



**Casa abierta al tiempo**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**Iztapalapa**

**Alteración ambiental del río Bejucos y su influencia sobre**

***Spermophilus adocetus*, Estado de México.**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**Maestro en Biología**

**PRESENTA**

**BIÓL. MARIO ALEJANDRO MUÑOZ NÁJERA**

**Fecha**

**25 de abril del 2013**

La Maestría en Biología de la  
Universidad Autónoma Metropolitana  
Pertenece al Padrón de  
Postgrados de Calidad del CONACyT.

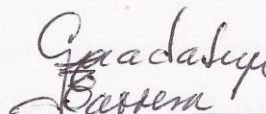
El jurado designado por la  
**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

**BIÓL. MARIO ALEJANDRO MUÑOZ NÁJERA**

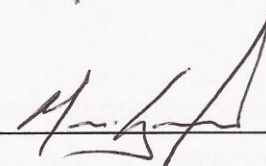
El día 25 de abril del año de 2013.

*Comité Tutoral y Jurado*

Directora: Dra. Guadalupe Barrera Escorcia



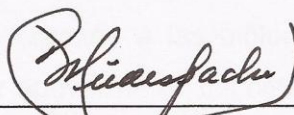
Asesor: Dr. Mario García Lorenzana



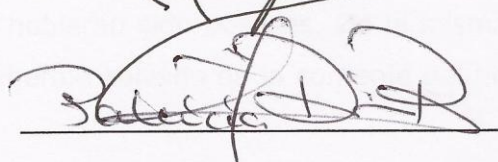
Asesor: M. en C. Matías Martínez Coronel



Sinodal: M. en C. Carolina Müdespacher Ziehl



Sinodal: Dra. Patricia Ramírez Romero



## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedico la presente tesis a mi madre, por haberme dado la oportunidad de venir a este mundo y maravillarme de la naturaleza. También por soportarme y apoyarme desde el inicio de esta nueva etapa de mi vida.

Agradezco a la Dra. Guadalupe Barrera Escorcía, por su apoyo incondicional desde el inicio de la maestría, por creer en mí y por sus valiosos consejos. Su profesionalismo y pasión por la ecotoxicología, siempre me inspiró. Espero algún día llegar a hacer tan grande como usted. Gracias.

Al M. en C. Matías Martínez Coronel por confiar en mí y aceptar ser parte de mis asesores. Gracias por sus enseñanzas y orientaciones que me ayudaron a culminar este trabajo.

Al Dr. Mario García Lorenzana, quien me apoyó desde el primer momento. Con usted encontré en la Histología un mundo interesante y lleno de aplicaciones.

A mí amigo y maestro el técnico Benjamín Vieyra Rosas, quien siempre me acompañó al campo. Con su experiencia y conocimientos siempre tuvimos éxito en todas las colectas. También agradezco de todo corazón a las biólogas Ana Laura Riestra Segreste y Yolanda López Ramírez por apoyarme en las colectas en campo, sin ustedes el trabajo de campo no hubieran sido posibles. De la misma forma al biólogo José Ramírez López por haberme salvado de la corriente del río Bejucos y apoyarme en una salida.

A mis amigas y compañeras de laboratorio, la Ingeniera Laura Elizalde Ramírez e Hidrobióloga Ana Laura Espejel Piña, simplemente no tengo como pagarles por sus infinitos apoyos. Siempre me ayudaron y aconsejaron en todo momento, nunca me dejaron morir solo en los experimentos.

A la Dra. Patricia Ramírez Romero, M. en B. María del Rocío Zárate Hernández, M. en C. Carolina Müdespacher Ziehl y M. en C. María Antonia Galván Fernández, quienes me asesoraron y facilitaron equipo para desarrollar este proyecto.

A todos los integrantes del laboratorio de Ecotoxicología, por siempre echarme porras en los congresos. También por facilitarme mi integración a este grupo de trabajo.

De la misma manera a mis amigos y compañeros de la maestría en biología, Kimberly, Omar, Dafne, Aldanelly. Sin ustedes las clases no hubieran sido geniales y amenas. Siempre me sentí alagado por formar parte del grupo de la mafia, según nuestros profesores.

También a los pobladores de Bejucos, siempre nos externaron su apoyo y estuvieron al pendiente de nuestra seguridad, así como alojamiento.

Finalmente a todas y cada una de las personas que participaron en forma directa e indirectamente en la ejecución del proyecto de investigación. Les agradezco su paciencia, apoyo y asesoramiento.

## RESUMEN

La explosión demográfica, el desarrollo industrial y agrícola han incrementado la demanda del recurso hídrico, esto ha repercutido en la calidad del mismo. La modificación de las condiciones naturales afecta también a la fauna silvestre que depende de este recurso. El presente estudio se realizó en el poblado de Bejucos Municipio de Tejupilco, Estado de México, para determinar el grado de contaminación del río Bejucos y el posible efecto de los contaminantes sobre la ardilla *Spermophilus adocetus* (Mammalia: Sciuridae). Se realizaron dos colectas en épocas contrastantes del año. En el campo se midió la temperatura, pH, y oxígeno disuelto del agua, mientras que en el laboratorio se cuantificó los niveles de nutrientes (nitritos, nitratos, fósforo y amonio) y dióxido de carbono en el agua. El análisis de contaminantes incluyó: detergentes, la calidad sanitaria, presencia de los herbicidas Paraquat y 2,4-D; y el metal: cadmio. Se colectaron 30 ejemplares de *Spermophilus adocetus*, de los que se obtuvieron biopsias de: hígado, testículo y ovario para efectuar un análisis histológico por tinción de rutina hematoxilina-eosina. Los ejemplares colectados en la zona de mayor contaminación del río se encontraron inflamación aguda en hígado a diferencia de la zona control; así como espermátidas, espermatozoides y oocitos que no estuvieron presentes en los ejemplares de los demás sitios. Estas diferencias sugieren un desfase en el desarrollo reproductivo, posiblemente a consecuencia de la contaminación por herbicidas.

