cuenta el contexto ecológico, así como los usos y valores que le son otorgados (Aguilar y Duran, 2010).

1.1.2. CONTAMINACIÓN DE LOS CUERPOS DE AGUA

En la actualidad uno de los temas de mayor preocupación con referencia a la seguridad del agua, es la potencial contaminación química cuyas fuentes de contaminación dependerán de su origen los cuales pueden ser naturales o antrópicas entre las que destacan las aguas residuales domésticas, industriales y las de origen agrícola que incorporan sustancias químicas inorgánicas solubles en agua como; ácidos, sales, nutrimentos vegetales inorgánicos, compuestos orgánicos persistentes (COPs) y elementos potencialmente tóxicos (EPT) (Manahan, 2009). Estas sustancias son vertidas a los ecosistemas acuáticos por escurrimientos o deposición directa y representan una seria amenaza para los ecosistemas (Jaiswal *et al.*, 2018).

1.2. ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

Los EPT son un grupo de elementos químicos conformado por: arsénico (As), cromo (Cr), cobalto (Co), níquel (Ni), cobre (Cu), zinc (Zn), plata (Ag), mercurio (Hg), titanio (Ti), selenio (Se) y plomo (Pb) (INECC, 2009). Asimismo, en cuestión de salud humana, también se consideran EPT aquellos metales que son esenciales en cantidades traza, pero que llegan a ser tóxicos cuando su concentración se incrementa (Alloway, 2013; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005).

Según su origen se encuentran de forman natural o antrópica en la corteza terrestre, son elementos electropositivos con una densidad de 5 g/cm³ o mayor, como elementos, algunos son requeridos por los organismos en pequeñas cantidades tales como; Fe, Mn, Mo, Co, Cu y Zn, sin embargo, en cantidades excesivas éstos pueden provocar daños severos (Pérez, 2005).

Sin embargo, existen otros como; Hg, Pb y As, que no tienen ninguna función biológica en el organismo, pero son tóxicos en mínimas cantidades y su acumulación puede causar serias enfermedades. Los EPT poseen tiempos de degradación elevados (vida-media) (Pérez, 2005) con potencial de causar problemas de toxicidad (Alloway, 2013) y pueden provenir como consecuencia del uso indiscriminado de agroquímicos, así como de residuos de minería y fundición, por mencionar algunos (Covarrubias y Peña-Cabriales *et al.*, 2017).

Según su toxicidad y abundancia los EPT que participan en la contaminación son: Hg, As, Pb, Cr, Cd y Co, entre otros, éstos al ser liberados a los ecosistemas acuáticos pueden impactar negativamente al suelo, además, debido a su capacidad de bioacumulación pueden entrar a la cadena trófica generando diversos efectos sobre la biota incluyendo a los seres humanos (Covarrubias y Peña-Cabriales *et al.*, 2017; Bi *et al.*, 2018; Jaiswal *et al.*, 2018).

1.2.1. CADMIO

Este elemento es parte de la constitución de la corteza terrestre, presenta coloración blanca, generalmente en el ambiente se encuentra combinado con otros elementos, formando complejos de óxidos, sulfuros y carbonatos. Los compuestos de Cd a menudo se encuentran o se unen a pequeñas partículas presentes en el aire, suelo y rocas en cantidades pequeñas, principalmente (algunos combustibles fósiles o fertilizantes). Este elemento se utiliza en la elaboración de diversos productos, principalmente en baterías, pigmentos, revestimientos metálicos, plásticos y algunas aleaciones metálicas; los incendios forestales y los volcanes pueden liberar Cd al aire, así como, la quema de desechos domésticos, éste metal no se descompone en el ambiente, sin embargo, puede cambiar en diferentes formas y permanece por mucho tiempo en el lugar donde ingresó por primera vez, de esta manera, algunas de estas formas del Cd pueden ser bioabsorbidas o bioacumuladas por plantas, peces y otros animales (ATSDR, 1999; ATSDR, 2016).

1.2.2. PLOMO

Naturalmente se encuentra en la corteza terrestre, generalmente combinado con dos o más elementos formando aleaciones las cuales se utilizan en tuberías, baterías, pesas, proyectiles y municiones, revestimientos de cables y láminas usadas para protección de radiación, aunque, su principal uso es en baterías para automóviles, como pigmentos en pinturas, en barnices para cerámicas y en materiales de relleno (ATSDR, 2016).

Las concentraciones más altas de Pb se originan por actividades humanas, como la quema de carbón, petróleo o desechos, arrojándolo a la atmósfera, permitiendo viajar a grandes distancias, cuando se deposita en el suelo, puede adherirse a las partículas permaneciendo en la superficie, su movilización dependerá del tipo de especiación y de las propiedades fisicoquímicas del suelo. A los ecosistemas acuáticos como ríos, lagos y arroyos este metal puede incorporarse por escorrentía de partículas presentes en suelo, además, puede provenir de cañerías o de soldaduras que se pueden liberar cuando el agua presenta un pH ácido, diversos compuestos de Pb son transformados por influencia de la luz solar, el aire y el agua, mientras que el elemental no se degrada (ATSDR, 2016).

1.2.3. ZINC

Este elemento es parte de la constitución de la corteza terrestre, además se encuentra en aire, suelo, agua y alimentos, como resultado de procesos naturales y actividades humanas. En su forma pura es un metal brillante blanco-azulado, en el ambiente se encuentra en forma de sulfuro de Zn. Se usa comúnmente como revestimiento de hierro y otros metales para evitar enmohecimiento y corrosión, además mezclado con otros metales forma aleaciones como el latón y bronce. Combinado con, cloro, oxígeno y/o azufre forma compuestos como el cloruro de zinc, óxido de zinc, sulfato y sulfuro de zinc, entre otros; los cuales pueden encontrarse en sitios de desechos peligrosos. Los compuestos de Zn son utilizados en la industria, el sulfuro y óxido de zinc se usan para fabricar pintura blanca, cerámicas, así como en la manufactura de caucho entre otros. Algunos otros compuestos como el acetato, cloruro y sulfato de zinc se usan como preservadores de madera y para

elaboración de colorantes de telas. La concentración más alta de éste elemento proviene de la refinación de minerales de Zn, Pb y Cd, la producción de acero así como de la incineración de carbón y desperdicios. La presencia en suelo se debe principalmente a la disposición de residuos de industrias que manufacturan metales y de cenizas de carbón generadas por plantas de electricidad, así como por la deposición de lodos y abonos. En el aire, éste elemento se encuentra como partículas finas de polvo y generalmente se deposita en suelo y agua, los factores meteorológicos como la lluvia, la nieve y el viento contribuyen a su remoción. En ambientes acuáticos se concentra en el fondo, aunque cantidades pequeñas pueden permanecer disueltas en el agua o suspendidas como partículas finas, cuya concentración aumenta cuando la acidez del agua se incrementa. Los peces acumulan en su cuerpo Zn mediante el consumo del agua y los alimentos (ATSDR, 2016).

1.2.4. NIQUEL

Es un metal duro, blanco-plateado, sus propiedades físicoquímicas le permiten combinarse con otros metales como el Fe, Cu, Cr o Zn formando aleaciones, las cuales son ampliamente utilizadas en la fabricación de monedas, joyas y en la industria para elaborar válvulas e intercambiadores de calor. Muchos de los compuestos de Ni son solubles en agua no tienen ni olor ni sabor característico, se usan para niquelado, colorear cerámicas, fabricar baterías y catalizadores que incrementan la velocidad de reacciones químicas (ATSDR, 2016).

El Ni puede encontrarse en forma natural en la corteza terrestre, se menciona que aproximadamente el 6 % del centro de la tierra está compuesto por este elemento, además se localiza en el fondo del océano en forma de masas de minerales denominados nódulos. Este metal se encuentra en combinación con otros elementos, como el O₂ o S, formando óxidos o sulfuros. Es liberado a la atmósfera de forma natural mediante actividades volcánicas y de manera antrópica a través de industrias donde el Ni así como sus aleaciones y otras mezclas del mismo son utilizadas, además de las plantas de energía que usan petróleo o carbón como combustible, las chimeneas de grandes hornos usados para fabricar aleaciones o por plantas de energía e incineradores de basura . Una gran cantidad del Ni que se

libera al ambiente se deposita en el suelo o sedimento donde se adhiere a partículas que contienen Fe o Mn. Las condiciones ácidas permiten su movilización en el suelo y facilitan su filtración a aguas subterráneas (ATSDR, 2016).

1.2.5. CROMO

El Cr se encuentra de forma natural en rocas, animales, plantas y suelo, se puede presentar varias formas y dependiendo de ésta, puede presentarse en forma líquida, sólida o gaseosa, las más comunes son el Cr (III) y (VI), y no presentan ningún sabor u olor especial (ATSDR, 2016). El Cr elemental, se utiliza en la fabricación de acero, mientras que el Cr (III) y (VI) en cromado, colorantes y pigmentos, curtido de pieles y preservación de madera.

Este elemento generalmente no permanece en la atmósfera después de ser liberado durante los diversos procesos de manufactura de productos a base de éste, puede transformarse fácilmente en el agua y suelo, dependiendo de sus propiedades, sin embargo, en los peces no se acumula en altas concentraciones en sus tejidos (ATSDR, 2016).

1.2.6. COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE LOS METALES PESADOS

Los EPT se distribuyen en la atmósfera, hidrosfera, litosfera y biosfera a través de los ciclos biogeoquímicos, existen fuentes de energía que permiten la distribución y liberación de éstos, por ejemplo; la radiación solar, los procesos cinéticos y el potencial químico, sin embargo, el comportamiento de los metales depende tanto de sus propias características como de las particularidades del lugar donde se encuentren (Pérez, 2005). El contenido de hidróxidos y óxidos permiten una alta capacidad de adsorción por lo que una concentración alta de elementos traza se benefician acumulándose en este tipo de compuestos y quedar retenidos, además el tiempo, la vegetación y la actividad microbiana, son factores que influyen en la movilidad aunque son de menor importancia, de hecho, los mecanismos que mas

influyen en la movilidad de los EPT son: las reacciones de precipitación-disolución, ácido-base, oxidación-reducción, adsorción-desorción y complejación (Pérez, 2005).

Los EPT en los sistemas acuáticos tienden a formar asociaciones con sustancias minerales (carbonatos, sulfatos, etc.) y en mayor grado con sustancias orgánicas mediante fenómenos de intercambio iónico, adsorción, quelación, formación de combinaciones químicas etc., acumulándose principalmente en los sedimentos (Förstner y Witmann, 1981; Dekov *et al.*, 1998).

Los EPT incorporados al suelo pueden seguir alguna de las siguientes vías:

- Quedar retenidos, ya sea disueltos en solución o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación.
- Ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas.
- Pasar a la atmósfera por volatilización.
- Movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas.

1.2.7. EXPOSICIÓN Y EFECTO DE LOS METALES SOBRE LA BIOTA

Los riesgos provocados por metales pesados dependen de su toxicidad y del carácter acumulativo de cada elemento, especialmente aquellos que presentan un índice de bioacumulación superior a 1. La bioacumulación se refiere a la acumulación de contaminantes en los organismos, mientras que el índice de bioacumulación hace referencia a la relación entre la cantidad de un contaminante en un organismo en relación a la concentración de éste en el ambiente (Pérez, 2005).

Las posibles rutas de exposición son el aire, suelo, las escorrentías, sedimentos y agua, mientras que, las principales vías de exposición son la inhalación, ingestión y contacto dérmico, todo esto dependerá de la especie química que se encuentren formando los metales pesados, para ello se ha optado por el empleo de organismos que permitan medir la magnitud de estos eventos, ya sea en tejido o fluido biológico, de un organismo, dando evidencia de la exposición a uno o más contaminantes (Peña *et al.*, 2001).

La exposición prolongada y las altas concentraciones de diferentes EPT puede generar diversos efectos, entre ellos inducir daño genotóxico, al manifestar algunos de los siguientes daños (Pérez, 2005; EPA, 2010; Flora, 2014):

- Hiperpigmentación, queratosis (As)
- Nefrotoxicidad, osteoporosis (Cd)
- Hiperglucemia, reducción del crecimiento, trastornos renales y problemas respiratorios (Ni)
- Osteoporosis, trastornos en el riñón, trastornos en la reproducción, en la visión y en el sistema nervioso (Pb)
- Anemia, dificultades en la absorción del alimento y en la ganancia de peso (Zn)

Algunos EPT como el Cr (VI), puede provocar problemas gastrointestinales y hepáticos, además es considerado un elemento genotóxico y citotóxico para organismos procariontes y eucariotes, al ser ingerido por medio del agua en concentraciones muy altas (Robles- Camacho y Armienta, 2000).

1.2.8. MECANISMOS DE TOXICIDAD

Los mecanismos por los que los metales actúan induciendo su toxicidad en los organismos pueden esquematizarse como:

- Desactivación de la actividad enzimática.
- Alteración de la permeabilidad de las membranas por interacción con estas e inhibiendo sus grupos reactivos.
- Competencia con otras metaloenzimas.
- Alteración de la mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis.
- Reacción con grupos amino y sulfhídrido de las proteínas. Metales blandos como el Cd, Pb y Hg, presentan una elevada afinidad por los grupos sulfhídrido de los residuos de cisteína, por lo que son altamente tóxicos.
- Actúan como antimetabolitos, formación de quelatos o precipitación con los metabolitos esenciales.
- Formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) provocado por la autoxidación de metales como el Fe^{2+} o Cu^+ , induciendo la formación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de radicales OH (Schützendübel y Polle, 2002), siendo éste último uno de los más reactivos por su capacidad de iniciar reacciones en cadena de radicales libres ocasionando modificaciones y daño irreversible en compuestos celulares como; carbohidratos, ácido desoxirribonucleico (ADN), proteínas y lípidos (Mithöfer *et al.*, 2004).

1.3. ANÁLISIS DE RIESGO

El Análisis de Riesgo Ambiental es un proceso cuyo objetivo es asignar magnitudes y probabilidades a los efectos adversos sobre los receptores humanos y ecológicos, producto de la contaminación. Es considerado como un instrumento que puede utilizarse para establecer el grado de contaminación de un sitio y si este genera efectos nocivos, entre mayor sea el riesgo de que la contaminación afecte a los seres vivos, mayor será la necesidad de efectuar programas de restauración (Torres *et al.*, 2006).

En términos generales, el concepto de riesgo se refiere a la posibilidad de que ocurra un hecho con consecuencias negativas (USEPA, 2001). Los riesgos se presentan en la vida diaria y existen en cierto nivel en todas las actividades que

realizamos, las cuales conllevan importantes beneficios, pero también pueden generar consecuencias negativas con diferente grado de severidad. Un concepto completo de riesgo tiene que comprender el concepto de exposición a un peligro. Ésta puede ser voluntaria, es decir aquella donde se decide libremente correr el riesgo de llegar a sufrir un accidente, o involuntaria, como puede resultar la exposición a sustancias tóxicas presentes en el ambiente (aire y agua) y alimentos. Los efectos negativos de una exposición de este tipo dependerán de la toxicidad de la sustancia, dosis, y del tiempo y frecuencia a la exposición (Ize Lema, 2003).

Una forma de caracterizar la naturaleza y la magnitud de riesgo por la exposición a sustancias peligrosas presentes en el ambiente, es por medio la evaluación de riesgo, mediante las estimaciones del peligro en función de la exposición a una o varias sustancias identificadas y la probabilidad de que esa exposición ocurra. Desde una perspectiva ecológica, el problema consiste en analizar las condiciones complejas de exposición y sus efectos en un sistema (Díaz-Barriga, 1999; Mejía *et al.*, 2002; Xiao *et al.*, 2006). Mientras que, la evaluación de riesgo en salud humana permite identificar aquellos sitios que representan un alto riesgo de exposición para la población, y evaluar la contribución de las actividades antropogénicas en diferentes áreas (Díaz-Barriga, 1999).

La evaluación de Riesgo Ecológico es un proceso que permite estimar la probabilidad de los efectos ecológicos que se producen o pueden ocurrir como consecuencia de la exposición a uno o más factores de estrés, a través de un análisis efectivo sobre la información proporcionada sobre el proceso de transporte de contaminantes y su influencia negativa sobre las especies de los ecosistemas (Illizaliturri *et al.*, 2009).

Por otra parte la Evaluación Integral de Riesgo está basada en la combinación de riesgos en seres humanos, biota y recursos naturales, con la finalidad de determinar el peligro que representan los sitios potencialmente peligrosos y establecer los posibles mecanismos de restauración, de tal manera que se proponen cinco pasos

fundamentales, descripción del sitio, análisis de la contaminación ambiental, valoración de los componentes bióticos, valoración de los componentes humanos y caracterización del riesgo (Torres *et al.*, 2006; Illizaliturri *et al.*, 2009).