## ABSTRACT

Population explosion, industrial and agricultural development have increased the demand of water resources and has affected their quality. The modification of natural conditions also affects wildlife that depends on water resources. A study in the town of Bejucos, Tejupilco Municipality, State of Mexico, was conducted to determine the level of pollution in the River Bejucos and possible effects of contaminants on the squirrel *Spermophilusadocetus*. Two samplings were carried out in contrasting season of the year. Temperature, pH and dissolved oxygen were measure in situ. Nutrients (nitrite, nitrate, phosphorus and ammonia), and carbon dioxide in water were analyzed in the laboratory. Contaminants analysis included: detergents, Streptococci, Coliform, also the presence of herbicides such as paraquat and 2,4-D, and the metal: cadmium. 30 specimens of *Spermophilusadocetus* were collected and biopsies from liver, testis, and ovary were obtained for histological analyzes (hematoxylin-eosin staining). The specimens collected in the area of highest contamination of the river showed acute inflammation of the liver as opposed to the control zone, besides the presence of spermatids, sperm and oocytes that were not present in the specimens from the rest of the sampling localities, which did not show spermatogenesis. These results suggest a gap in the reproductive development, possibly as a result of herbicides pollution.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	II
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Marco teórico.....	8
1.2. Justificación.....	22
1.3. Pregunta biológica.....	24
<b>1.4. OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
1.4.1. Objetivo general.....	25
1.4.2. Objetivos específicos.....	25
1.5. Hipótesis.....	26
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
2.1. Área de estudio.....	28
2.2. Trabajo de campo.....	31
2.2.1. Colecta de muestras hidrológicas.....	32
2.2.2. Colecta de ejemplares de <i>Spermophilusadocetus</i> .....	35
2.3. Procesamiento de muestras en el laboratorio.....	37
2.3.1. Análisis de muestras hidrológicas.....	37
2.3.2. Análisis de órganos de <i>Spermophilusadocetus</i> .....	44
2.3.2.1. Plaguicidas.....	44
2.3.2.2. Metales.....	45



2.3.2.3. Histología.....	45
2.4. Estadística aplicada al análisis de datos.....	47
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
3.1. Identificación de las actividades antropogénicas en el río Bejucos y sus alrededores.....	49
3.2. Condiciones hidrológicas del río Bejucos.....	52
3.2.1. Comportamiento temporal de las variables.....	52
3.2.2. Comportamiento espacial de las variables.....	62
3.3. Histopatología.....	81
3.3.1. Gónada.....	82
3.3.2. Hígado.....	83
<b>4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>90</b>
4.1. Actividades antropogénicas en el río Bejucos.....	91
4.2. Condiciones hidrológicas del río Bejucos.....	94
4.3. Efectos biológicos del 2,4-D y Paraquat.....	105
4.4. Efectos biológicos del Cadmio.....	111
<b>5. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>114</b>
<b>6. REFERENCIAS.....</b>	<b>121</b>

## **1. INTRODUCCIÓN**

En las últimas décadas se ha incrementado la demanda del recurso hídrico, debido a la explosión demográfica, al desarrollo industrial y agrícola y esto ha repercutido en la calidad del mismo. La calidad del agua puede modificarse tanto por causas naturales, como por factores externos; entonces se habla de contaminación. Algunas de las formas más serias, pero frecuentemente menos obvias de contaminación, son las provenientes de fuentes “difusas”, que son aquellas en las que el contaminante no entra al agua desde un solo punto; estas se observan en áreas agrícolas y de pastoreo, asentamientos humanos, escurrimientos de aguas superficiales y la infiltración hacia el subsuelo (Schmitz, 1995).

Los contaminantes que logran llegar a los cuerpos de agua, incluyen tóxicos que pueden potencializar sus efectos e impacto en los ecosistemas en función de:

- Su origen.
- Su destino
- La magnitud y distribución de la mancha del contaminante.
- Las formas de acceso de los contaminantes al sitio, la cercanía de poblaciones a los cuerpos de agua.
- El tipo de vegetación, clima y topografía del sitio.
- Las características hidrogeológicas (Volke-Sepúlveda y Velazco, 2002; Abel, 1996).

Lo anterior implica que puedan presentarse interacciones entre los contaminantes, y una bioacumulación diferente que dependerá de cada especie y del tiempo de exposición a los tóxicos.

Además de los contaminantes, el ingreso de agua residual no tratada en ambientes acuáticos implica la incorporación excesiva de nutrientes, sobre todo fósforo, nitrógeno y materia orgánica proveniente de los desechos domésticos e industriales. Todo ello genera efectos tóxicos y modifica los procesos ecológicos, causando el agotamiento de oxígeno disuelto, alteraciones del pH, el arrastre y proliferación de bacterias coliformes y estreptococos, entre otros. En muchas ocasiones este tipo de agua suele acompañarse de metales tóxicos y plaguicidas que tienden a depositarse y acumularse en el sistema acuático y en los seres vivos, que emplean este recurso. Esta acumulación en los organismos puede llegar a los más altos niveles de la cadena alimenticia, debido a la bioacumulación que experimentan los depredadores. Esto puede ocasionar malformaciones, disminución del éxito reproductivo e incluso la muerte (Valdez & Vázquez, 2003).