La metodología de Riesgo Integral (Figura 1) consiste en:

- Descripción del sitio a evaluar: con base en los antecedentes de contaminación que de éste se tenga, obteniendo datos de identidad del sitio (ubicación, población, actividades, características ecológicas) mediante una visita al sitio, donde además se obtiene información acerca de la preocupación de la comunidad con respecto a la situación ambiental, aunado a esto se identifican rutas de exposición, así como de los posibles contaminantes de la región (Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).
- Integración preliminar: consiste en un análisis de la contaminación ambiental, donde se incluye un plan de muestreo que abarca la selección de la matriz ambiental (agua, suelo, sedimento, alimentos, hojas, etc.) a su vez se considera el tipo de compuesto que se sospecha estará presente en ese ambiente, la identificación de los sitios de muestreo en función de los puntos de exposición y el número de muestras (Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).
- Evaluación de la exposición y el efecto (índice de toxicidad ambiental) se realiza un estudio con las especies nativas para evaluar la exposición de los organismos mediante diversos marcadores de exposición (cuantificando el compuesto dentro del organismo) y efectos (genotóxicos, neurológicos, de comportamiento, etc.) (Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).
- Valoración de los seres humanos: también es necesario, ya que son un conjunto de organismos que pueden estar en riesgo por exposición a contaminantes del sitio, también es necesario el empleo de biomarcadores de exposición, además debe realizarse también el análisis de los efectos biológicos asociados a la toxicidad del compuesto, como puede ser daño al DNA (Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).

- Caracterización del riesgo: cada etapa debe ser analizada en un principio por separado y enseguida de manera integrada. En cada sección se discuten las limitaciones, las incertidumbres y los factores contundentes. Se comparan los datos del sitio contaminado contra los obtenidos en algún sitio control y contra valores de referencia disponibles en la literatura científica o que hayan sido reportados en las normas nacionales o internacionales. Habrán de exponerse análisis cualitativos y cuantitativos. Por último, se determina si existe riesgo, cuál es la magnitud de éste y cuáles serían las acciones que pudieran llevarse a cabo para disminuirlo (Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).

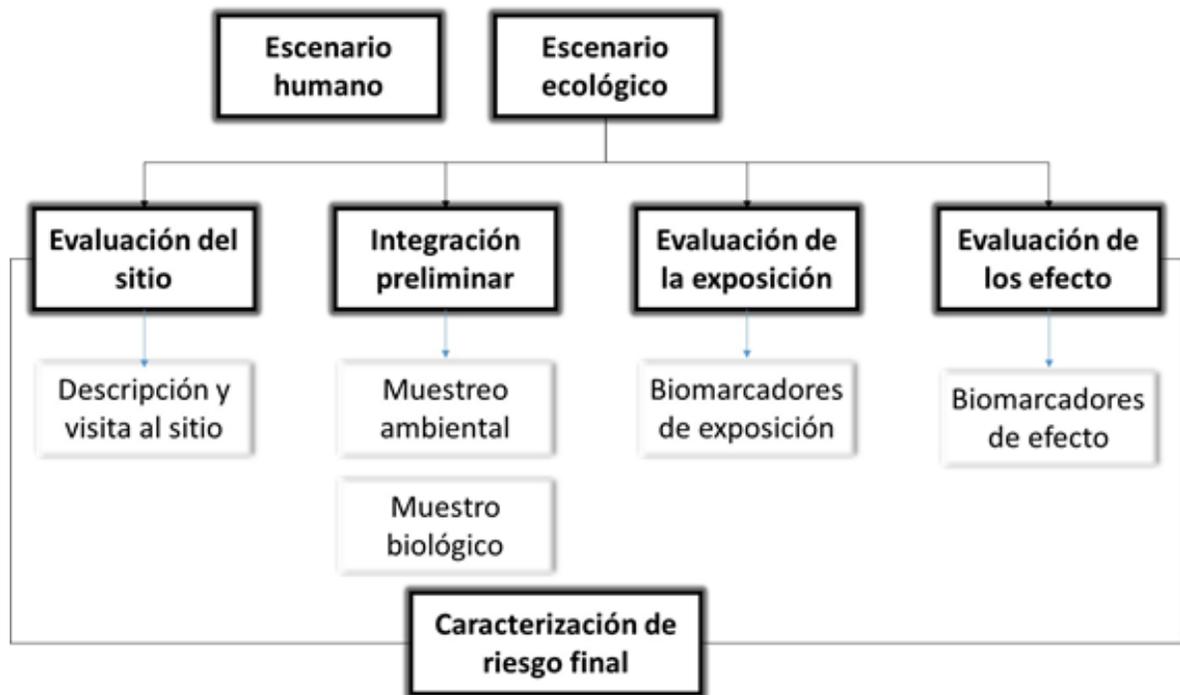


Figura 1. Esquema que representa la Evaluación Integral de Riesgo (Modificado de Díaz-Barriga, 1999; Ilizaliturri *et al.*, 2009; Mejía *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2006).

1.4. BIOINDICADORES

Como bioindicadores se consideran a los organismos que por sus características fisiológicas, reproductivas y ecológicas son empleados para estimar algunas características del ambiente donde se encuentran y que por su dificultad o costo resulta inconveniente medirlos directamente. Éstos proporcionan información

cuantitativa sobre la salud de los ecosistemas, además del efecto de algunos estresores ambientales como las especies invasoras, la fragmentación del hábitat, la sobreexplotación de los recursos o el impacto del turismo sobre el ambiente, las cuales son difíciles de evaluar (González y Vallarino, 2014).

Para que un organismo pueda utilizarse como bioindicador debe poseer diversas características como: ser suficientemente sensible que permita detectar alteraciones del ambiente, las poblaciones deben ser abundantes, que estén dispersos en el ambiente a estudiar, ser específico y de movilidad restringida para evidenciar las condiciones locales, poseer un tamaño que permita el estudio de los diferentes tejidos, deben ser estenoicos, es decir presentar tolerancia reducida a uno o más factores ambientales y a las concentraciones de contaminantes similares a las observadas en el ambiente contaminado, sin efectos letales. Deberán aportar información biológica relevante además deben presentar resistencia al transporte y manipulación (Torres-Bugarin *et al.*, 2007; Gerhardt, 2010; González y Vallarino, 2014) y que los datos obtenidos a partir de éstos sean fáciles de interpretar.

Los bioindicadores pueden clasificarse como a) Detectores, es decir, aquellos cuya población se vea reducida por la presencia de estresores ambientales, b) Explotadores, este grupo lo integran aquellos organismos en los que por el incremento de nutrientes derivados de la contaminación ambiental aumentan de forma exponencial su población; y c) Acumuladores, aquellos cuya característica de resistencia a la presencia de ciertos contaminantes, los acumulan en su organismo a concentraciones que pueden ser medidas sin sufrir daño aparente (González y Vallarino, 2014).

Entre los grupos taxonómicos utilizados como bioindicadores se encuentran los peces, algas, falsas pulgas y los celenterados, igualmente se encuentran los protozoarios, rotíferos, anélidos y algunos crustáceos, entre otros. Los peces son considerados buenos indicadores de la calidad de ecosistemas acuáticos debido a los niveles que ocupan dentro de la cadena trófica, además de que bioacumulan

sustancias tóxicas y reaccionan fácilmente a bajas concentraciones de agentes contaminantes (Minissi *et al.*, 1996; Gustavino *et al.*, 2001).

1.4.1. *Cyprinus carpio* L.

Diversas especies de peces han sido propuestas como bioindicadores para evaluar la toxicidad y genotoxicidad de sustancias químicas contaminantes, entre ellas se encuentra *C. carpio* L. (carpa barrigona), el cual es un pez de clima templado que resiste temperaturas entre 1 y 35 °C con una óptima de 28 °C. Esta especie se puede diferenciar por el patrón de escamas y la forma de su cuerpo, es una especie muy noble, el cultivo es considerado como fuente potencial rica en proteína de calidad (FAO, 2004).

Morfológicamente *C. carpio* L. (Figura 2) tiene el cuerpo robusto cubierto de escamas, habita en la capa profunda de la columna de agua, alcanza un peso de 400 g en un periodo de 6 a 12 meses, de acuerdo a las condiciones ambientales y manejo del cultivo, las hembras alcanzan su madurez sexual a los 24 meses, mientras que los machos a los 18, dependiendo de la temperatura. Se reproducen una vez al año a temperatura entre 18 y 28 °C, principalmente durante los meses de marzo a agosto (FAO, 2004).



Fig.2. Morfología de *C. carpio*

Según sus hábitos alimenticios son omnívoros, se alimenta de plantas sumergidas, organismos acuáticos, subproductos agrícolas y desperdicios orgánicos (Kohlmann *et al.*, 2003). La carpa común se ha utilizado con éxito en estudios de evaluación de genotoxicidad tanto en estudios *in vivo* como *in situ* (debido a que se ha demostrado a través de la exposición en jaulas que puede soportar hasta cuatro semanas con un mínimo de estrés (Klobučar *et al.*, 2010; García-Nieto *et al.*, 2014).

1.5. BIOMARCADORES

Los marcadores biológicos son cambios medibles, ya sean bioquímicos, fisiológicos o morfológicos y conductuales, que pueden asociarse a la exposición a un tóxico (Peña, 2001; González y Vallarino, 2014).

Se utilizan para:

- Evidenciar la exposición a un tóxico.
- Evaluar las consecuencias biológicas a la exposición.
- Detectar los estados iniciales e intermedios de un proceso patológico.
- Identificar a los individuos sensibles de una población.
- Fundamentar la decisión de intervenir, tanto a nivel individual como ambiental.

Los biomarcadores pueden ser de:

a) Exposición, los cuales indican que el tóxico ha entrado al organismo, proporcionan información cuantitativa sobre la exposición y corroboran el ingreso de tóxicos al organismo y proporcionan resultados sobre la dosimetría interna, es decir la concentración de los xenobióticos y/o sus metabolitos en los medios biológicos, este tipo de biomarcadores pueden ser selectivos como: plomo en sangre, arsénico en orina, dioxinas en leche materna, entre otros; o no selectivos, ejemplo tioéteres en orina (electrófilos).

b) Efecto, los biomarcadores de este tipo evalúan la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad, los cuales representan estados avanzados del proceso de daño (Peña, 2001), por ejemplo: modificaciones en la composición celular sanguínea (ALA-D, Pb), neurotoxicidad (inhibición de acetilcolinesterasa) nefrotoxicidad (albuminas, beta microglobulina,), daño oxidativo al ADN.

Dentro de este grupo se encuentran los biomarcadores de genotoxicidad, los cuales permiten evidenciar las alteraciones producidas a nivel genético por agentes químicos, físicos, biológicos u otros, ya que este incluye el daño directo al DNA o cualquier alteración que conduce a un defecto en las variaciones de la expresión de enzimas que participan en los procesos de replicación o reparación del DNA, así como modificaciones en las fibras del huso o los centriolos, incluyendo a su vez los conceptos de mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis (Poletta, 2011).

Existen diversas pruebas para evaluar el daño al DNA provocado por determinados agentes genotóxicos, por ejemplo, el ensayo cometa y de micronúcleos, ya que, éstos pueden considerarse como un buen biomarcador en estudios de biomonitorio para la detección de la exposición de agentes clastogénicos (Zhong *et al.*, 2001).

1.5.1. ENSAYO DE MICRONÚCLEOS (EMN)

El EMN es una prueba ampliamente utilizada para evaluar el daño genotóxico generado por diversas sustancias químicas y elementos físicos, a través de ésta se determina el daño causado por agentes mutagénicos sobre los cromosomas, identificando fragmentos acéntricos y/o cromosomas rezagados (Terradas *et al.*, 2010; Bolt *et al.*, 2011).

Los micronúcleos (MN) son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que espontáneamente o por causa de agentes genotóxicos, quedan fuera del núcleo durante la división celular (Schmid, 1975). Los agentes aneuploidogénicos (como

colchicina, vincristina y vinblastina), se caracterizan por bloquear la polimerización de microtúbulos durante la formación del huso mitótico, originando de esta manera el rezago de cromosomas, dejándolos fuera de los núcleos hijos. Mientras que los agentes clastogénicos como las radiaciones y algunos medicamentos antineoplásicos (la ciclofosfamida, la arabinosa-c, el busulfán y el metotrexate), actúan como análogos de base, por lo tanto, se intercalan en el ADN, e inhiben su síntesis y ocasionan posteriormente un debilitamiento de enlace entre las bases, lo que termina por producir una fractura cromosómico (Torres-Bugarín *et al.*, 1992).

Normalmente, tras la ruptura de la cadena de ADN los extremos resultantes se suelen unir rápidamente por la acción de enzimas de reparación. La rotura puede ocurrir en un solo punto o en dos puntos y si no se repara el fragmento o fragmentos que no contienen el centrómero se perderá en la siguiente división celular. El centrómero se puede considerar el centro cinético del cromosoma, pues sobre él se sitúan las estructuras llamadas cinetocoros, a las cuales se unen las fibras que constituyen el huso acromático o huso mitótico. Estas fibras o filamentos formados por microtúbulos son de naturaleza proteica, que sirven como rieles en el huso mitótico durante la separación de las dos cromátidas en la división celular. De esta forma se produce la segregación ordenada de los cromosomas y cada célula hija recibe una cromátida de cada cromosoma, es decir, idéntica dotación genética. La ausencia de centrómero (cromosoma céntrico) impide que el cromosoma se una al huso mitótico y, por lo tanto, que se incluya en el núcleo de las células hijas (Lozano *et al.*, 2000; Griffiths *et al.*, 2000; Luque, 2001). Los MN pueden ser formados durante la división celular en la transición de metafase/anafase, etapas en las cuales ocurre la separación de cromátidas, se pueden mencionar dos mecanismos por los cuales se pueden formar los MN (Torres-Bugarín *et al.*, 2013):

- Pérdida mitótica de fragmentos acéntricos: Es considerado el mecanismo clásico, donde cualquier fragmento cromosómico que no posea centrómero no podrá integrarse a un núcleo, pues carece del elemento indispensable para orientarse en el huso acromático. Después de la telofase los cromosomas

normales, así como los fragmentos de cromosomas que posean centrómero, darán origen a los núcleos de las células hijas regulares. Los elementos rezagados quedarán incluidos en el citoplasma de las células hijas y una considerable proporción es transformada en uno o varios núcleos secundarios que son como regla mucho más pequeños que el núcleo principal.

- Pérdida mitótica de cromosomas completos: Esto sucede cuando se daña el funcionamiento del aparato mitótico, por ejemplo: bajo la influencia de la colchicina, el núcleo principal es algunas veces reemplazado por un grupo de pequeños núcleos, los cuales son en general considerablemente más grandes; esto es debido a que cromosomas completos son los que los constituyen.

1.6. DESCRIPCIÓN DE LOS SITIOS DE ESTUDIO

1.6.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El estado de Tlaxcala se ubica dentro de tres regiones hidrológicas: la cuenca del río Balsas y Río Atoyac (78.76 %), la cuenca del Pánuco, el Río Moctezuma (18.21 %) y la cuenca de Tuxpan-Nautla, Río Tecolutla (3.03 %). El agua de los diferentes cuerpos es aprovechada en actividades cotidianas como la industrial, comercial y humana. De acuerdo a la Comisión Nacional del Agua en el estado de Tlaxcala, los embalses y almacenamientos más importantes son: los ríos Zahuapan el cual atraviesa el estado de norte a sur, Atoyac, Tequixquiatl, Alzayanca, Totolac y Chichicazac, los manantiales el Ojito, Tizatlán y Atotonilco, las presas de San Felipe Hidalgo, Lázaro Cárdenas, Pozuelos, Recova, Guridi y Alcocer así como la de Atlangatepec y, lagunas entre las que destacan la de Acuitlapilco y Zacatepec, entre otras (SEMARNAT, 2005; INEGI, 2014).

1.6.1.1. PRESA DE ATLANGATEPEC

La presa de Atlangatepec se localiza en el centro del municipio de San José Atlangatepec (Figura 2), ubicado en el Altiplano central mexicano a 2,500 msnm,

entre los ejes de coordenadas geográficas 19°32' 00"N y 98°12'00'O, es la más importante del estado de Tlaxcala, cuenta con una capacidad de 54,000,000 m³ de agua (CONAGUA, 2007), la cual es utilizada para riego agrícola, así como, para el cultivo de peces principalmente de carpa barrigona (*Cyprinus carpio* L.) además para consumo de ganado y como hábitat de aves endémicas y migratorias (Briones, 2009; INAFED, 2010).

A partir de febrero de 2009, es considerada, un humedal de importancia internacional inscrita como un sitio Ramsar en la convención celebrada en 1971 en Ramsar, Irán. Los humedales son zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres, que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, tanto continentales como costeras, sujetas o no a la influencia de mareas (SEMARNAT, 2008; CONAGUA, 2013).