La agricultura es la más frecuente responsable de una parte de la contaminación del aire, del agua y del subsuelo, eutrofización de los sistemas acuáticos, emanaciones de gases invernadero y es la fuente antropogénica más importante de amonio y la causa principal de la lluvia ácida. Los métodos agrícolas involucran el uso de diversos químicos como los plaguicidas, y la amplitud de su aplicación ha conducido a la pérdida extensiva y permanente de la biodiversidad en muchos lugares. Esto ha sido evidenciado en diferentes comunidades. Como por ejemplo en los invertebrados en

general (Benton *et al.*, 2002; Heaney *et al.*, 2001; Schulz y Liess, 1999); las mariposas en el Reino Unido (Longley *et al.*, 1997); y en vertebrados, comolas aves que viven en terrenos agrícolas en Europa (Donald *et al.*, 2001; Krebs *et al.*, 1999; Newton, 2004) y los anfibios en Australia y América del Norte. Además de la pérdida biológica se ha documentado la erosión y pérdida de la permeabilidad de los suelos, aumento de la vulnerabilidad a las plagas y enfermedades, todo lo cual conduce al desequilibrio y agotamiento de los agrosistemas (Campbell, 1999; Davidson *et al.*, 2002). Por lo anterior, se puede asumir que estos patrones se repiten en todo el mundo.

A partir del desarrollo de la industria de los plaguicidas químicos sintéticos en la década de los 40 del siglo pasado, el uso de estas sustancias aumentó de manera continua en las actividades agropecuarias, el control de vectores de importancia sanitaria, entre otros (Badii & Landeros, 2006). En 1995 se llegó a utilizar cerca de cinco millones de toneladas de estas sustancias a nivel global, posteriormente se ha observado una tendencia a la reducción del uso de estos compuestos en los países industrializados; sin embargo, su aplicación intensiva en los países en desarrollo continúa (Torres y Capote, 2004).

La aplicación de estas sustancias para controlar los organismos indeseables en los hábitat terrestres y acuáticos es mundial, de los cuales se ha calculado que se utilizan hasta 2.5 millones de kilogramos de ingredientes activos al año (Davidson *et al.*, 2001). Se supone que estos plaguicidas están diseñados para matar a un selecto grupo de organismos, sin embargo, el impacto de estas sustancias sobre otros organismos es

desconocido y difícil de predecir. Esta situación se debe a que durante el proceso de registro de plaguicidas se ponen a prueba muy pocas especies no objetivo, de manera que los efectos en ellos se desconocen (Cooney, 1995). Es probable que exista una gran cantidad de eventos de envenenamiento por plaguicidas en organismos no objetivo, que quedan sin registrar. El impacto de estas sustancias a estos organismos se debe a su transporte en el ambiente, ya que después de su aplicación terrestre o aérea, los plaguicidas son detectados en el suelo y el agua, a donde llegaron a través del escurrimiento, percolación o por corrientes de aire, y son absorbidos por varios constituyentes bióticos y abióticos del ecosistema. A medida que estas sustancias son transportadas pueden ser modificadas químicamente (de acuerdo a las condiciones de pH, salinidad del medio, fotooxidación) o biológicamente, por descomposición por microorganismos o animales superiores (Duffus, 1983).

El factor más importante que influye sobre la persistencia de un compuesto es la naturaleza química del mismo. Algunas propiedades importantes son: solubilidad en agua, volatilidad, estabilidad química y biológica. Los plaguicidas organoclorados, debido a su estructura, resisten la degradación química y bacteriana. Por lo tanto, cuando son liberados permanecen inalterados por largo tiempo en el ambiente (Anguiano, 2005). Se han observado cambios en las poblaciones de los organismos que están expuestos a un tóxico en parámetros tales como las tasas de desarrollo, fertilidad y fecundidad, modificaciones en la proporción de sexos y el comportamiento;

este último implica afectación en la alimentación, el forrajeo y la reproducción (Stark y Banks, 2003).

Entre los tóxicos que afectan de manera importante a los organismos se encuentran también algunos metales como el cadmio, el mercurio, plomo. Si bien la presencia de estos metales en el ambiente ocurre de forma natural como producto de la actividad volcánica, han incrementado su presencia debido a la actividad industrial. En México una de las principales actividades que aporta estos contaminantes es la minería. Actualmente nuestro país ocupa el tercer lugar a nivel mundial en la producción de plata, el quinto en plomo y el sexto en molibdeno y zinc. La obtención de los metales se realiza a partir de minerales o de sus concentrados, para lo cual se aplican procesos pirometalúrgicos en los que se aplica calor, tales como la calcinación, la tostación, la fusión, la volatilización y la metalotermia; así como procesos hidrometalúrgicos en los cuales se utilizan soluciones acuosas y orgánicas como la lixiviación, la concentración y la precipitación (INEGI, 2005; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005). El empleo de estos procesos durante varios siglos de actividad minera en nuestro país, ha generado una gran cantidad de residuos que se descargan en los ríos, o en su defecto, se depositan en grandes pilas en el suelo y a cielo abierto. Esto genera contaminación de cuerpos de agua superficiales y mantos acuíferos.

Entre los elementos más frecuentes en los residuos mineros están el Pb, Cd, Hg, As, y Se. Estos metales tienen diferente grado de toxicidad para los organismos y pueden producir graves daños a los ecosistemas (Rodríguez *et al.*, 2009), incluyendo

organismos silvestres (roedores) y al ser humano. El cadmio (Cd) por ejemplo, es un elemento no esencial que afecta diferentes rutas metabólicas y se acumula fácilmente provocando cáncer, daños en el hígado, destrucción en la membrana mucosa pulmonar y gastrointestinal, degeneración ósea, además de afectar la producción de progesterona y testosterona. Se ha estimado que 300,000 toneladas de cadmio son liberadas al ambiente cada año, de las cuales entre 4,000 y 13,000 son derivadas de diversas actividades industriales, así como durante la aplicación de fertilizantes y agua residual en sembradíos. El caso de intoxicación más conocido por cadmio fue el de la localidad japonesa de Toyama entre 1940 y 1960, el Cd proveniente de la actividad minera, contaminó el agua de riego de cultivos de arroz, provocando en los lugareños el síndrome de Itaí-Itaí. Este padecimiento afecta fundamentalmente a mujeres posmenopáusicas que habían transitado por etapas de carencia de calcio durante sucesivos embarazos y lactancias, de este modo ellas se convirtieron en la población más susceptible, ya que este metal tiene gran similitud fisicoquímica con el calcio, por lo que interviene en mecanismos fisiológicos que lo involucran, de manera que compite por substratos el calcio, y lo desplaza (Lesmana *et al.*, 2009; Pérez-Coll, 2008).

Debido al riesgo asociado a estos contaminantes, es necesario evaluar su presencia en el ambiente, así como sus efectos. Esto es importante en zonas rurales, donde el uso de plaguicidas en cultivos es común, así como en áreas donde los residuos mineros son depositados o emitidos. La evaluación de niveles de estos metales en el ambiente y sus posibles efectos en los organismos que habitan estos lugares



permitirá establecer el riesgo para su desarrollo y supervivencia. Actualmente se utilizan organismos llamados biomonitores para evaluar los impactos que tienen los contaminantes hacia el ambiente de un determinado lugar. El uso de estos organismos es imprescindible para efectuar estudios ecotoxicológicos en el presente y futuro en los ecosistemas, debido a la alta sensibilidad de estos organismos, el ingreso de los tóxicos a un sitio tiende a reflejarse en sus estructuras y fisiología. Esto puede proporcionar información a los investigadores sobre lo que está sucediendo en el lugar.

### **1.1. MARCO TEÓRICO**

El agua residual puede definirse como la que proviene del sistema de abastecimiento de agua de una población, después de haber sido modificada por diversos usos en actividades domésticas, industriales y comunitarias. Según su origen, este tipo de agua resulta de la combinación de líquidos y residuos sólidos que provienen de residencias, oficinas, edificios comerciales e instituciones, que se unen a los residuos de las industrias y las actividades agrícolas, así como a las aguas subterráneas, superficiales o de precipitación que se agregan eventualmente. En este tipo de agua se encuentra una gran variedad de materiales orgánicos e inorgánicos, suspendidos o disueltos. La mayor parte de los materiales orgánicos son residuos alimenticios, heces, material vegetal, sales minerales, plaguicidas domésticos, aceites, ácidos orgánicos, jabones y detergentes sintéticos. En cuanto a los materiales inorgánicos podemos encontrar cloroformo, alcoholes, pinturas, bencenos, metales tóxicos, y sulfatos. La

mezcla de estos materiales hace que el agua residual altere la calidad del agua de un cuerpo receptor, lo que inhabilita este recurso para su consumo humano, uso recreativo o agrícola, e incluso para sostener la vida acuática o terrestre. Usualmente y en condiciones ideales, el agua residual suele ser tratada para volverla a reutilizar en otra actividad humana. Sin embargo, debido a que no existen plantas de tratamiento en todos los aportes, las descargas de agua residual son directas a los ríos u otros cuerpos de agua, ya que no requiere de infraestructura costosa y su manejo es sencillo. Entre las sustancias que llevan las aguas residuales y que con frecuencia ocasionan alteraciones negativas en el ambiente, están los plaguicidas organoclorados y organofosforados, además de los metales tóxicos (Westing, 1971).

### **Plaguicidas**

El hombre siempre ha luchado contra los organismos que afectan sus intereses de alguna forma, ya sea por interferir en la producción de alimentos, como por diseminar enfermedades, o sencillamente, porque su presencia es una molestia para los humanos. A las sustancias que se utilizan para controlar a las especies indeseables se les llama en conjunto plaguicidas. La diferencia entre los métodos de control que se usaron en el pasado y los actuales, es la sustitución del uso de sustancias naturales, como el azufre y extractos vegetales (útiles para repeler los ataques de insectos, ácaros y otros organismos), por el empleo de compuestos orgánicos complejos, como los nitrofenoles, clorofenoles, creosota, naftaleno y aceites derivados del petróleo (Aspelin, 2003; Taylor *et al.*, 2006; Ware, 2004). Los plaguicidas de mayor impacto

en las poblaciones de organismos silvestres son los denominados orgánicos persistentes, que suelen ser compuestos halogenados, y en su mayoría clorados. Los enlaces carbono-cloro son muy estables frente a la hidrólisis y a mayor número de estos enlaces, es mayor la resistencia a la degradación por acción fotolítica o biológica. Estos compuestos se han utilizado ampliamente en la industria química para la obtención de diversos productos como: cloruro de polivinilo, disolventes y diversas especies químicas y farmacéuticas (Yarto *et al.*, 2010; Ritter *et al.*, 1995). Dos plaguicidas de uso común en México son el paraquat y el 2,4-D, ambos están prohibidos por las organizaciones gubernamentales en países del primer mundo, pero en México se aplican cotidianamente y de manera clandestina (Maier-Bode, 1972; Waldermar, 2009).