Las características que permiten identificar a un cuerpo de agua como humedal son: (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2013)

- Como componentes del paisaje, naturales o artificiales, se caracterizan por contener suelos predominantemente hídricos y comunidades vegetales hidrófilas o hidrófitas, además de presentar fauna, microflora y usos humanos diferentes a los de los espacios adyacentes.
- Son estructuras auto-organizadas, que recolectan, almacenan y transportan agua, en partes del ciclo hidrológico, así como materia y energía.
- Se pueden identificar como unidades funcionales, que tienen un valor económico y/o ecológico, sin perder de vista que son, a su vez, componentes integrales de unidades funcionales y procesos de mayor escala, como son las Cuencas Hidrológicas, las Ecoregiones y los ciclos hidrológicos.

1.6.1.2. PRESA DE LÁZARO CÁRDENAS

Esta presa se ubica al norte del estado de Tlaxcala en el municipio de Tlaxco (Figura 2) en las coordenadas $19^{\circ}32'00''$ N y $97^{\circ}59'00''$ O, cerca de ésta se encuentran una proporción alta de terrenos de cultivo tanto de temporal como de riego, el principal aprovechamiento de este cuerpo de agua es para la producción de hortalizas y semillas, como lechuga, betabel, cilantro, brócoli, zanahoria, y maíz entre otros cultivos sobre todo del municipio de Lázaro Cárdenas. La mayor parte de la producción agrícola es llevada para su venta a grandes mercados como la central de abasto de la Ciudad de México y otros cercanos (INEGI, 2010).

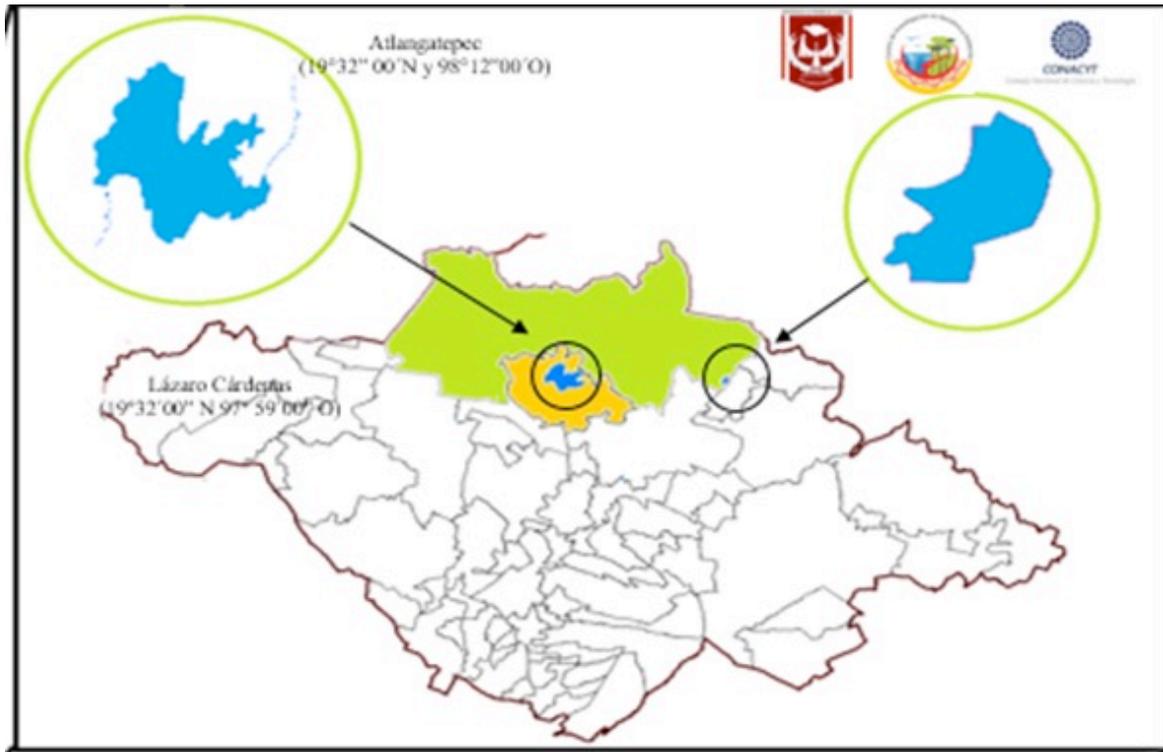


Figura 3. Ubicación geográfica de los sitios de estudio en el estado de Tlaxcala

2. ANTECEDENTES

Los ecosistemas han sido afectados por contaminación natural y antrópica que rebasa la capacidad de resiliencia de los mismos, a continuación, se presenta una breve descripción de diversos estudios relacionados con la contaminación y efecto de ésta en diversos ecosistemas acuáticos.

En un estudio realizado en peces del lago “La Alberca” en Michoacán, México, se evaluó el daño genotóxico mediante la frecuencia espontánea de MN en sangre periférica de 10 especies de peces que habitan en el sitio; en su entorno se desarrollan actividades de agricultura, ganadería, pesca y recreación. Los valores de MN encontrados oscilaron entre 0.6 ± 1.1 y 3.7 ± 1.6 MN/1000, los resultados revelaron que las especies de *Xenotoca melanosoma* y *Oreochromis aureus* son indicadores biológicos potenciales de agentes contaminantes (Torres-Bugarin *et al.* 2007).

Rodríguez- Amador *et al.* (2012) cuantificaron la concentración de metales pesados en *Dormitator latifrons* y en agua de la laguna de Tres palos en Guerrero mediante espectrofotometría de absorción atómica, los resultados indicaron la presencia de Pb en peces (9.61mg/kg) por arriba de los límites permisibles de acuerdo a los criterios ecológicos de calidad de agua en México.

Wael *et al.* (2012) evaluaron la presencia de metales pesados (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} y Mn^{2+}) y la genotoxicidad del agua del lago Qaroun en Egipto, utilizando como bioindicadores a peces de la especie tilapia (*Oreochromis niloticus*). Los resultados mostraron un incremento significativo en la concentración de metales en agua (Cu 0.37 mg/L, Zn 0.38 mg/L, Pb 0.22 mg/L) y sedimento (Cu 6.18 mg/kg, Zn 24.27 mg/kg, Pb 12.27 mg/kg) con respecto a los valores de un sitio considerado como de referencia, donde las concentraciones de Cu, Zn y Pb fueron de 0.15 mg/L, 0.03 mg/L, 0.004 mg/L en agua y de 0.004 mg/kg, 1.83 mg/kg, 0.22 mg/kg en sedimento respectivamente. Con relación a la genotoxicidad, el promedio de la frecuencia de MN en los peces del lago Qaroun fue de 34.50 ± 1.60 MN/2000 fueron más altos que lo cuantificado en los individuos de sitio de referencia (5.0 ± 0.50 MN/2000). Los

resultados indicaron que las altas concentraciones de metales pesados tienen un potencial efecto genotóxico, además los resultados posiblemente también pueden estar relacionado con las actividades agrícolas y domésticas que se realizan en el lugar.

Singh *et al.* (2017) cuantificaron la concentración de metales pesados (Co, Cu, Cr, Ni, Cd, Zn, y Pb) en sedimentos del río Ghaghara que fluye a través del Uttar Pradesh y Bihar en territorio indio donde la principal fuente de contaminación es de origen industrial. Los resultados de las concentraciones de metales pesados variaron entre 11.37 y 18.42 mg/kg para Co, 2.76 y 11.74 mg/kg para Cu, 61.25 y 87.68 mg/kg para Cr, 15.29 y 25.59 mg/kg para Ni, 0.21 y 0.28 mg/kg para Cd, 13.26 y 17.59 mg/kg para Zn, 10,71 y 14,26 mg/kg para Pb en diferentes estaciones, mostrando una correlación significativa entre Co, Cu y Zn, lo cual sugiere una misma fuente de contaminación identificando principalmente descargas de tipo doméstico y de actividades agrícolas. La correlación positiva entre Zn, Co, Cu, Cr y Ni indicaron un origen natural de estos elementos en el sedimento del río.

Se evaluó el riesgo ecológico de metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr, Hg, As, y Ni) en ecosistemas en agua, sedimento y peces del lago Dongting en China. Las concentraciones más altas de Zn, Pb, Cd, Ni y Cu se encontraron en la salida del lago Dongting, mientras que As y Cr fueron más altas en el área del delta del río Xiangjiang. En sedimentos superficiales, la concentración disminuyó en el orden de Zn > Cr > Pb > Cu > Ni > As > Cd > Hg; la concentración más alta de todos los elementos, excepto Hg, se ubicó en el área del delta del río Xiangjiang. En el músculo de los peces, las concentraciones de todos los elementos fueron más bajas que los estándares relevantes; La mayor concentración se determinó en los peces que viven en las capas media y baja. En cuanto a los hábitos de alimentación de los peces, la concentración promedio disminuyó en el orden de los peces carnívoros > omnívoros > herbívoros. El riesgo ecológico potencial y la relación entre la fase secundaria y la evaluación de la fase primaria mostraron que Cd y Hg tenían el mayor riesgo ecológico y el Cd y Pb tenían un alto riesgo de liberación secundaria.

En el estado de Tlaxcala son pocos los estudios realizados para evaluar la sanidad de los ecosistemas acuáticos, García-Nieto *et al.* (2011) realizaron una evaluación ambiental en el sistema hidrológico Zahuapan-Atoyac (SH:ZA), cuantificaron arsénico y plomo. Los resultados mostraron concentraciones de As de 0.06 a 0.87 mg/L y de 1.3 a 127 mg/Kg en agua y en sedimento respectivamente. Mientras que el plomo alcanzó niveles hasta de 1.05 mg/L en agua del sitio denominado “el ojito” y 9.5 mg/Kg en sedimento de la estación Apizaco, además, de que uno de los puntos se situaba en la presa de Atlangatepec teniendo como valor 0.9 mg/L. Estos niveles superaron los mencionados en las normas nacionales e internacionales establecidas para agua de consumo humano y protección de la vida acuática respectivamente.

El río Zahuapan, es el principal cuerpo de agua del estado, en él se realizó una descripción temporal y espacialmente de la concentración de sólidos utilizando datos de 2000 a 2014 obtenidos de la Dirección Local de Tlaxcala de la Comisión Nacional del Agua de México. Los resultados mostraron que en el río predominaron los sólidos fijos y en menor medida los volátiles. Los sólidos totales, fijos, suspendidos y disueltos mostraron una variación estacional influenciada por la temporada de lluvias. Se identificaron además 12 microcuencas las cuales tuvieron un efecto aditivo sobre la concentración de sólidos. El análisis factorial mostró que las microcuencas fueron diferentes y deben ser consideradas como unidades independientes en las acciones de saneamiento del río (Muñoz-Nava *et al.*, 2017). Mena-Mejía *et al.* (2017) Evaluaron la condición ecológica del río Zahuapan de diferentes puntos perturbados (ecosistemas forestales, donde la perturbación por actividades humanas es mínima, áreas con influencia de alguno de los factores de perturbación de la condición del río: agrícola-pastizal, agrícola, urbano e industrial y urbano-industrial) dentro de estos sitios evaluados la presa de Atlangatepec fue uno de ellos, evaluando algunos parámetros físicos y químicos, los cuales, tienden a ser mayores en los sitios perturbados; Temperatura (T): 14.10 °C, Oxígeno disuelto (OD): 1.70 mg/L, Sólidos disueltos totales (SDT): 525 mg/L y pH 8.0) que en los de referencia (T 1.40 ° C, OD 6.96 mg/L, SDT 59 mg/L y pH 7.8) excepto el

OD, que es mayor en los sitios de referencia, mencionan que el punto continuo a la presa de Atlangatepec presenta una condición favorable, debido a que está ubicada aguas arriba del sitio, la cual recibe y retiene las descargas de aguas residuales.

A su vez, García-Nieto *et al.* (2014) evaluaron el impacto genotóxico de las actividades antrópicas en el manantial Huactzinco, empleando a *Cyprinus carpio* L. como bioindicador, compararon los diseños experimentales *in situ* e *in vivo*, obteniendo una frecuencia de MN de $108.6 \pm 32/1000$ y fragmentación del DNA 143.4 ± 35 unidades arbitrarias (ua) estadísticamente superior al testigo negativo 10.9 ± 6 MN/1000 y 67.6 ± 23 ua, mientras que el experimento *in situ* mostró una frecuencia de MN de 93.3 ± 15 MN/1000 y el ensayo cometa 173.7 ± 24 ua. El ensayo cometa resultó ser más sensible para detectar la genotoxicidad con una concentración efectiva media (EC_{50}) de 11.4 ± 3.4 % menor a la obtenida con el ensayo de MN (54.8 ± 3.2 %).

Un estudio realizado en la presa de Atlangatepec, evaluó la capacidad genotóxica del agua a concentraciones nominales de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 %, a través de la exposición *in vivo* de peces e la especie *C. carpio* L. Los resultados de la frecuencia de MN en eritrocitos de sangre periférica mostraron valores entre 16 MN/1000 CT y 38.3 MN/1000 CT en las concentraciones de 20 a 100 %, los cuales fueron de 2 a 4 veces más altos que aquellos cuantificados en el testigo negativo (10.9 ± 5.9 MN/1000), lo cual indica la presencia de agentes genotóxicos en dicho cuerpo de agua (Medina-Barrientos, 2016).

La detección de contaminantes en matrices ambientales no es suficiente para evaluar la salud de los ecosistemas a menos que los efectos sobre la biota sean apropiadamente evaluados. Además, los contaminantes en el ambiente no se encuentran solos, generalmente existen mezclas complejas, cuyas interacciones (antagónicas o sinérgicas) puede llevar a la discrepancia entre la predicción del riesgo y el riesgo real que representa un compuesto único.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la mayoría de los cuerpos de agua del país se encuentran contaminados, debido al incremento del vertido de sustancias tóxicas a estos. Las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas en el estado de Tlaxcala son sitios que debido a su importancia económica, ecológica y social están sujetos a sobreexplotación, destrucción del hábitat y contaminación generada por aguas residuales provenientes de poblaciones aledañas, entre otros. Dados los antecedentes que indican la presencia de contaminantes en cuerpos de agua, así como, de los efectos que sobre la biota generan, es necesario realizar un estudio que permita cuantificar contaminantes como metales pesados y evaluar la genotoxicidad del agua empleando a *Cyprinus carpio* L. como bioindicador, con el fin de alertar sobre el riesgo potencial que estos cuerpos de agua pudieran representar.

4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo ecotoxicológico de la presa de Atlangatepec y la de Lázaro Cárdenas, Tlaxcala, utilizando a *C. carpio* L. como bioindicador para determinar el potencial de contaminación que esta presenta.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros físicos y químicos de agua y sedimento de las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas.
- Cuantificar la concentración de metales pesados en agua, sedimento y tejido muscular mediante espectrofotometría de absorción atómica para conocer el riesgo potencial que estos representan.
- Evaluar el daño genotóxico de los dos sitios de estudio utilizando a *C. carpio* L. como bioindicador y como biomarcador de daño en la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos.

4.3. HIPÓTESIS

Si la presa de Atlangatepec y la de Lázaro Cárdenas están contaminadas por concentraciones altas de metales pesados, entonces los organismos que habitan dichos ecosistemas presentarán daño en el DNA evidenciado por el incremento en la frecuencia de micronúcleos en el biomarcador *C. carpio* L..

5. METODOLOGÍA

5.1. SITIOS DE ESTUDIO

Los sitios de estudio fueron las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas, en cada una se eligieron puntos de muestreo (10 y 6 respectivamente), los cuales se ubicaron cerca de las posibles fuentes de contaminación como zonas agrícolas, asentamientos humanos, zonas de recarga de las presas, etc., además, se seleccionó un sitio de referencia aparentemente no impactado antrópicamente, éste se ubicó en la comunidad de Popocatla, municipio de Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, los tres sitios ubicados en el estado de Tlaxcala.

5.2. INTEGRACIÓN PRELIMINAR

5.2.1. MUESTREO AMBIENTAL

Se realizó un muestreo en época de estiaje. Las muestras de agua se recolectaron en cada punto seleccionado de ambos sitios de acuerdo a la NMX-AA-003-1980, empleando recipientes de polietileno de 1 L previamente lavados con ácido nítrico (HNO₃) al 10 %, las muestras fueron acidificadas con 1 ml de HCl concentrado. En los mismos puntos y con ayuda de una espátula plástica se tomó una muestra de sedimento superficial (1 kg aproximadamente) en recipientes de polietileno.

Todas las muestras se transportaron en hielo al Laboratorio de Toxicología y Química Ambiental del Centro de Investigación en Genética y Ambiente (CIGyA) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, una vez en el laboratorio las muestras de agua se refrigeraron a 4 °C hasta su análisis, mientras que los sedimento se colocaron en recipientes de plástico para su deshidratación, posteriormente se homogenizaron mecánicamente con ayuda de un mortero y se tamizaron en malla de 600 µm, se guardaron en bolsas de plástico y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

5.2.2. MUESTREO BIOLÓGICO

Se capturaron peces de la especie *C. carpio* L. en los sitios de estudio con la ayuda de una red de arrastre (n=28 para Atlangatepec y n=12 para Lázaro Cárdenas). A cada individuo se le registraron las medidas morfométricas de peso húmedo utilizando una balanza digital y de longitud con una cinta métrica.