### **Paraquat**

Este es compuesto organofosforado que pertenece al grupo biperidilo y fue sintetizado en 1882, pero sus propiedades para el control de plagas fueron descubiertas hasta 1959, y en la siguiente década se extendió su uso como herbicida de amplio espectro (Hernández y Martínez, 2000). Su composición química es Dicloruro de 1,1-Dimetil-4,4 biperidilo. Es un reactivo que promueve la generación de radicales libres tales como el anión superóxido y el hidroxilo, altamente reactivo con casi cualquier clase de molécula orgánica. Estos radicales, junto con el peróxido de hidrógeno son formas incompletamente reducidas del oxígeno, que se conocen como especies de oxígeno reactivas (ROS por sus siglas en inglés). Las ROS oxidan una gran variedad de

biomoléculas, inactivan enzimas, oxidan a los ácidos grasos insaturados de las membranas, y causan mella en los ácidos nucleicos con el riesgo de provocar mutaciones. En altas concentraciones, las ROS inician la degradación de las proteínas, alteran fuertemente la permeabilidad de las membranas celulares e inducen la muerte celular programada o aguda, por lo cual el Paraquat se considera un herbicida de alta toxicidad (Calderón y Serpa, 2003; Dietz *et al.*, 1998).

## **2,4-D**

Este es un plaguicida que pertenece al grupo de los organoclorados. La entrada del 2,4-D al mercado, fue posterior a la Segunda Guerra Mundial, y es considerado por diversos autores como el inicio de la “historia moderna de los herbicidas”. Es decir, del uso de sustancias químicas sintetizadas en el laboratorio y que son producidas industrialmente para ser usadas en el control de las llamadas “malezas” o plantas indeseables (Renu y Snedeker, 2005). El ácido 2,4-diclorofenoxiacético, conocido por su nombre común como 2,4-D se clasifica dentro del grupo de los herbicidas fenoxi o fenoxiacéticos o clorofenólicos. Por su modo de acción, se le incluye dentro de los “herbicidas hormonales”, porque actúa de modo parecido a la hormona natural auxina, o ácido indol-3-acético. Las plantas producen estas hormonas de manera natural y en cantidades muy pequeñas, ya que su concentración es regulada por la propia planta.

Las auxinas son sustancias que regulan el crecimiento y desarrollo vegetal, pero en su forma sintética y a una concentración mucho mayor que la que produce la planta puede provocar la muerte ya que no existe un mecanismo de control interno. El

2,4-D es un herbicida sistémico debido a que se absorbe por las hojas o la raíz y se transporta por la savia a todo el cuerpo alcanzando los tejidos internos y partes no rociadas. Por su similitud química con la auxina, éste herbicida se acumula en las regiones de crecimiento donde incrementa el tejido de la hoja de manera desmedida e induce malformaciones que matan a la planta. Es considerado uno de los primeros herbicidas “*selectivos*” pues mata más a las plantas de hoja ancha y causa poco daño a las de hoja angosta. El 2,4-D sigue siendo uno de los herbicidas de mayor venta en el mundo, es recomendado en la agricultura, las plantaciones forestales, e incluso para el cuidado de céspedes y jardines domésticos (Anón, 2005; Bejarano, 2007).

## **Metales**

La corteza terrestre está conformada por aproximadamente 75% de metales, y algunos como el hierro y el cobre, han sido utilizados por los seres humanos durante miles de años, otros como el oro y la plata son bien conocidos por su valor económico, otros se usan en diversas actividades, lo que ha incrementado su presencia en algunas partes del mundo donde estos eran escasos (Jarup, 2003). Los efectos de los metales en los organismos deben ser considerados en un contexto de influencias físicas y químicas que afectan su transporte y su destino, tanto en el ambiente como en los individuos, por lo que especies, poblaciones y comunidades pueden tener diferente vulnerabilidad (Peakall y Burger, 2003; Fairbrother *et al.*, 2007). Es sabido que algunos metales son esenciales para los seres vivos, como hierro, cobre, zinc, entre otros. Ya que el exceso o una baja concentración de ellos, pueden atraer

problemas de salud. En cambio de otros como el cadmio, no cumplen una función fisiológica conocida en los seres vivos, pero su presencia dentro de los organismos puede resultar tóxica en dosis muy bajas. Ya que éstos pueden desplazar o sustituir a los metales esenciales e interferir en el buen funcionamiento de las enzimas y cofactores asociados (Fan, 1996; Hoffman *et al.*, 2001; Repetto, 1995; Shibamoto y Bjeldanes, 1993).

La forma del metal (especie química, tamaño de las partículas) y las condiciones ambientales (pH, presencia de materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico) determinan en diferentes grados la toxicidad del metal ya que afectan la biodisponibilidad, el destino y los efectos, lo que determina que éste pueda causar al ambiente. Otros factores que pueden afectar la biodisponibilidad de los metales son las funciones dentro los organismos receptores. Existen atributos de los individuos, grupos de individuos o especies que influyen en el grado de exposición a los metales, la absorción de los mismos y la biocinética al interior del organismo, lo que confiere diferente susceptibilidad y por tanto toxicidad. Influyen también: la edad, el sexo, el tamaño y el peso de los organismos, su estado nutricional, sus características genéticas como la presencia de polimorfismos, y algunos comportamientos (López *et al.*, 2002; Burger *et al.*, 2003; Fairbrother *et al.*, 2007). Si bien cada metal puede tener sus propios mecanismos de acción, la generación de ROS y los efectos resultantes en la señalización celular parecen ser el resultado de un mecanismo común (Evans y Halliwell, 2001). En presencia de ciertos iones de metales de transición, el radical

anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), puede ser dismutado para formar peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo ( $OH \cdot$ ). Esto puede llevarse a cabo por una reacción tipo Fenton. También las reacciones de Haber-Weiss inducen la generación de radicales. En éstas, un ion de metal oxidado se reduce en un radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y luego reacciona con el  $H_2O_2$  para generar el radical  $OH \cdot$  (Leonard *et al.*, 2004; Stohs y Bagchi, 1995). Además de los mecanismos Fenton y Haber-Weiss, ciertos iones metálicos pueden reaccionar directamente con las moléculas celulares o generar radicales libres y modificar las vías de señalización celular. Las ROS pueden jugar un doble papel, ya que pueden ser perjudiciales o beneficiosas para los organismos vivos. Los efectos benéficos se producen en concentraciones bajas, concentraciones moderadas de ROS implican efectos no benéficos a nivel celular en condiciones de anoxia (Valko *et al.*, 2007). En estos casos se generan reacciones en cadena (cascada). De esta manera, las ROS de los metales pueden dañar los lípidos celulares y por lo tanto la membrana, la estructura y función de las proteínas y el ADN creando aductos, o pueden interferir en la división celular, fenómeno que puede contribuir a la carcinogénesis.

Entre los metales de mayor importancia se encuentra el cadmio, que se genera como residuo de las actividades mineras y es muy tóxico.

## **Cadmio (Cd)**

Su nombre deriva de la calamina (cadmia, carbonato de zinc), se consideraba una impureza del Zinc. El cadmio se ha utilizado para la creación de baterías, catalizadores, recubrimientos, como intermediario en procesos químicos, en barras de control de los reactores nucleares. Este metal tiene una carga +2 por lo que es un elemento muy reactivo y tiende a sustituir al calcio y al hierro en los organismos, así como a otros metales de valencia similar. La solubilidad de las sales e hidróxidos de cadmio permite que su movilidad ambiental sea alta. Cuando el pH aumenta (medios alcalinos), el suelo o el sedimento lo absorben y retienen, ya que se forma sulfuro de cadmio, que es insoluble y tiende a precipitarse. Por el contrario si el medio se torna ácido, aumenta su solubilidad en agua y tiende a lixiviarse a través del suelo. Las principales vías de entrada de este metal son la ingestión, la inhalación y por la piel. La inhalación es la forma más eficiente para absorberlo y bioacumularlo. Ante un déficit de calcio o hierro la absorción del ion por síntesis de proteínas ligantes del calcio, favorece la adquisición por sustitución del calcio (Moreno, 2003). La intoxicación aguda por vía digestiva deriva en un cuadro gastrointestinal que incluye náuseas, vómito, diarrea y dolor abdominal. Este metal puede producir alteraciones testiculares y ováricas. La intoxicación crónica puede tardar muchos años en desarrollar una enfermedad. Entre los síntomas más característicos de la intoxicación por vía oral se observa la anorexia, la anemia y el desarrollo de nefropatía cádmica con daño tubular renal proximal, proteinuria de origen tubular, aminoaciduria, glucosuria, hiperglucemia y osteoporosis (Mencías, 2000).



## BIOMONITOR

La determinación de los niveles de contaminantes es primordial en el análisis ambiental, sobre todo en el caso de aquellos que están regulados por una legislación tendiente a la protección de los ecosistemas. Sin embargo, es esencial conocer los efectos de los contaminantes en los organismos propios del sistema, ya que estos pueden actuar de biomonitores. Según Capó (2002), los biomonitores son organismos vivos que por sus características ecológicas presentan una elevada sensibilidad a los cambios ambientales y reaccionan ante ellos como si fueran estímulos específicos. La acumulación de contaminantes traza se manifiesta en este tipo de organismos mucho antes que en muestras abióticas (Spanh y Sherry, 1999). Una especie que sea elegida como biomonitor debe permitir extender la interpretación de los resultados ecotoxicológicos obtenidos a partir de ella, al mayor número de especies posibles, e incluso al conjunto del ecosistema. De acuerdo con Tataruch y Kierdorf (2003), cualquier especie que sea empleada como biomonitor debe poseer las siguientes características:

- **Representatividad espacial:** las especies han de habitar una extensión geográfica lo suficientemente amplia, para que puedan realizarse comparaciones a gran escala.
- **Disponibilidad:** accesibilidad para la recolección de especímenes e idoneidad experimental. Tanto el tamaño, como el número de individuos, deben ser suficientemente grandes para poder llevar a cabo la toma de muestras para el

análisis en el laboratorio. Además debe ser posible manipular las especies con facilidad para corroborar en el laboratorio las conclusiones que se hayan tomado sobre el terreno.

- **Representatividad ecológica:** debe existir una correlatividad entre el contenido de contaminante en el animal y la concentración efectiva de este agente en la cadena trófica y, por tanto, en el ecosistema.
- **Sensibilidad:** la población debe ser tolerante a los contaminantes estudiados y, al mismo tiempo, sensible a los mismos. La especie debe acumular el contaminante sin fallecer ni ver alterada su reproducción (en el caso contrario, su papel como bioindicador se verá seriamente comprometido).
- **Longevidad de la especie:** las especies longevas permiten evidenciar fenómenos de toxicidad a largo plazo.
- **Reproducibilidad de la toma de individuos:** los procedimientos de colecta de los individuos deben ser estandarizados para que sea posible la comparación con estudios que utilizarán las mismas especies pero en diferentes áreas.
- **Semejanza a los humanos:** dado el papel que van a realizar los bioindicadores como centinelas de los riesgos para la salud humana, es necesario que compartan cierto grado de semejanza fisiológica con nuestra especie.

## **Los mamíferos como biomonitores**

Al igual que el resto de los seres vivos, los mamíferos asimilan contaminantes a lo largo del tiempo, pero a diferencia de otros grupos de animales, estos resultan especialmente útiles como biomonitores, por poseer las siguientes características específicas (Tataruch y Kierdorf, 2003):

- De ellos se conocen más parámetros fisiológicos y más preferencias alimenticias que de otros seres vivos.
- Las técnicas para la determinación de la edad son fidedignas.
- El tamaño de sus cuerpos es mayor que el de otras especies, proporcionando suficiente muestra para los análisis químicos.
- En muchos casos, son animales sometidos a la caza, por lo que no es necesario sacrificarlos intencionadamente para los estudios ecotoxicológicos.
- Acumulan metales traza, un hecho que no siempre es evidente en plantas.
- Debido a sus ciclos vitales largos, los efectos de una determinada exposición pueden ser estudiados durante más tiempo.
- También los humanos son mamíferos, por lo que los resultados obtenidos son útiles para evaluar y predecir riesgos a la salud humana.

Sin embargo, es necesario señalar que además de estas características, los mamíferos también presentan una serie de inconvenientes:

- Los niveles de contaminantes en los tejidos dependen de factores endógenos, como la edad y el sexo.

- Cuanto mayor es el número de muestras, mayor es el costo de la monitorización.
- En la gran mayoría de los casos el muestreo implica la muerte del animal, así que sólo es posible un muestreo por cada animal obtenido.
- Los mamíferos reaccionan mucho más lentamente a los contaminantes ácidos que las plantas.

A pesar de estas desventajas podemos considerar que los mamíferos son en general uno de los grupos biológicos candidatos como biomonitores, ya que reflejan fielmente la contaminación presente en su hábitat, tanto la incorporada desde el alimento, como la obtenida desde el suelo, el agua o el aire.

La mayor ventaja que presentan los mamíferos es su potencial de acumulación de residuos (Verschueren, 1983). Acumulan gran cantidad de sustancias químicas, debido a que están situados cerca de la cumbre de la cadena trófica, mostrando así los efectos tóxicos de diferentes sustancias en variedad de ecosistemas. Así, las especies herbívoras acumulan metales, flúor y radionucléidos en mayor concentración que los carnívoros, así mismo monitorizan mejor los compuestos organohalogenadoslipofílicos (Tataruch y Kierdorf, 2003). De hecho, los mamíferos silvestres son conocidos por ser estupendos indicadores de la contaminación por metales pesados (Chyla, 1998; Chyla *et al.*, 2000). Muchos mamíferos presentan un tamaño y un peso relativamente constante a lo largo de toda su vida, independientemente de la estación del año, lo que refleja la acumulación de los contaminantes estudiados de forma más homogénea. El tamaño puede ser un

inconveniente y a la vez que una ventaja, pues mientras los muestreos resultan costosos desde el punto de vista económico y por la inversión del trabajo, y se requiere la toma personal de las muestras, al igual que el transporte de las mismas y su almacenamiento, sobre todo, cuando se trata de órganos internos (Tataruch y Kierdorf, 2003); en contraste, estos animales suelen tener una vida relativamente larga, lo que les permite asimilar los efectos del estrés ambiental a lo largo de periodos de tiempo prolongados (Furness, 1993).

**Organismo de estudio: *Spermophilus adocetus* (Merriam, 1903).**

La especie seleccionada como biomonitor en el presente estudio es una ardilla cuyas medidas morfométricas son longitud total= 383 a 470 mm, cola= 145 a 163 mm, pata= 41 a 50 mm, oreja= 14 a 20 mm y peso= 163 a 250 gramos. Presenta un rostro corto y ancho, la cola no presenta anillos. El color del pelo es relativamente uniforme, en la parte dorsal es canela morena con negro entremezclado y en la cola tiene mayor proporción de negro, la cabeza tiene una coloración más oscura. La parte ventral es amarillento pálido extendiéndose hacia la parte interior de las patas que llegan a ser amarillo rojizo. Se distinguen líneas blanquecinas arriba y abajo del ojo (Álvarez y Ramírez-Pulido, 1968; Ceballos & Gisselle, 2005; Howell, 1938; Merriam, 1903).

La especie es endémica de México y se distribuye en Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México y Michoacán, donde ocupa el hábitat tropical. Habita en la selva baja caducifolia, el matorral xerófilo y se registra en áreas de cultivo. Se le encuentra desde 200 a 1,200 msnm (Best, 1995; Hoffman, 1993). Es una ardilla terrestre diurna, que ocasionalmente trepa hasta varios metros en árboles y arbustos en busca de

alimento. Forma grupos de 2 a 4 individuos (Villa, 1942), habita frecuentemente en oquedades, bajo piedras o arbustos, a lo largo de los cañones, bordes de arroyos, terrenos con cultivos de frutas o maíz adyacentes a áreas con selva baja caducifolia (Ceballos y Miranda, 1986 y 2000; Genoways y Jones, 1973; Villa, 1943). Es una especie activa todo el año y diurna, con mayor actividad entre las 9 y 11 de la mañana. Se alimenta de frutos, semillas y brotes de plantas como el cuastecomate (*Crescentialata*), la cucharilla (*Acacia cochlyacanta*), el huizache (*Acacia farnesiana*), el mezquite (*Prosopisjugiflora*) y el guamúchil (*Pithecelobium* sp.). Puede causar daños a los cultivos ya que se alimenta de semillas de maíz, frijol y sorgo, por lo que en algunas regiones es considerada como una plaga (Villa, 1943). Se desconoce su periodo de reproducción. Se sabe que las hembras frecuentemente son más agresivas y territoriales que los machos (Mclean, 1982).