5.2.2.1. MUESTRA DE SANGRE

A cada individuo se le tomó una muestra de sangre a través de un corte entre la cabeza y la columna vertebral (Figura 4) en tubos eppendorf previamente heparinizados, posteriormente las muestras se trasladaron en hieleras al CIGyA para continuar con la metodología de genotoxicidad.



Figura 4. Obtención de la muestra de sangre de *C. carpio* L.

5.2.2.2. MUESTRA DE TEJIDO MUSCULAR

A cada organismo se les realizó un corte iniciando por la abertura urogenital (Figura 5) hasta el tórax para obtener una muestra de tejido muscular (30 g aproximadamente) que junto con las muestras de sangre se trasladaron en hieleras al CIGyA. Una vez en el laboratorio con ayuda de un bisturí se realizaron cortes de tal manera que quedarán trozos pequeños, se pusieron en charolas de plástico y se colocaron en una estufa marca Terlab a 40 °C para su deshidratación por una semana aproximadamente, posteriormente se guardaron en frascos de polietileno cerrados herméticamente y se almacenaron a 4 °C para su posterior análisis.



Figura 5. Obtención de la muestra de tejido muscular de *C. carpio* L.

5.3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS

5.3.1. AGUA, DETERMINACIÓN *in situ*

Se determinaron los parámetros de pH, temperatura (T), oxígeno disuelto (OD), sólidos disueltos totales (SDT) *in situ* mediante un equipo multiparamétrico marca Hanna Instruments Modelo 9828 previa calibración, en cada sitio de estudio.

5.3.2. PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE SEDIMENTO.

5.3.2.1. DETERMINACIÓN DE PH

Se determinó en agua a través del método AS-02 de la NOM-021-SEMARNAT-2000. Se pesaron 10 g de sedimento, se colocaron en un matraz de 125 mL, se adicionó 20 mL de agua destilada, se agitó en un agitador orbital marca Barnstead international modelo 2345, durante 30 min a intervalos de 5 min, se dejó reposar por 15 min. Transcurrido el tiempo de reposo la suspensión se agitó nuevamente y se midió el pH con un potenciómetro marca Denver Instrument Modelo 215.

5.3.2.2. PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA, MÉTODO DE WALKLEY-BLACK

La determinación de materia orgánica del sedimento se realizó a través del método de Walkley y Black como se menciona en la NOM-021-SEMARNAT-2000. Se pesaron 0.5 g de sedimento y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, se adicionaron 10 mL de dicromato de potasio 1 N girando el matraz cuidadosamente para que entre en contacto con todo el suelo, enseguida se agregaron 20 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado y se agitó durante un minuto, se dejó reposar por 30 min, posteriormente se añadieron 200 mL de agua destilada y 5 mL de ácido fosfórico (H₃PO₄) concentrado, finalmente se adicionaron 5 gotas del indicador de difenilamina y se procedió a titular con sulfato ferroso (FeSO₄) 1M gota a gota hasta un punto final verde claro. El porcentaje de materia orgánica se obtuvo aplicando las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Materia Orgánica} = (\% \text{ C Orgánico})(1.724)$$

$$\% \text{ C Orgánico} = \left(\frac{B - T}{g}\right)(N)(0.39) \text{ mcf}$$

Donde:

B = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar el blanco de reactivos (mL).

T = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (mL).

N = Normalidad exacta del sulfato ferroso.

g = Peso de la muestra empleada (g).

mcf = Factor de corrección de humedad.

5.3.2.3. DETERMINACIÓN DE TEXTURA

Se realizó por el procedimiento de Bouyoucos (NOM-021-SEMARNAT-2000). Se colocaron 60 g de sedimento en un vaso de precipitados de 500 mL y se agregaron 40 mL de agua oxigenada para eliminar la materia orgánica, se dejó evaporar y se repitió hasta que no hubo efervescencia al agua oxigenada, nuevamente el sedimento se llevó a sequedad total, enseguida se homogenizó, se pesaron 50 g y

se colocaron en un vaso metálico de 250 mL. Se agregó 5 mL de oxalato de sodio y 5 mL de metasilicato de sodio, se dejó reposar durante 15 min. Enseguida se procedió a dispersar por cinco minutos en un agitador eléctrico, pasado el tiempo la suspensión, se transfirió a una probeta de 1000 mL a la que se le agregó agua destilada hasta completar un litro con el hidrómetro dentro. Se retiró el hidrómetro y se agitó la muestra durante un minuto. Posteriormente se tomaron dos lecturas con el hidrómetro, una a los 40 seg y la otra después de 2 h de terminada la agitación (para hacer la primera lectura, se colocó el hidrómetro dentro de la probeta 20 seg antes del momento de la determinación). Después de la lectura del hidrómetro, se tomó la temperatura.

El contenido de arena, limo y arcilla se determinó con las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de Arena total} = \frac{\text{lectura a los 40s} \times 100}{g \text{ de suelos seco}}$$

$$\% \text{ de Arcilla total} = \frac{\text{lectura a las 2h} \times 100}{g \text{ de suelos seco}}$$

$$\% \text{ de Limos} = \frac{\text{lectura a los 40s} - \text{lectura a las 2h} \times 100}{g \text{ de suelos seco}}$$

La clase textural de los sedimentos se identificó con el triángulo de texturas de acuerdo a lo mencionado en la NOM-021-SEMARNAT-2000.

5.4. CUANTIFICACIÓN DE METALES (NMX-AA-051-SCFI-2001)

El proceso para la cuantificación de metales se realizó en dos etapas, la primera consiste en la preparación de las muestras (digestión ácida) y la segunda en la cuantificación de metales (Pd, Cr, Cd, Zn y Ni) mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian modelo SpectrAA 880).

5.4.1. DIGESTIÓN DE MUESTRAS

5.4.1.1. AGUA

En tubos de teflón se colocaron 45 mL de la muestra de agua y se les adicionó 5 mL de HNO₃ concentrado, para llevar a cabo la digestión ácida, asistida por un horno de microondas marca CEM modelo MarsX 5 siguiendo el método EPA 3015 con las siguientes condiciones, una potencia de 1200 watts con una rampa de 5 min hasta llegar a una presión de 100 psi y una temperatura de 160 °C, permaneciendo por 5 min, seguida de otra rampa de 10 min para llegar a una temperatura de 170 °C la cual permaneció por 5 min. Posteriormente, el enfriamiento fue de 5 min. Una vez digerida la muestra se filtró con papel filtro Whatman No. 1

5.4.1.2. SEDIMENTO Y TEJIDO MUSCULAR

Se pesaron 0.2 g de la muestra (sedimento y/o tejido) cada uno se colocó en tubos de teflón y se les adicionaron 10 mL de HNO₃ concentrado, para llevar a cabo la digestión ácida asistida por un horno de microondas marca CEM modelo MarsX 5, se siguió el método EPA 3051 para ambas muestras, con las condiciones siguiente; una rampa de 20 min hasta alcanzar una temperatura de 190 °C o una presión de 200 psi, con un tiempo de enfriamiento de 5 min, una vez digeridas se filtraron con papel filtro Whatman No. 1, y se aforaron a 50 mL con agua desionizada.

5.4.2. CUANTIFICACIÓN DE METALES

Los metales cuantificados fueron Pb, Cr, Cd, Zn y Ni, las muestras previamente digeridas se inyectaron manualmente en un equipo de absorción atómica marca Varian modelo SpectrAA 880 con detector de flama, se utilizó gas acetileno y oxígeno como carburante. Las curvas de calibración se realizaron para cada uno de los metales analizados mediante el análisis de muestras de estándares.

El límite de detección se determinó a través de la medida del promedio del valor de la pendiente de la curva de calibración más tres veces la desviación estándar del valor de la ordenada al origen, esto para cada uno de los metales analizados.

5.4.3. COCIENTE DE PELIGRO

Se obtuvo el cociente de peligro (CP) para cada elemento cuantificado mediante la siguiente fórmula:

$$CP = \frac{Ce}{Cr}$$

Donde:

CP = Cociente de peligro

Ce = Concentración de exposición

Cr = Concentración de referencia

Como concentraciones de referencia para agua se utiliza la propuesta por la NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales para protección de vida acuática.

Para sedimento se utilizó la guía provisional de calidad de sedimentos para protección de vida acuática (ISQG por sus siglas en inglés). Así como los niveles de efectos bajos (LEL 1998), mencionados en los criterios de Evaluación Ecológica del Departamento de Protección Ambiental de Nueva Jersey.

Se sugiere un posible riesgo para la biota que cuando el CP es mayor a 1 (González-Mille *et al.*, 2010).

5.5. EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD

Para evaluar el daño genotóxico, en portaobjetos previamente lavados y desengrasados se colocaron 10 µL de sangre y con ayuda de un cubreobjetos se realizó un frotis, se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 h. Posteriormente las laminillas se fijaron con metanol-ácido acético (3:1 v/v) por 30 min, enseguida se tiñeron con solución giemsa al 5 % durante 5 min, pasado el tiempo se

enjuagaron con agua destilada, y una vez secas se guardaron para su posterior análisis al microscopio. Todas las muestras se realizaron por duplicado.

Se determinó la frecuencia de micronúcleos en 1000 eritrocitos al azar siguiendo los criterios propuestos por Fenech *et al.* (2007).

- ✓ El diámetro del MN no debe ser mayor al radio del núcleo principal
- ✓ Los MN no deben ser refractarios
- ✓ La intensidad de tinción debe ser igual al núcleo principal
- ✓ Los MN no deben conectarse con el núcleo principal.

Al mismo tiempo se evaluaron algunas anomalías nucleares como células con núcleo dentado, núcleo lobulado y núcleo glomerular.

5.6. ANALISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si los datos son paramétricos se aplicó la prueba de Bartlett, posteriormente los datos fueron se analizaron mediante el análisis de varianza de un factor y se empleó la prueba de Tukey, todo esto con ayuda del programa Info Stat versión 2016.

6. RESULTADOS

6.1. MUESTREO AMBIENTAL

Con apoyo del simulador de flujos de agua de cuencas hidrográficas (SIATL) (INEGI, 2012) se realizó una inspección en campo en ambos sitios de estudio, con la finalidad de determinar las posibles fuentes de contaminación y los puntos de muestreo. De acuerdo a la dirección que llevan las corrientes de agua que alimentan a la presa se dedujeron las posibles fuentes de contaminación. Con respecto a la presa de Atlangatepec, se identificaron descargas de aguas residuales de origen doméstico en el municipio de Tlaxco (Figura 6) las cuales son vertidas directamente al río Zahuapan que a su vez su cauce es incorporado a la presa de Atlangatepec, además cabe resaltar que en el mismo municipio existe una planta tratadora de aguas residuales (PTAR) que presenta un funcionamiento deficiente, de tal manera, que el agua que llega a ésta es incorporada al río sin tratamiento previo (Figura 7). Una segunda fuente de contaminación que se observó fue la actividad de la agricultura, ya que en su mayor parte de la periferia de la presa se ubican grandes extensiones de terrenos de cultivo.

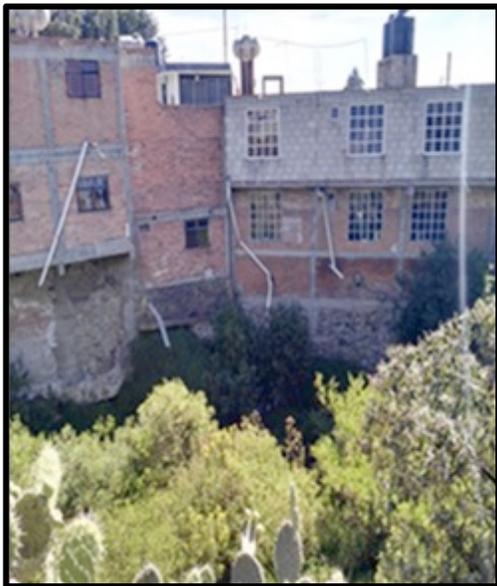


Figura 6. Descarga de aguas de origen doméstico al cauce del río Zahuapan.



Figura 7. Descarga de aguas sin tratamiento de la PTAR del municipio de Tlaxco al río Zahuapan.

Considerando las situaciones anteriores se ubicaron 10 puntos de muestreo en la periferia de la presa, en cada uno de éstos se tomaron muestras de agua y sedimento, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera:

Punto 1 se ubicó cerca de la compuerta de salida, donde el agua emerge para continuar el trayecto del río Zahuapan.

Los *puntos 2 y 3* están ubicados frente al sitio denominado “Fuerte Apache” y otros asentamientos humanos de comida. Los *puntos 4 y 5* están cercanos a zonas agrícolas, mientras que los *6 y 7* se encuentran en la periferia de la comunidad de San Luis. El *punto 8* corresponde al cauce del río Zahuapan, mientras que el *9 y 10* se ubicaron a los costados de la entrada del cauce del río Zahuapan hacia la presa (Figura 8).

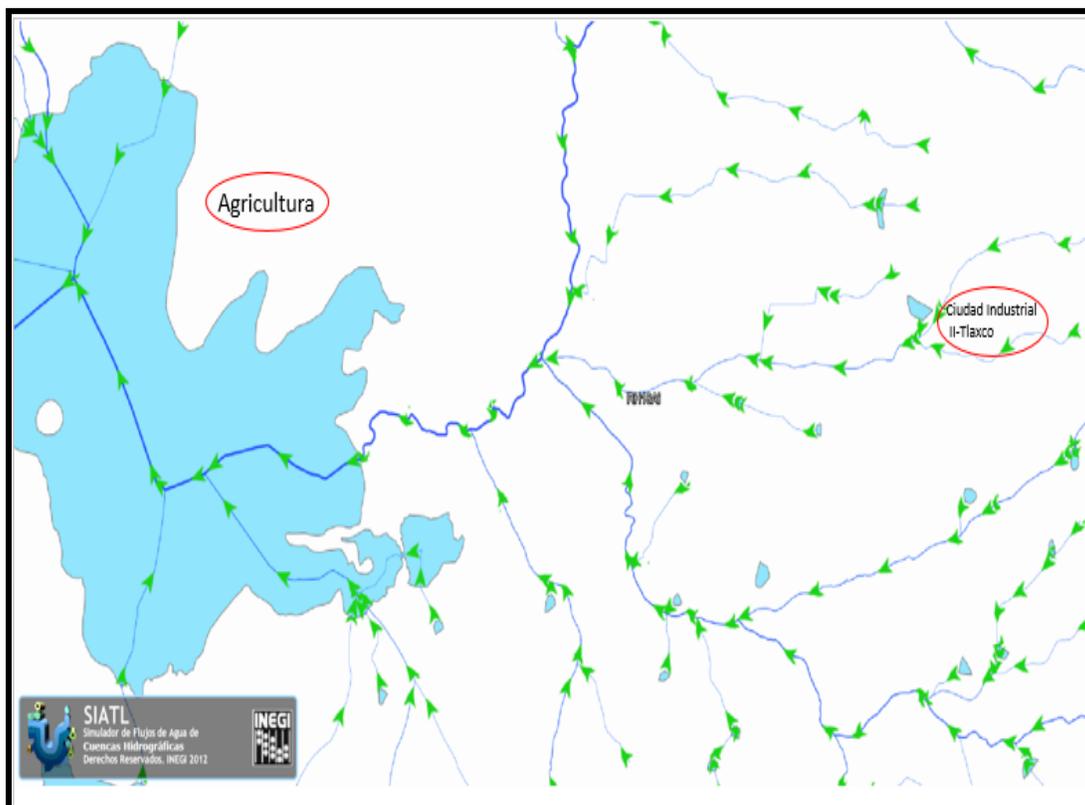


Figura 8. Simulador de flujo de agua de cuencas hidrográficas para la presa de Atlangatepec. DR[©] (INEGI, 2012)



Figura 9. Ubicación de los sitios de muestreo en la presa de Atlangatepec (Google Earth Pro, 2017).

Con respecto a la presa de Lázaro Cárdenas el simulador de flujos de agua de cuencas hidrográficas (SIATL) (INEGI, 2012) mostro que el flujo de la mayoría de las escorrentías se dirige hacia este cuerpo de agua, como resultado de la inspección y visita al sitio se observó que la principal fuente de contaminación es la actividad de la agricultura ya que en toda su periferia hay terrenos destinados a dicha actividad, de tal manera que indirecta o directamente se pueden acarrear contaminantes provenientes principalmente de los fertilizantes y plaguicidas empleados en dicha actividad (Figura 9).

En este sitio se consideraron 6 puntos de muestreo (Figura 10), cuya ubicación fue: 1 y 3 cerca de la compuerta de desagüe; los puntos 2, 4 y 5 se localizaron próximos a zonas de cultivo agrícola además el 4 y 5 coinciden con zonas de recarga del sitio y el *punto 6*) se ubicó cerca de un pequeño asentamiento urbano, cabe resaltar que este punto está situado en la principal entrada de recarga de agua de la presa.



Figura 10. Simulador de flujo de agua de cuencas hidrográficas para la presa de Lázaro Cárdenas. DR© (INEGI, 2012)



Figura 11. Ubicación de los sitios de muestreo en la presa Lázaro Cárdenas (Google Earth Pro, 2017).

6.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS

6.2.1. AGUA DETERMINACIÓN *in situ*

En la tabla 1 se muestran los resultados de algunos parámetros físicos y químicos del agua como pH, T, SDT y OD obtenidos en ambos sitios de estudio. En general se observa que el pH determinado en la presa de Atlangatepec (7.5 - 9.04) como el de Lázaro Cárdenas (7.93 - 8.37) se obtuvieron valores de ligera a moderadamente alcalinos valores por debajo de los CCE-CCA-001-89 tanto para protección de la vida acuática como para riego agrícola. Por su parte, la temperatura para ambos cuerpos de agua oscilo de 13.38- 24.21 °C lo cual concuerda con la época del año en que se realizó el estudio (estiaje), este valor además se ubica por debajo de los límites máximos permisibles (40 °C) para protección de vida acuática mencionados en la NOM 001-ECOL-1996 y en CE-CCA-001/89 (24-30) para cultivo de tilapia.

Los valores determinados de CE variaron entre 0.285 y 0.842 mS/cm, en Atlangatepec y 0.137 y 0.140 mS/cm en Lázaro Cárdenas encontrándose por debajo (1.0 mS/cm) de los CE-CCA-001-89 para riego agrícola, mientras que la concentración más alta de SDT en Atlangatepec se ubicó en el punto 8 (421 ppm) el cual se encuentra sobre el cauce del río Zahuapan antes de su confluencia con la presa de Atlangatepec y la mínima en el punto 7 (142 ppm), en Lázaro Cárdenas éste parámetro osciló entre 69 y 74 ppm cuyo valor más alto se encontró en el punto 4 cerca de zonas de uso agrícola, en ambos sitios de estudio éstos valores están dentro del nivel máximo mencionado en los CE-CCA-001/89 para riego agrícola.

Por otra parte, los valores de OD en Atlangatepec oscilaron de 0.14 mg/L-4.2 mg/L, mientras que en la presa de Lázaro Cárdenas fueron de 0.15-0.94 mg/L los valores fueron menores de aun cuando los valores de OD son menores de 5 mg/L en ambos sitios, en la presa de Atlangatepec el 40 % de los puntos de muestreo indicaron que el sitio es apto para el cultivo de peces.

Tabla I. Parámetros físicos y químicos *in situ* del agua de las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas.

Puntos de muestreo	Parámetro						
	pH	T (°C)	CE mS/cm	SDT (ppm)	OD (mg/L)		
ATLANGATEPEC	AT-1	7.51	Ligeramente alcalina	16.49	0.302	151	2.95
	AT-2	8.65	Moderadamente alcalina	17.59	0.307	153	4.2
	AT-3	8.43	Ligeramente alcalina	16.14	0.306	153	0.6
	AT-4	8.74	Moderadamente alcalina	19.2	0.302	151	0.22
	AT-5	8.7	Moderadamente alcalina	17.36	0.333	166	0.26
	AT-6	8.67	Moderadamente alcalina	17.34	0.306	153	3.9
	AT-7	8.86	Moderadamente alcalina	18.64	0.285	143	3.7
	AT-8	7.64	Ligeramente alcalina	13.41	0.842	421	0.14
	AT-9	8.83	Moderadamente alcalina	13.38	0.694	349	0.59
	AT-10	9.04	Alcalina	24.21	0.312	157	0.2
LÁZARO CÁRDENAS	LC-1	8.33	Ligeramente alcalina	16.82	0.139	69	0.64
	LC-2	8.17	Ligeramente alcalina	18.96	0.140	70	0.31
	LC-3	8.37	Ligeramente alcalina	15.66	0.137	69	0.3
	LC-4	8.64	Moderadamente alcalina	19.52	0.149	74	0.94
	LC-5	7.93	Ligeramente alcalina	17.32	0.138	69	0.15
	LC-6	8.15	Ligeramente alcalina	16	0.139	70	0.28
*	5-10		40	--		--	
**	--		Cond nat + 1.5	--		5	
***	4.5-9.6		--	1.0	500	--	
****	--		24-30	--		2.1 (mínimo)	

T: Temperatura; SDT: Sólidos disueltos totales; DO: Demanda de oxígeno.

* NOM 001-ECOL-1996. Límite máximo permisible de contaminantes básico para protección de vida acuática PD (promedio diario)

** CE-CCA-001/89. Nivel máximo en Criterios Ecológicos de Calidad del Agua para protección de vida acuática.

*** CE-CCA-001/89. Nivel máximo en Criterios ecológicos de Calidad del Agua para riego agrícola.

**** CE-CCA-001/89. Nivel máximo en Criterios ecológicos de Calidad del Agua para cultivo de tilapia.

6.2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SEDIMENTOS

Los resultados de los parámetros físicos y químicos de pH, porcentaje de carbono orgánico (CO) y materia orgánica (MO), así como porcentajes de arena, limo y arcilla y clase textural determinados a los sedimentos de las dos presas de estudio según la NOM-021-SEMARNAT-2000, se muestran en la tabla II. Con respecto al pH los valores para las muestras de la presa de Atlangatepec oscilaron entre 6.2 y 7.8,

clasificando al 70 % de las muestras como neutras (2 a la 7 y 9), al 20 % como moderadamente ácidas (8 y 10) y el 10 % como moderadamente alcalino (punto 1), cabe resaltar que la muestra 8 se ubicó sobre el cauce del río Zahuapan antes de su confluencia con la presa. Con respecto a la presa de Lázaro Cárdenas las condiciones tienden a la acidez pues los valores cuantificados solo para los puntos 1 y 3 mostraron un valor de pH de 6.8 identificándolas como neutras mientras que el resto de los sedimentos (2, 4, 5 y 6) fueron clasificados como moderadamente ácidos con pH de 6.2 a 6.5. En cuanto al porcentaje de MO, los valores cuantificados son bajos, tanto para Atlangatepec (0.51 - 2.61 %) como para la presa de Lázaro Cárdenas (0.69 - 1.63 %) considerando que en general los suelos en el estado son de tipo volcánicos, la NOM-021-SEMARNAT-2000 los clasifica como suelos con muy bajo contenido de MO.

En cuanto a la textura en la presa de Atlangatepec los porcentajes en grupos de partículas fueron arcilla 9.96 - 25.24 %, limo 6 - 36 % y arena 43.48 - 83.48 %, mientras que en Lázaro Cárdenas las proporciones fueron arcilla 22.52 - 52.52 %, limo 1.28 - 26.72 % y arena 3.48 - 76.20 %. La clase textural de los sedimentos predominante según la NOM-021-SEMARNAT-2000; para la presa de Atlangatepec es la franco arenoso, mientras que para los de la presa Lázaro Cárdenas la textura es franco-arcillosa y franco-arcillo-arenosa (Tabla II).

6.3. CUANTIFICACION DE METALES EN AGUA Y SEDIMENTO

En la tabla III se muestran las concentraciones de metales en agua de la presa de Atlangatepec, de los cinco metales cuantificados se detectó Pb en el 100 % de las muestras analizadas, la concentración menor (0.34 mg/L) se cuantificó en el punto 2 ubicado frente a establecimientos de comida, mientras que las concentraciones más altas se ubicaron en los puntos 9 (1.02 mg/L) y 10 (1.05 mg/L) situados al costado de la entrada del río Zahuapan, ambos valores se encuentran ligeramente por arriba de los límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales para la protección de la vida

Tabla. II. Parámetros físicos y químicos de sedimentos de la presa de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas.

Punto de muestreo	pH		% CO	% MO	TEXTURA			Clase Textural	
	Valor	Clasificación			% Arena	% Arcilla	% Limo		
ATLANGATEPEC	ATS-1	7.8	Medianamente alcalino	1.51	2.61	83.48	10.52	6	Areno francosa
	ATS-2	7.2	Neutro	1.09	1.89	43.48	20.52	36	Franca
	ATS-3	7.0	Neutro	1.24	2.14	76.04	19.96	4	Franco arenosa
	ATS-4	6.6	Neutro	0.64	1.11	64.04	13.96	22	Franco arenosa
	ATS-5	7.0	Neutro	0.64	1.10	67.48	12.52	20	Franco arenosa
	ATS-6	6.9	Neutro	0.29	0.51	56.76	25.24	18	Franco arcillo arenoso
	ATS-7	6.7	Neutro	0.53	0.91	74.76	13.24	12	Franco arenosa
	ATS-8	6.2	Moderadamente ácido	1.40	2.42	80.04	9.96	10	Areno francosa
	ATS-9	6.6	Neutro	1.39	2.39	56.04	21.96	22	Franco arcilla arenosa
	ATS-10	6.4	Moderadamente ácido	1.43	2.47	46.2	19.8	34	Franca
LÁZARO CÁRDENAS	LCS-1	6.8	Neutro	0.3980	0.69	42.76	33.24	24	Franco arcillosa
	LCS-2	6.5	Moderadamente ácido	0.9452	1.63	40.76	32.52	26.72	Franco arcillosa
	LCS-3	6.85	Neutro	0.7412	1.28	32.2	44.52	23.28	Arcillosa
	LCS-4	6.55	Moderadamente ácido	0.5124	0.88	61.48	27.24	11.28	Franco arcillo arenosa
	LCS-5	6.35	Moderadamente ácido	0.8158	1.41	76.20	22.52	1.28	Franco arcillo arenosa
	LCS-6	6.25	Moderadamente ácido	0.8556	1.48	3.48	52.52	44	Arcillo limosa

% CO: Porcentaje de carbono orgánico.

% MO: Porcentaje de materia orgánica.

Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

acuática mencionados en la NOM-001-SEMARNAT-1996 (0.4 mg/L). Con respecto a las concentraciones de Cd, Cr, Zn y Ni estas se encontraron por debajo del límite de detección (LD > 1.01 mg/L, 0.07 mg/L, 0.74 mg/L y 0.47 mg/L).

Tabla III. Concentración de metales en agua de la presa de Atlangatepec.

Muestra	Concentración (mg/L)				
	Pb	Cd	Cr	Zn	Ni
ATA-1	0.69	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-2	0.61	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-3	0.77	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-4	0.34	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-5	0.83	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-6	0.89	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-7	0.86	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-8	0.87	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-9	1.02	< LD	< LD	< LD	< LD
ATA-10	1.05	< LD	< LD	< LD	< LD
*	0.4	0.2	1	20	4
**				37	

LD (Límite de detección): Pb = 0.23, Ni = 0.47, Cd = 1.01, Cr = 0.07, Zn = 0.74 mg/L.

LC (Límite de cuantificación): Pb = 0.78, Ni = 1.55, Cd = 3.38, Cr = 0.25, Zn = 2.47 mg/L.

ND: No detectado

*NOM-001-SEMARNAT-1996 Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Protección de vida acuática.

** CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life Concentration (mg/L)

Por otra parte, en la tabla IV se presentan los valores de las concentraciones de metales en sedimento de la presa de Atlangatepec. De los metales analizados solo el Pb se cuantificó en el 100 % de las muestras, Cr en el 90 % y Ni en el 50 %. Las concentraciones de Pb se encontraron de 1 hasta 22 veces por arriba de los límites máximos permisibles (Pb < 35 mg/kg) de la guía provisional de calidad del sedimento (ISQG por sus siglas en inglés, Interim Sediment Quality Guideline) para protección de la vida acuática. El Cr se cuantificó en nueve de las diez muestras con niveles superiores al límite del ISQG (37.3 mg/kg). Con respecto al Ni se detectaron de 36.8

mg/L hasta 89.7 mg/kg, pero sin rebasar el límite del ISQG y la LEL 1998 (Nivel de efectos más bajo) de los Criterios de Evaluación Ecológica del Departamento de Protección Ambiental de Nueva Jersey. Las concentraciones más altas de los metales analizados se cuantificaron en la muestra correspondiente al sitio 8 para Cr ubicado en el río Zahuapan y en el punto 1 para Pb situado cerca de la compuerta de salida.

Tabla IV. Concentración de metales en sedimento de la presa de Atlangatepec.

Muestra	Concentración (mg/Kg)				
	Pb	Cd	Cr	Zn	Ni
ATS-1	786.1	< LD	1.1	< LD	77.46
ATS-2	89.3	< LD	61.7	< LD	49.56
ATS-3	154.1	< LD	62.5	< LD	< LD
ATS-4	65.1	< LD	ND	< LD	< LD
ATS-5	278.0	< LD	56.1	< LD	< LD
ATS-6	221.6	< LD	69.8	< LD	< LD
ATS-7	58.9	< LD	74.2	< LD	36.8
ATS-8	553.1	< LD	104.8	< LD	89.7
ATS-9	351.5	< LD	83.6	< LD	36.5
ATS-10	241.6	< LD	76.4	< LD	< LD
*	35	0.6	37.3	---	123
**	31	0.6	26	16	120

LD: Pb = 0.38, Ni = 0.02, Cd = 0.08 , Cr = 0.07, Zn = 0.32 mg/L
LC: Pb = 1.27, Ni = 0.08, Cd = 0.26, Cr = 0.25 , Zn= 1.08 mg/L

ND: No detectado

*ISQG= Interim fresh water sediment quality guidelines. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life.

**LEL. 1998. Lowest Effects Level. Ecological Screening Criteria New Jersey Department of Environmental Protection.

Las concentraciones cuantificadas en agua de la presa de Lázaro Cárdenas únicamente fueron para Pb (Tabla V), cuyos valores rebasaron el límite mencionado en la NOM-001-SEMARNAT-1996. En sedimento se detectó Ni en 5 muestras, mientras que Pb y Cr en el 100% de las muestras (Tabla VI) con valores por abajo del LEL 1988 (NJDEP) y la ISQG. Las concentraciones más altas se detectaron en

dos de los seis puntos muestreados, el punto 6 ubicado cerca de un pequeño asentamiento humano y el punto 1 ubicado cerca de la compuerta.

Tabla V. Concentración de metales en agua de la presa de Lázaro Cárdenas.

Muestra	Concentración (mg/L)				
	Pb	Cr	Cd	Ni	Zn
LCA-1	0.59	< LD	< LD	< LD	< LD
LCA-2	0.92	< LD	< LD	< LD	< LD
LCA-3	0.71	< LD	< LD	< LD	< LD
LCA-4	1.15	< LD	< LD	< LD	< LD
LCA-5	1.32	< LD	< LD	< LD	< LD
LCA-6	1.40	< LD	< LD	< LD	< LD
*	0.4	1	0.2	4	20
**					37

LD (Límite de detección): Pb = 0.23, Ni = 0.47, Cd = 1.01, Cr = 0.07, Zn = 0.74 mg/L.

LC (Límite de cuantificación): Pb = 0.78, Ni = 1.55, Cd = 3.38, Cr = 0.25, Zn = 2.47 mg/L.

ND: No detectado

*NOM-001-SEMARNAT-1996 Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Protección de vida acuática.

** CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life Concentration (mg/L).

6.4 COCIENTE DE PELIGRO (CP)

Se determinaron los valores de CP para los metales cuantificados en agua y sedimento de ambos sitios de estudio. Para el caso de agua se consideró como concentración de referencia el límite máximo permisible (0.4 mg/L) de contaminantes de la NOM-001 SEMARNAT-1996, mientras que para los sedimentos se consideraron las concentraciones de ISQG y LEL. En la presa de Atlangatepec el Pb en las muestras de agua de los sitios 9 y 10 presentaron un valor de CP por arriba de 1 y en sedimento el 100 % de las muestras presento un CP que fue desde 1.41 hasta 18.78 (Tabla VII). En la presa de Lázaro Cárdenas, con base en los valores obtenidos de CP mostraron al Ni como un elemento crítico debido a la concentración obtenida en los sitios 1, 2, 4 y 5 donde fue cuantificada (Tabla VIII). ambos elementos representan un riesgo ambiental.

Tabla VI. Concentración de metales en sedimento de la presa de Lázaro Cárdenas.

Muestra	Concentración (mg/Kg)				
	Pb	Cr	Cd	Ni	Zn
LCS-1	0.08	0.067	< LD	0.11	< LD
LCS-2	0.35	0.068	< LD	0.07	< LD
LCS-3	0.19	0.074	< LD	< LD	< LD
LCS-4	0.24	0.059	< LD	0.11	< LD
LCS-5	0.28	0.106	< LD	0.07	< LD
LCS-6	0.39	0.132	< LD	0.01	< LD
*	35	37.3	0.6	123	---
**	31	26	0.6	120	16

LD: Pb = 0.38, Ni = 0.02, Cd = 0.08 , Cr = 0.07, Zn = 0.32 mg/L
 LC: Pb = 1.27, Ni = 0.08, Cd = 0.26, Cr = 0.25 , Zn= 1.08 mg/L

ND: No detectado

* ISQG: Guía Provisional de Calidad del Sedimento (por sus siglas en inglés, Interim Sediment Quality Guideline) protección de la vida acuática.

**LEL. 1998. Lowest Effects Level. Ecological Screening Criteria New Jersey Department of Environmental Protection.

Tabla VII. Cociente de peligro (CP) de metales cuantificados en agua y sedimento de la presa de Atlangatepec.

Muestra	AGUA		SEDIMENTO	
	NOM-001-SEMARNAT-1996		ISQG	
	Pb		Pb	Cr
ATA-1	0.40		18.73	0.03
ATA-2	0.09		1.41	ND
ATA-3	0.58		3.95	ND
ATA-4	ND		2.02	ND
ATA-5	0.63		6.64	0.10
ATA-6	0.77		5.41	0.23
ATA-7	0.89		1.89	ND
ATA-8	0.72		18.78	4.03
ATA-9	1.19		6.40	0.94
ATA-10	1.28		4.94	1.04

NOM-001-SEMARNAT-1996 Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Protección de vida acuática.

ISQG= Interim fresh water sediment quality guidelines. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life.

Tabla VIII. Cociente de peligro de metales cuantificados en agua y sedimento de la presa de Lázaro Cárdenas.

Muestra	AGUA		SEDIMENTO	
	NOM-001-SEMARNAT-1996		LEL	
	Zn	Ni	Zn	
LCA-1	0.00	4.58	0.16	
LCA-2	0.01	2.72	0.14	
LCA-3	0.00	ND	0.05	
LCA-4	0.00	4.58	0.17	
LCA-5	ND	2.57	0.11	
LCA-6	0.00	ND	0.03	

NOM-001-SEMARNAT-1996 Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Protección de vida acuática.

LEL. 1998. Lowest Effects Level. Ecological Screening Criteria New Jersey Department of Environmental Protection.

6.5. ANÁLISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

6.5.1. PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS DE *Cyprinus carpio* L.

Se obtuvo una n=28 individuos de la especie *C. carpio* L. en la presa de Atlangatepec, mientras que en la de Lázaro Cárdenas fue de n=13 y en el sitio de referencia la n=4 individuos.

Una vez capturados los peces se obtuvieron sus medidas morfométricas, así como el factor de condición de Fulton. Los individuos capturados en la presa de Atlangatepec presentaron un peso promedio de 0.40 ± 0.42 Kg y una talla promedio de 33.14 ± 3.55 cm, mientras que los organismos de la presa de Lázaro Cárdenas presentaron valores de peso promedio de 0.45 ± 0.31 Kg y talla promedio de 15.3 ± 5.45 cm. Por su parte las medidas de los peces de referencia fueron: peso de 0.24 ± 0.04 Kg y talla de 11.58 ± 1.06 cm (Tabla IX).

Con respecto al factor de condición los tres grupos de organismos presentaron un valor superior a 1, lo cual indicó que los organismos poseen un buen estado de salud.

Tabla IX. Medidas morfométricas y factor de condición de carpas (*C. carpio*) L. capturados en cada uno de los sitios de estudio.

Sitio de estudio	n	Talla (cm)	Peso (kg)	F.C.
Atlangatepec	28	33.14 ± 3.55	0.40 ± 0.42	2
Lázaro Cárdenas	13	15.3 ± 5.45	0.45 ± 0.31	1.31
Sitio de referencia	4	11.58 ± 1.06	0.025± 0.0004	1.61
*				1-3

*Valor del factor de condición de Fulton.

6.5.2. CUANTIFICACIÓN DE METALES EN TEJIDO MUSCULAR DE PECES

Los valores de las concentraciones de metales en tejido muscular de los peces capturados en ambos sitios se muestran en la tabla X.

Los individuos de la presa de Atlangatepec, presentaron concentraciones promedio de Pb de 395.7 ± 125.3 mg/Kg y 182.5 ± 171.9 mg/kg de Ni.

Tabla. X. Promedio de las concentraciones de metales pesados (mg/Kg) en tejido muscular en *C. carpio* L. de los sitios de estudio.

Sitio de estudio	n	Pb		Ni		Zn	
		Media ± DS	Intervalo	Media ± DS	Intervalo	Media ± DS	Intervalo
AT	28	395.7 ± 125.3	181.1-608.8	182.5 ± 171.9	0.44-604.1	<LD	-
LC	13	<LD	-	0.038 ± 0.002	0.033-0.041	0.013± 0.012	0.001-0.032
REF	14	<LD	-	0.037 ± 0.001	0.035-0.039	0.036± 0.028	0.017-0.116
*		0.3		---			
**		0.5		---			
***		0.2		---			

LD: Pb = 0.38, Ni = 0.02, Cd = 0.08, Cr = 0.07, Zn = 0.32 mg/L

LC: Pb = 1.27, Ni = 0.08, Cd = 0.26, Cr = 0.25, Zn = 1.08 mg/L

*Codex-Alimentarius (FDA, enmienda 2015)

**Legislación Australiana (Food Standard Code)

***Unión europea. Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios.

El valor de Pb se ubicó por arriba de los límites máximos permisibles tanto de Codex-Alimentarius (FDA, enmienda 2015) como de la Unión europea para contenidos máximos de metales pesados en productos alimenticios. En los individuos de la presa de Lázaro Cárdenas únicamente se detectó Ni (0.038 ± 0.002 mg/kg) y Zn (0.013 ± 0.012). Con respecto al sitio de referencia se obtuvieron concentraciones de 0.037 ± 0.001 mg/kg y 0.036 ± 0.028 mg/kg de Ni y Zn respectivamente (Tabla X).

6.5.3. EVALUACIÓN DE LA GENOTOXICIDAD

En la figura 12 se muestran los resultados del daño al DNA evaluado a través de la frecuencia de MN en eritrocitos de sangre periférica de los peces en estudio. En los peces de la presa de Atlangatepec el promedio de la frecuencia de MN fue 47.75 ± 11.87 MN/1000 cel con un valor mínimo de 25 ± 15.56 y un máximo de 69.5 ± 6.36 MN/1000 cel, mientras que para los peces de Lázaro Cárdenas los valores se encontraron entre 11.5 ± 7.78 y 41 ± 14.14 MN/1000 cel con un promedio de 26.73 ± 5.93 , en ambos sitios los valores fueron de 2 a 8 veces más altos que en los peces del sitio de referencia (8.25 ± 2.12 MN/1000 CT), presentando diferencias estadísticamente significativas. Al mismo tiempo se evaluaron células con anomalías nucleares (Figura 13).

El promedio de la frecuencia de células binucleadas (Figura 14), en los peces de Atlangatepec fue de (0.70 ± 0.99 BN/1000 cel) menores a los obtenidos en la Lázaro Cárdenas (5.04 ± 2.3 BN/1000 cel) pero hasta 10 veces más altos que lo cuantificado en los peces de referencia (0.5 ± 0.71 BN/1000 cel), en cuanto a los NB (Figura 15), el promedio fue de 1.19 ± 1.3 NB/1000 cel para la presa de Lázaro Cárdenas valor inferior al de la presa de Atlangatepec (1.98 ± 1.78 NB/1000 cel) mientras que el promedio de las DE (Figura 16) para la presa de Lázaro Cárdenas fue de 1.04 ± 0.9 DE/1000 cel y de 1.19 ± 0.91 DE/1000 cel en Atlangatepec, por último el promedio de EG (Figura 17) en Lázaro Cárdenas fue de 4.23 ± 4.8 EG/1000 cel mayor al detectado en Atlangatepec (1.05 ± 1.24 EG/1000 Cel).

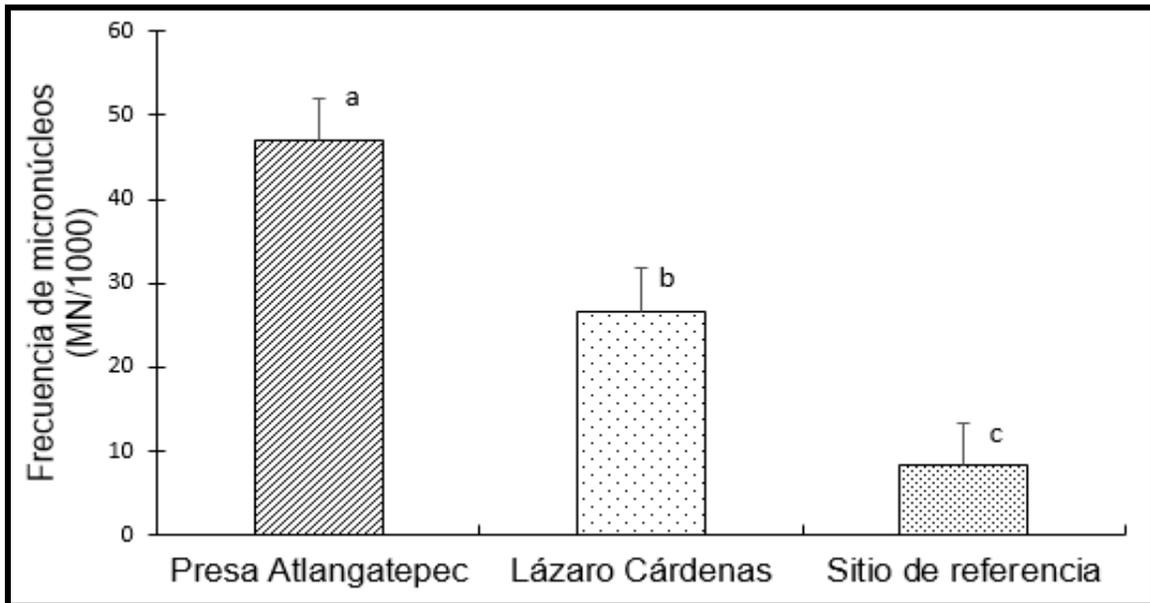


Figura 12. Promedio de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de *C. carpio* L. de los sitios de estudio. Análisis de varianza de un factor, prueba de Tukey $p > 0.05$

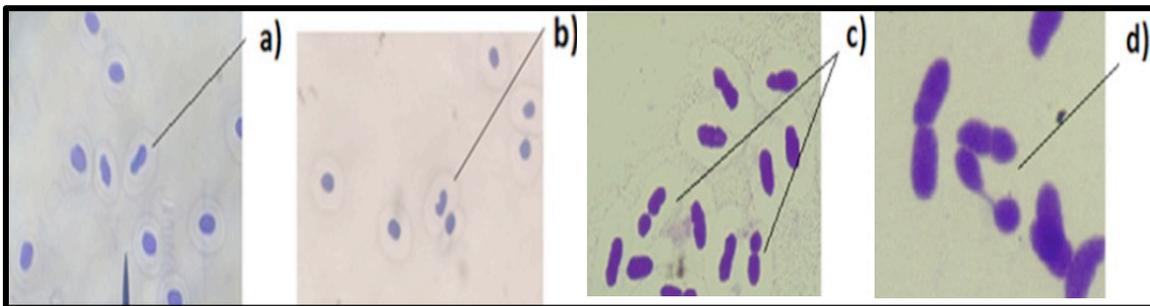


Figura 13. Anormalidades nucleares de eritrocitos de sangre periférica de *C. carpio* L., a) eritrocito glomerular (EG), b) célula dentada (DE), c) célula binuclear (BN) d) eritrocito binucleado con puente (BNP).

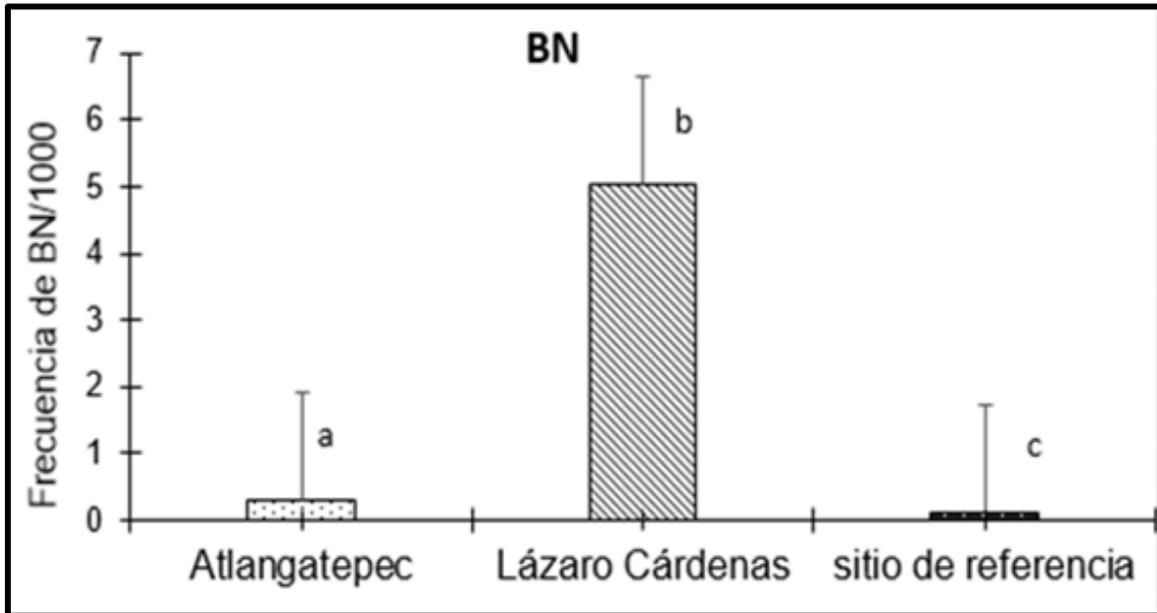


Figura 14. Frecuencia de células binucleadas en eritrocitos de *C. carpio* L. de ambos sitios de estudio.

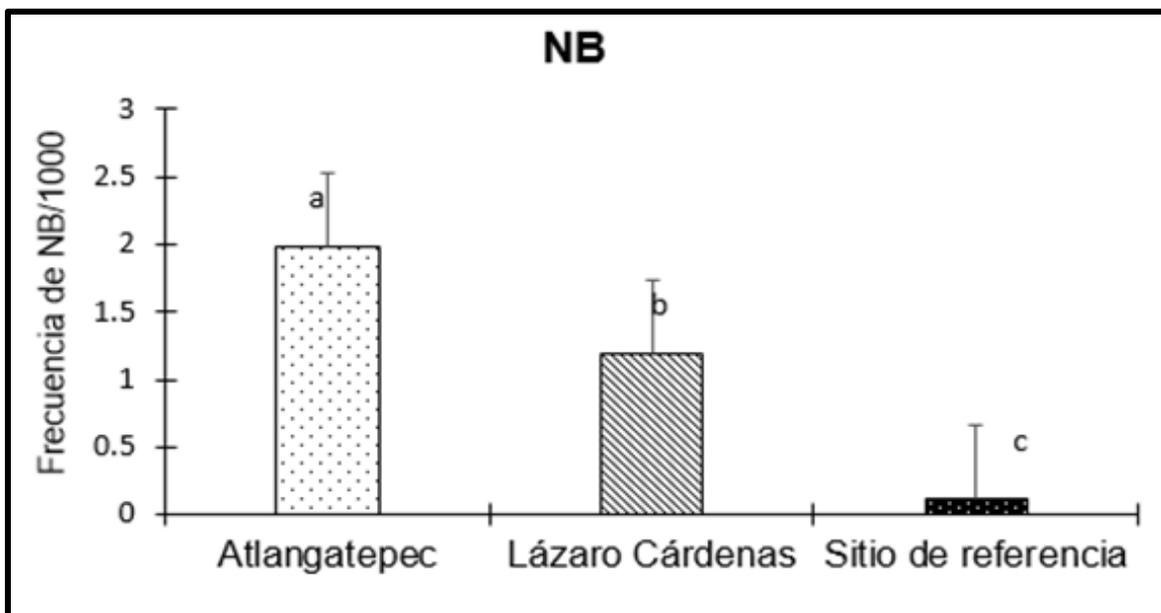


Figura 15. Frecuencia de NB en eritrocitos de *C. carpio* L. de ambos sitios de estudio.

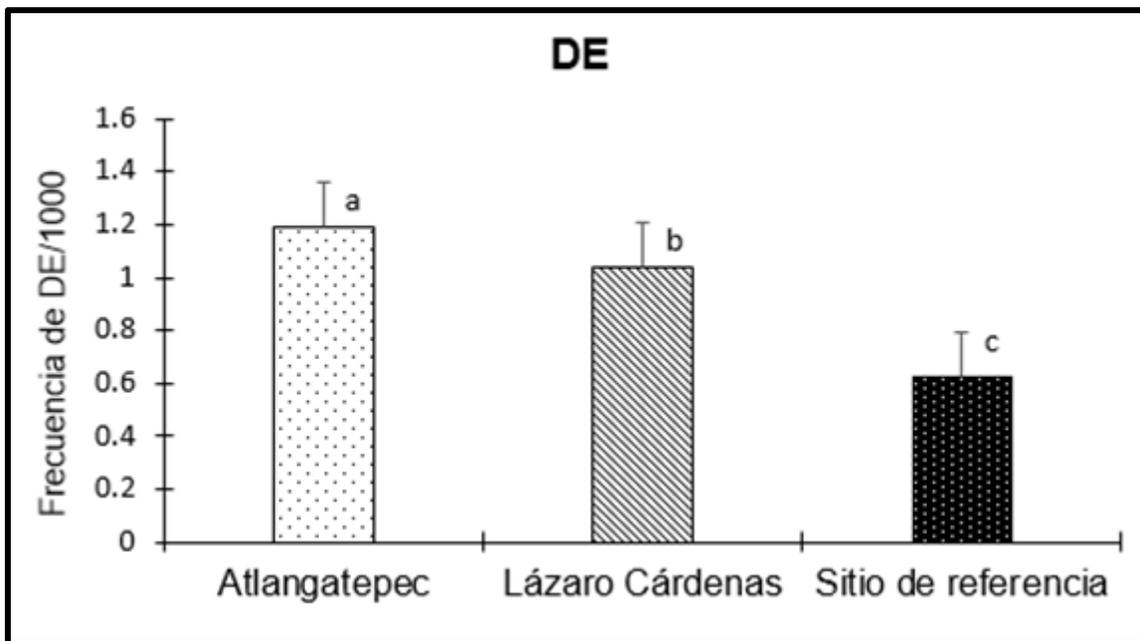


Figura 16. Frecuencia de células DE en eritrocitos de *C. carpio* L. de ambos sitios de estudio.

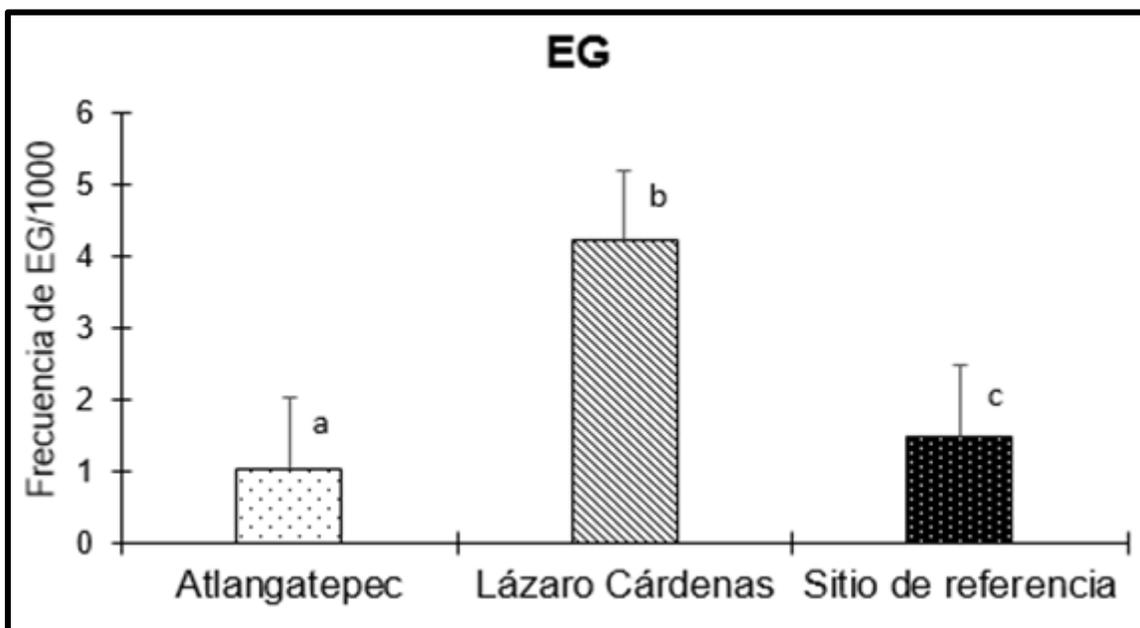


Figura 17. Frecuencia de EG en sangre de *C. carpio* L. de ambos sitios de estudio.

7. DISCUSIÓN

En la actualidad, los problemas de contaminación de los ecosistemas acuáticos son cada vez más frecuentes, debido a la gran diversidad de actividades económicas que están relacionadas con éstos, lo cual trae como consecuencia el incremento de residuos que son vertidos directa o indirectamente sobre los cuerpos de agua, resultando una seria amenaza no solo para estos, sino también para los organismos que en ellos habitan, asimismo, diversas actividades como el turismo, la pesca, y actividades recreativas, entre otras que requieren una alta calidad del agua pueden reducir su potencial productivo (Aguilar y Duran, 2010; Wael *et al.*, 2012).

El presente estudio evaluó la genotoxicidad de las presas de Atlangatepec y Lázaro Cárdenas, las cuales se ven afectadas por las descargas de aguas residuales sin ningún tratamiento previo, residuos sólidos urbanos y aportaciones de agroquímicos derivado de las actividades agrícolas que se desarrollan en las inmediaciones del cauce. Desde el punto de vista integral, la contaminación de los ecosistemas acuáticos debe evaluarse mediante las propiedades físicas, químicas y biológicas tanto del agua como del sedimento, así como de los efectos que sobre las poblaciones y comunidades acuáticas pudieran generar (Aguilar y Duran, 2010).

Los parámetros físicos y químicos de los cuerpos de agua son un primer elemento para analizar su calidad, así como el comportamiento de los contaminantes (Lara *et al.*, 2003). En general los parámetros fisicoquímicos de agua *in situ* de ambos sitios de estudio no rebasan el nivel máximo permisible de acuerdo a la NOM-001-ECOL-1996 para protección de la vida acuática ni para los CE-CCA-001/89 de calidad de agua tanto para protección de la vida acuática, para riego agrícola y para cultivo de tilapia. Sin embargo se deben tomar en cuenta valores como el pH que tiende a la alcalinidad ya que éstos valores están en función de la cantidad de bicarbonatos, carbonatos e inclusive de algunos metales (Jiménez-Cisneros, 2016). Cabe mencionar que los valores de pH pueden ser indicativos de diversos fenómenos, por una parte al ingreso de algunos residuos contaminantes de los fertilizantes utilizados en las prácticas agrícolas y por otra, pueden generar un incremento de la toxicidad y/o biodisponibilidad de los metales pesados, con lo cual los organismos

pueden ser susceptibles a estos y presentar estrés, alterar su desarrollo y fisiología por su presencia (Pérez-Castillo y Rodríguez, 2008; Rubio-Arias *et al.*, 2014).

En general los resultados de las condiciones físicas y químicas del agua de los sitios de estudio muestran valores similares a lo reportado por García-Nieto *et al.* (2011) y Mena-Mejía *et al.* (2017) en sitios cercanos a los de este trabajo a excepción de los SDT que fueron mayores, de acuerdo a los índices de calidad de agua en los que se basó Mena-Mejía *et al.* (2017) la condición de la presa de Atlangatepec es pobre, refiriéndose que la causa se debe a la entrada de aguas residuales del municipio de Tlaxco y su zona industrial.

Por otra parte el análisis de sedimentos se ha usado ampliamente como un indicador ambiental para evaluar la magnitud de la contaminación en un sistema acuático, como estos continuamente interaccionan con la fase líquida, es conveniente combinar el análisis de ambas matrices ambientales. Los sedimentos actúan como portadores y posibles fuentes de contaminación comportándose como un reservorio de contaminantes (USEPA, 1988). En el caso del sedimento de ambos sitios de estudio el pH tiende a ser neutro a ligeramente ácido ($\text{pH} < 7$) de acuerdo a Pérez-Castillo y Rodríguez en 2008 mencionan que los metales pesados en un ambiente ácido afectan su solubilidad poniendo en riesgo a la biota que en ellos habitan.

En cuanto al % MO de los sedimentos de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2001 se clasifican como contenido medio para la presa de Atlangatepec, mientras que la presa de Lázaro Cárdenas en contenido bajo, Herrera *et al.*, (2013) mencionan que al disminuir el contenido de material orgánico en el sedimento, se reduce su capacidad para acumular metales, por lo cual estos quedan disponibles en disolución, facilitando su transporte a lo largo del cauce.

Los valores de textura del sedimento en ambos sitios de estudio como lo marca la NOM-021-SEMARNAT-2001 presentan un porcentaje mayor de arena, García y

Dorronsorero (2007) indican que en suelos arenosos hay carencia en la capacidad de fijación de los metales pesados por lo cual se facilita su movilidad en el sistema hídrico.

La contaminación por elementos potencialmente tóxicos en los últimos años se ha incrementado y a pesar de que algunos son necesarios para los seres vivos (Cr, Zn, Ni) al rebasar un límite umbral pueden llegar a ser tóxicos (Jiménez-Cisneros, 2016; Covarrubias y Peña-Cabriales, 2017) por lo cual la presencia de compuestos potencialmente tóxicos en el ambiente puede representar un riesgo, por esta razón es importante que en estudios ambientales se cuantifiquen aquellos contaminantes que según las posibles fuentes se perciban como una amenaza, especialmente tratándose de elementos potencialmente tóxicos por no haber mecanismos de eliminación naturales (Mejía-Saavedra *et al.*, 2014).

Diversos estudios mencionan la presencia de metales pesados en matrices ambientales (García-Nieto *et al.*, 2011; Wael *et al.*, 2012; Covarrubias y Peña-Cabriales, 2017) así como su acumulación en tejidos biológicos de organismos utilizados como bioindicadores (Ley-Quiñones *et al.*, 2013; Zavala-Norzagaray *et al.*, 2014).

En este trabajo se cuantifico la concentración de cinco elementos potencialmente tóxicos (Pb, Ni, Cd, Zn y Cr) en muestras de agua y sedimento de los cuales Pb rebaso los límites máximos permisibles de la NOM-001-ECOL-1996 para la presa de Atlangatepec cuya concentración más alta en agua fue de 1.05 mg/L correspondiente al punto 10 ubicado a un costado del afluente del río Zahuapan este valor es mayor (0.9 mg/L) al reportado por García-Nieto *et al.* (2011) para el mismo sitio de estudio y para sedimento valores de hasta 786.1 mg/Kg lo cual indica que en los últimos años se ha incrementado su presencia en el ambiente. En cuanto a la presa de Lázaro Cárdenas el único EPT cuya concentración más alta fue de Pb (1.40 mg/L) en agua rebasando los límites máximos permisibles para protección de la vida acuática de acuerdo a las normas nacionales e internacionales.

La presencia de níquel en los sedimentos estudiados puede deberse al ingreso del cauce debido al contenido de desechos no ordinarios, como electrodomésticos y baterías, que emplean aleaciones de níquel en su fabricación, y a productos líquidos usados en la industria metalmeccánica, como aceites, pinturas y lubricantes procedentes del lavado de calles por la lluvia o que ingresan en forma directa al cauce (Marrugo *et al.*, 2006). De la concentración total del metal, sólo ciertas formas químicas son tóxicas para los organismos, estas incluyen iones libres y metales liposolubles (Morrison *et al.* 1989; Chen *et al.*, 1996).

Las concentraciones de metales pesados cuantificadas tanto en matrices ambientales como en tejido biológico en ambos sitios de estudio pueden atribuirse a escorrentías de los terrenos de cultivo aledaños a las presas, así como al vertido de aguas residuales. Cabe destacar que algunos plaguicidas y fertilizantes sobre todo aquellos cuya composición química está hecha a base de fosfatos y sulfato de cobre y hierro a menudo contienen altos niveles de Cd, Co, Cu, Zn, Pb y Ni. Sin embargo, las concentraciones pueden variar, las cuales están en función de propiedades físicas y químicas como el pH, así como de factores ambientales interactuantes, incluyendo clima, tasa de evaporación, uso de la tierra y prácticas de manejo de agua para el riego de cultivos (Cáceres *et al.*, 2010; Wael *et al.*, 2012; Gall *et al.*, 2015).

El uso de bioindicadores permite establecer la biodisponibilidad de los contaminantes presentes en diferentes sitios, poniendo de manifiesto la importancia que tiene el realizar evaluaciones integradas de riesgo. De esta forma se puede tener un panorama más amplio del riesgo en que se encuentran la biota y los seres humanos residentes, donde las rutas y vías de exposición son diversas (Mejía-Saavedra *et al.*, 2014).

Las concentraciones de metales pesados en músculos de peces fueron de 266.48 mg/Kg para los peces capturados en la presa de Atlangatepec valor inferior (9.61 mg/kg) a lo publicado por Rodríguez-Amador *et al.*, (2012) y a los reportados por

Cáceres *et al.* (2010) quienes encontraron concentraciones de Pb y Cr por debajo del límite permisible para fauna acuática, sin embargo, también mencionaron que los metales aun a bajas concentraciones tienen la capacidad de ser tóxicos, por lo cual podemos mencionar que el Pb se encuentra biodisponible y pone en riesgo a los organismos de dicha presa ya que los valores están por arriba de las normas Codex-Alimentarius (FDA, enmienda 2015), Legislación Australiana (Food Standard Code) y por la Unión Europea. Contenidos máximos de metales pesados en productos alimenticios y por otra parte la concentración de Ni en musculo es alta sin embargo no hay normatividad que mencione los límites máximos permisibles. En el caso de los peces, la actividad excavadora provoca turbulencia de las aguas, de esta manera los metales pesados pueden ingresar a los peces a través de las branquias, la piel o el tracto gastrointestinal (Ohe *et al.*, 2004 ; Costa *et al.*, 2008) ésta pudiera ser la razón por la cual el Pb y Ni se encontraron en el tejido muscular y con lo cual también se corrobora que en efecto, los parámetros físicos y químicos influyen en la biodisponibilidad de los EPT y que se está llevando a cabo el proceso de bioacumulación.

Las investigaciones ecogenotóxicas de ambientes acuáticos resultan de gran utilidad para evaluar el daño generado a diversos organismos, como los peces, por contaminantes como los metales pesados. La captación y toxicidad de los metales pesados para los organismos acuáticos están influidos no sólo por su concentración; también son relevantes el tiempo de exposición y los factores bióticos y abióticos del ecosistema (Castañé *et al.*, 2003).

Los ecosistemas acuáticos a menudo reciben una gran variedad de contaminantes, muchos de los cuales tienen el potencial para causar cambios en la estructura de las comunidades, la función biológica y en los organismos presentes, afectando su ciclo de vida, crecimiento, su condición reproductiva y causar daños al material, por tal motivo algunos organismos pueden proporcionar información de cambios físicos y químicos en el agua, ya que a lo largo el tiempo revelan modificaciones en la

composición de la comunidad de estos ecosistemas (Rosales y Sánchez, 2013; Rigonato *et al.*, 2010)

Los efectos genotóxicos evaluados en los peces de los cuerpos de agua de estudio pueden estar influenciados por los metales pesados ya que estos favorecen la formación de MN, los cuales se derivan de rupturas de la cadena de ADN a nivel de las cromátidas o en todo el cromosoma (Russo *et al.*, 2004). Se forman además por la inhibición de la polimerización de los túbulos de actina, estructura esencial en la división mitótica (Porto *et al.*, 2005)

En ambos sitios de estudio fueron capaces de provocar daño genotóxico, sin embargo los valores promedio de MN para Atlangatepec (47.75 ± 11.78 MN/1000 células) y Lázaro Cárdenas (26.73 ± 5.93 MN/1000 células) estos valores fueron menores a lo publicado por García-Nieto *et al.* (2014) donde obtuvieron un valor máximo de 95.3 ± 15.0 MN/ 1000 células al exponer a organismos de la especie *C. carpio* en diferentes concentraciones de agua de un manantial en el estado de Tlaxcala, además de los MN en este trabajo también se menciona la detección de otras anomalías nucleares como es la presencia de células BN las cuales son consideradas como un indicador de citotoxicidad (ÇavaÖ y Ergene-Gözükara, 2005) Y estas aparecen debido a un bloqueo de la citocinesis durante la división celular anormal, generando un desbalance genético en las células (Rodilla, 1993). Para el caso de las células con NB Brzuzan *et al.* (2006) deducen que dichas anomalías pueden estar asociadas con un efecto clastogénico. Estos efectos no solo se deben a la presencia de EPT, Sandoval- Villasana *et al.*, (2009) citaron que la toxicidad también puede deberse a la presencia de compuestos orgánicos, como hidrocarburos poliaromáticos, herbicidas y pesticidas.

Los peces pueden actuar como organismos “centinela” y como ya se mencionó, se utilizan comúnmente en la vigilancia de la contaminación, ya que están ampliamente distribuidos en los ambientes acuáticos y tienen la capacidad de bioacumular sustancias tóxicas, así como de responder a bajas concentraciones de

contaminantes ambientales y mutágenos resultando un excelente modelo de evaluación ecotoxicológica, tal y como se demuestra con este trabajo. Además, los peces responden a los productos químicos de una manera similar a la de los vertebrados superiores por lo tanto se puede inferir el nivel de exposición de poblaciones humanas a sustancias químicas tóxicas presentes en los ecosistemas acuáticos (Corredor-Santamaría *et al.*, 2012).

8. CONCLUSIONES

Considerando los parámetros físicos y químicos cuantificados *in situ* en agua de ambos sitios de estudio, estos pueden ser utilizados para crianza de peces y para riego agrícola, sin embargo, los parámetros fisicoquímicos del sedimento indican que los metales pesados se encuentran en su forma disponible. De los metales analizados el Pb fue el único que se cuantificó en agua, sedimento y tejido muscular de los peces de la presa de Atlangatepec en concentraciones por arriba de normas nacionales e internacionales para la protección de vida acuática y del CODEX alimentario, Legislación Australiana (Food Standard Code) y la Unión Europea. Contenidos máximos de metales pesados en productos alimenticios, por lo tanto puede considerarse un elemento crítico. Por otra parte en ambos sitios de estudio se obtuvieron valores del CP mayores a 1 con respecto a Pb y Ni lo que indica que la flora y la fauna están en riesgo.

Aun cuando no se encontró una correlación positiva entre la concentración de metales en el ambiente y lo cuantificado en el tejido muscular de los peces con el efecto genotóxico, la evaluación del daño al DNA que presentan los peces capturados en Atlangatepec y Lázaro Cárdenas estimado a través de la frecuencia de MN, se incrementó de 2 a 8 veces con respecto a los peces de referencia, aun cuando los valores más altos se encontraron en la presa de Atlangatepec (25 ± 15.56 y 69.5 ± 6.36 MN/1000), los resultados evidencian la presencia de sustancias con potencial genotóxico. Sin embargo, existen dificultades para establecer la relación de estos efectos inducidos en los peces, debido a la gran variedad de sustancias tóxicas que son vertidas a estos ecosistemas.

Los resultados de MN y anomalías nucleares en eritrocitos de peces de la especie *C. carpio* L. así como la evidencia de la acumulación de metales en tejido, corrobora el uso de esta especie como un adecuado biomarcador de efecto para la evaluación del impacto de agentes genotóxicos en ecosistemas acuáticos.

La incidencia de daño en especies silvestres no solo contribuye a la pérdida de la biodiversidad, sino que afecta al resto de los integrantes del ecosistema incluyendo al hombre. La exposición humana mediante el consumo de especies que habitan en

sitios contaminados contribuye a incrementar la incidencia de diversas enfermedades. En este contexto, ambas presas, Atlangatepec y Lázaro Cárdenas representan áreas de riesgo latente, debido a la práctica de la acuicultura por lo que es necesario identificar otros posibles contaminantes como plaguicidas, y cuantificar la acumulación de éstos en los peces para ampliar los datos que evidencien el riesgo que representan estos ecosistemas.

Los resultados de este estudio demuestran la importancia de identificar la presencia de contaminantes en matrices ambientales y sus efectos sobre los organismos que directa o indirectamente están expuestos a ellos. Se pretende que éste trabajo contribuya con información para generar alternativas y propuestas en el uso y manejo de los recursos hídricos, no sólo como fuente de abastecimiento para la población con opción a la potabilización, sino también para el riego planificado y el ecoturismo, generando ingresos para el municipio y beneficios para la comunidad (Hernández, 2010)

Este trabajo se constituye como uno de los pocos realizados en el estado de Tlaxcala donde se evaluó los efectos genotóxicos en peces bajo condiciones *in situ*, de dos diferentes cuerpos de agua y que están asociados a contaminantes ambientales, por esta misma razón se convierte en un modelo para investigaciones futuras.

9. REFERENCIAS

- Aguilar IA, Durán RN. 2010. Conceptos de calidad del agua: un enfoque multidisciplinario. En: *Calidad del agua un enfoque multidisciplinario*. Coord. Aguilar-Ibarra A. México: UNAM. Instituto de Investigaciones económicas. 11-24.
- Alder AC, Siegrist H, Gujer W, Giger W. 1990. Behaviour of NTA and EDTA in biological wastewater treatment. *Water Res.* 24:733-744.
- Al-Sabti K. 1995. An in vitro binucleated blocked hepatic cell technique for genotoxicity testing in fish. *Mutation Research*, 335 (2): 109-120.
- ATSDR. 2008. "COPS" Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Case studies in Environmental Medicine: Lead Toxicity. Atlanta ATSDR.
- ATSDR. 2017. "COPS" Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Case studies in Environmental Medicine: Lead Toxicity. Atlanta ATSDR.
- Belkin HE, Spark HM. 1993. Mercury, arsenic, antimony, and selenium contents of sediment from the Kuskokwim River, USA. *Environmental Geology* **22**, 106-111.
- Carignan R, Tessier A. 1988. The co-diagenesis of sulphur and iron in acid lake sediments of southwestern Québec. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 1179-1188.
- Castañé PM, Topalián ML, Cordero RR, Salibián A. 2003. Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad *Revista de Toxicología*, vol. 20, núm. 1, pp. 13-18. Asociación Española de Toxicología Pamplona, España.
- CE-CCA-001/89. Acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecologicos de calidad de Aguas.
- Cervantes M. 2007. Conceptos fundamentales sobre ecosistemas acuáticos y su estado en México. En: *Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México*. Eds: Sánchez O, Herzig M, Peters E, Márquez R, Zambrano L. México. pág. 37-67.
- Chen W, Tan SK, Tay JH. 1996. Distribution, fractional composition and release of sediment-bound heavy metals in tropical reservoirs. *Water, air, and soil pollution* 92:273-287.

CONAGUA. 2013. Estadística del agua en México, edición 2013. Disponible en:
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/SGP-2-14Web.pdf>.

(Marzo 2018)

CONAGUA. 2014. Atlas del agua en México 2014. Disponible:
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-17-14.pdf>.

SEMARNAT-CONAGUA, 142. (Marzo 2018)

CONAGUA. 2016. Estadística del agua en México, edición 2016. Disponible en:
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/SGP-2-14Web.pdf>.

(Marzo 2018)

Costa PM, Lobo J, Caeiro S, Martins M, Ferreira AM, Caetano M, del Valls TA. 2008. Genotoxic damage in *Solea senegalensis* exposed to sediments from Sado Estuary (Portugal): Effects of metallic and organic contaminants. *Mutation Research.*, 654: 29-37.

El Falaki K, Perrin C, Belkesam L, Peisajovich A, Martin G. 1994. Impacto de los detergentes sobre los sedimentos. *Mobilización de metales. Tecnología del agua* 128, 25-31.

EPA Method 3015. 1995. Microwave assisted acid digestion of aqueous sample and extracts. En: *Test methods for evaluating solid waste. Tercera edición, Tercera actualización; United States Environmental Protection Agency, Washington D. C.*

FDEP. 1994. *Approach to the Assessment of Sediment Quality in Florida Coastal Waters.* (Disponible en:

www.Dep.state.fl.us/water/monitoring/docs/seds/vol1/volume1.pdf

(Diciembre 2017)

Fenech M. 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, 455: 81-95.

Förstner U, Salomons W. 1980. Trace metals analysis on polluted sediments. I. assesment of surces and intensities. *Enviroment Technology Letters* 1, 494-505.

Förstner U, Wittmann GTW. 1981. Heavy metal pollution in the aquatic enviroment (2nd Ed). *Spring- Verlag.* Berlin. Heidelberg New York pp 486.

- Förstner U. 1993. Metal speciation general concepts and applications. En: Proceedings of the Workshop on the sequential extraction of trace metals in soils and sediments *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **51**, 5-23.
- Frimmel FH, Grenz R, Kordik E, Dietz F. 1989. Nitrotriacetate (NTA) and ethylenedinitrotetraacetate (EDTA) in rivers of the Federal Republic of Germany. *Vom Wasser* 72-175-184.
- García-Nieto E, Carrizales-Yañez L, Juárez-Santacruz L, García-Gallegos E, Hernández-Acosta E, Briones-Corona E, Vázquez-Cuecuecha OG. 2011. Plomo y Arsénico en la subcuenca del Alto Atoyac en Tlaxcala, México. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 17 (1), 7-17.
- García-Nieto E, Juárez-Santacruz L, García-Gallegos E, Tlalmis- Zempoalteca J, Romo-Gómez C, Torres-Dosal A. 2014. Genotoxicological response of the Common Carp (*Cyprinus carpio*) exposed to Spring water in Tlaxcala, Mexico. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 93(4),393-398.
- Ghisi N de C, Ramsdorf W, De Almeida M, Ribeiro C, Cestari M. 2011. Evaluation of genotoxicity in *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes) after sub-chronic contamination with Fipronil. *Environmental monitoring and assessment*, 180 (1-4): 589-99.
- Gonsior SJ, Sorci J, Zoeller MJ, Landenberger BD. 1997. The effects of EDTA on metal solubilization in river sediment/water system. *Published in J. Environ. Qual.* 26, 957-966.
- Griffiths A, Miller J, Suzuki D, Lewontin R, Gelbart W. 2000. An introduction to genetic analysis (7^a ed.). USA: Freeman and company.
- Gustavino B, Scornajenghi KA, Minissi S, Ciccotti E. 2001. Micronuclei induced in erythrocytes of *Cyprinus carpio* (teleostei, pisces) by X-rays and colchicine. *Mutation Research*, 494(1): 151-159.
- Hatanaka Y, Kitagawa Y, Toyoda Y, Kawata T, Ando N, Kawabata Y, Iwai M, Arimura H. 1992. Micronucleus test with cyclophosphamide using mouse peripheral blood reticulocytes. *Mutat Res*, 278, 99-101.
- Iannacon J, Alvariano L. 1998. Ecotoxicidad aguda del zinc sobre el "guppy" *Poecilia reticulata*. *Wiñay Yachay*. 2 (3):67-74.

- Iannacone J, Alvariño L, Gutierrez AR. 1999. Cinco ensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados en el agua dulce. Boletín de la Sociedad Química de Perú. 65: 30-45.
- INECC. 2009. Metales pesados. Disponible en: <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales?device=desktop> (Marzo 2018).
- INEGI. 2012. Perspectiva estadística Tlaxcala 2012. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/español/bvinegi/productos/integracion/estd_perspect/tlax/pers-tla.pdf.
- Lozano JA, Galindo JD, García JC, Martínez JH, Peñafiel R, Solano F. 2000. Bioquímica y Biología Molecular para Ciencias de la Salud. (2ª ed.). España: Mc. Graw Hill-Interamericana.
- Luque J, Herraes A. 2001. Biología Molecular e Ingeniería Genética. (1ª ed.) España: Harcourt.
- Martínez S. 2005. El cerdo joven como bioindicador de concentraciones bajas de genotóxicos, mediante la prueba de micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica. Trabajo de grado Doctor en Ciencias básicas. Colima, México: Universidad de Colima. Facultad de Medicina. p. 21.
- Mena-Mejía A, Bustamante-González S, Vargas-López J, Olvera-Hernández I, Méndez-Espinoza JA. 2017. Evaluación de la condición ecológica del río Zahuapan. Revista internacional de contaminación ambiental. 33 (1) 7-19.
- Missini S, Lombi E. 1997. Heavy metal content and mutagenic activity, evaluated by *Vicia faba* micronucleus test, of Tiber river sediments. Mutation Research, 393: 17-21.
- Moalla SM, Awadallah RM, Rashed MN, Soltan ME. (1998). Distribution and chemical fractionation of some heavy metals in bottom sediments of Lake Nasser. *Hidrobiologia* 364, 31-40.
- Moreno-Sánchez R, Devars S. 1999. Abundancia de los metales pesados en la biosfera. Ambiental por Metales Pesados. AGT Editor. México. 1-10.
- Mudry M, Abrevaya X. 2006. Evaluación de Aneugenicidad y Clastogenicidad. En: Genética Toxicológica, 1: 277-298.

- NOM-001-ECOL-1996. Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y vienes nacionales.
- NMX-AA-004-SCFI-1980. Norma Oficial Mexicana. Establece los lineamientos generales y recomendaciones para muestrear las descargas de aguas residuales. Aguas residuales. Muestreo.
- NMX-AA-051-SCFI-2001. Norma mexicana que establece el análisis de agua-determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- método de prueba. Pp 51.
- Obiakor MO, Okonkwo J, Nnabude P, Ezeonyejaku C. 2012. Eco-genotoxicology: Micronucleus Assay in Fish Erythrocytes as in situ Aquatic Pollution Biomarker: a Review. *Journal of Animal Science Advances*, 2(1): 123-130.
- Ohe T, Watanab T, Wakabayashi K. 2004. Mutagens in surface Waters: a review. *Mutation Research*, 567, 109-149.
- Peña CE, Carter DE. y Ayala-Fierro F. 2001. Toxicología Ambiental, Evaluación de riesgos y restauración ambiental. Distribuido en Internet via The Southwest Hazardous Waste Program. 203 p. (En línea). Disponible en <http://toxamb.pharmacy.arizona.edu/toxamb.pdf> (enero de 2018).
- Porto JIR, Araujo CSO, Feldberg E. 2005. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research*. 97, 287-292.
- Rabello-Gay MN. 1991. Test de micronúcleo em medula óssea. Mutagênese, Teratogênese e Carcinogênese: métodos e critérios de avaliação. *Sociedade Brasileira de Genética*, 1: 83-90.
- Rodríguez-Cea A, Ayllon F, Garcia E. 2003. Micronucleus test in freshwater fish species: an evaluation of its sensitivity application in field surveys. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 442-448.
- Rodríguez Amador, R.; Monks, S.; Pulido Flores, G.; Gaytán Oyarzun, J. C.; Romo Gómez, C. Violante González, J. Metales pesados en el pez *dormitator latifrons* (richardson, 1884) y agua de la laguna de Tres Palos, Guerrero, México Ra Ximhai, vol. 8, núm. 2., mayo-agosto, 2012, pp. 43-47

- Rosas Rodríguez H. 2001. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Introducción. UPC. 7 pp. <http://www.tesisenxarxa.net/TDX-0712101-075103/index.html>, en línea agosto 2017.
- Russo R, Morescalchi M, Stingo V. 2004. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57 (2), 168–174.
- Sandoval-Villasana AM, Pulido-Flores G, Monks S, Gordillo-Martínez AJ, y Villegas-Villareal EC. 2009. Evaluación fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de la degradación ambiental del río Atoyac, México. *Interciencia*.34: 880-887.
- Secretaría de la Convención de Ramsar. 2013. *Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971)*, 6a. edición. Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza).
- Schmid W. 1975. The micronucleus tests. *Mutation Research*, 31:9-15.
- Singh AK, Hasnain SD, Baaerjee DK. (1999). Grain size and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Domador Rier a tribulary of the cower. *Ganga India. Enviromental Geology* 39(1):96-98.
- Sigg L, Strum M, Kister D. 1987. Vertical transport of heavy metals by setting porticles in Lake Zurich, *Limno Oceanog* 32:112-130.
- Souza T, Fontanelli CS. 2006. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluents. *Mutation Research*, 605: 87-93.
- Sumner JA. 2012. Ni una sola gota: the politics of water in late nineteenth century Tlaxcala. 2012 Congress of the Latin American Studies Association. San Francisco, California, EUA.
- Torres A, Espinosa-Reyes G, Ilzalurri C, González DJ, Razo I, Mejía J, Diaz-Barriga F. 2006. Diseño y aplicación de una metodología para la evaluación integrada de riesgos ambientales en sitios peligrosos de México.

- Torres-Bugarin O, Zavala JL, Gomez P, Buelna HR, Zuñiga G, Ulloa MG. 2007. Especie de peces con potencial como bioindicadores de genotoxicidad en el lago “La Alberca”, Michoacan, Mexico. *Hidrobiologica*. 17: 75-81.
- Unión Europea. Contenidos Máximos en metales pesados en productos alimenticios. 2017.
- USEPA. 1998. EPA’s Contaminated sediment Management Strategy. EPA-823-R-98-001. Disponible en: www.epa.gov/waterscience/cs/manage/stratndx.html (enero 2018)
- Vaithyanathan P, Ramanathan AL, Subramanian V. 1993. Transport and distribution of heavy metals in Cauvery River. *Water, Air and Soil Pollution* 71, 13-28.
- Wael AO, Khalid HZ, Amr A, Abdel-Khalek S, Abo-Hegab. 2012. Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 746: 7– 14
- Yong RN. 2000. *Geoenvironmental Engineering. Contaminated Soils, Pollutant Fate, and Mitigation*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 307 p.