Es simpátrica con otros roedores típicos de las selvas bajas como *Marmosa canescens*, *Liomyspictus*, *Orthogeomysgrandis*, *Osgoodomysbanderanus*, *Hodomysalleni* (Genoways y Jones, 1973). Se sabe que el género *Spermophilus* evolucionó durante el Mioceno medio y es común en las faunas del Blanquensen (Plioceno tardío), pero se desconocen fósiles de *S. adocetus* (Best, 1995).

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

Muchas poblaciones humanas que se encuentran en el interior de la República Mexicana mantienen una estrecha vinculación con los recursos naturales que se encuentran a su alrededor, debido a que de ellos obtienen bienes y servicios. La población de Bejucos, Tejupilco, Estado de México, no es la excepción. El río funciona como una fuente económica debido a que, gracias a éste, se realizan actividades tales como: recreación, campamento y pesca, lo cual permite a los lugareños proveer a los visitantes de servicios de alimento y alojamiento; el río también es utilizado por los pobladores para el aseo personal y de vestimenta, aseo y consumo de agua para el ganado, aseo de carros que logran ingresar a la parte baja del río, y se utiliza como el medio para desechar el agua residual y la basura producidos por algunos hogares, a pesar de que ya cuentan con drenaje. Son evidentes: el aporte de detergentes, la contaminación ganadera y la presencia de desechos sólidos en las partes bajas del río. Todas estas actividades y residuos que se vierten al río deben alterar en cierto grado la calidad del agua del mismo.

Alrededor del poblado se realizan prácticas agrícolas que involucran el uso de dos herbicidas de mayor venta en los países en desarrollo, el Paraquat (nombre comercial Gramoxone) y el 2,4D (Hierbamina), ambos son extremadamente tóxicos por su composición química. En el Gramoxone el principal ingrediente activo es el Paraquat (Dicloruro de 1,1-dimetil, 4, 4-bipiridilo), mientras que el Hierbamina contiene

principalmente 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). Es común que durante la aplicación de éstos, los lugareños los combinen. Todos los desperdicios del poblado, junto con los botes contenedores de los herbicidas sean depositados en un basurero al aire libre que se encuentra cerca de la población de Bejucos, en la parte baja de la pendiente y a un costado del río.

Además, se encuentra la mina “La Guitarra” que explota oro y plata, ubicada en el poblado vecino de Temascaltepec. Debido a que es práctica común de la industria minera verter los desperdicios a los ríos, el río Bejucos que pasa junto a Temascaltepec, no es la excepción. Por lo tanto, existe la posibilidad de que existan niveles de metales tóxicos asociados a descargas mineras. Si estos desperdicios se aportan al río, su arrastre podría llevarlos hasta el poblado de Bejucos que se encuentra río abajo.

Debido a que los herbicidas y metales pesados son contaminantes acumulables y suelen generar daño a nivel de hígado y gónada y a que las ardillas (*S. adocetus*) que habitan en las zonas cercanas al poblado de Bejucos, se encuentran en contacto con el río (o dependen de éste), suponemos que los contaminantes presentes en el río pueden afectar a este mamífero silvestre. Asimismo, las actividades descritas pueden representar un riesgo a la población humana y al ecosistema del río y a las comunidades que dependen de él, por lo que esta investigación se planteó la siguiente pregunta biológica.



### 1.3 PREGUNTA BIOLÓGICA

¿Cuál será la influencia de las actividades antropogénicas sobre el río Bejucos y a su vez; esta alteración afectará a las ardillas (*Spermophilus adocetus*) que dependen del río?

## **1.4. OBJETIVOS.**

### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL.**

Determinar el grado de contaminación e influencia del río Bejucos sobre *Spermophilusadocetus* en el poblado de Bejucos.

### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

1. Identificar las principales actividades antropogénicas que se realizan dentro, alrededor y a lo largo del río Bejucos en la zona del poblado de Bejucos.
2. Caracterizar las condiciones hidrológicas del río Bejucos a la altura del poblado de Bejucos.
3. Identificar los agentes contaminantes presentes en las muestras hidrológicas.
4. Analizar a nivel anatómico e histológico si existe bioacumulación de algunos contaminantes o alteración en la organización tisular asociable a la bioacumulación en hígado y gónadas de algunos ejemplares de *Spermophilusadocetus* capturados en el sitio.

## 1.5 HIPÓTESIS

Si existe la presencia de contaminantes en el río Bejucos, esto se reflejará en bioacumulación o alteración en la organización tisular a nivel de hígado y gónadas de ejemplares de *Spermophilus adocetus* obtenidos en la zona de Bejucos.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

## 2.1. ÁREA DE ESTUDIO

El poblado de Bejucos está situado en el Municipio de Tejupilco, Estado de México (Fig. 1); a 580 msnm y entre las coordenadas N 18°46' 33.64" yW 100° 25'38.88" (Zepeda, 1999).

La vegetación de los alrededores de Bejucos, corresponde a una Selva Baja Caducifolia, la cual está notablemente perturbada por la actividad agrícola y sólo se conservan algunos manchones discontinuos de la vegetación primaria (Dirzo, 1974).

El clima dominante en la zona corresponde al tipo cálido subhúmedo con lluvias en verano, de poca oscilación térmica, con temperatura media anual de 25°C; el promedio de temperatura del mes más caliente es de 30°C y el del más frío de 18°C. Con isoterma media anual de 26°C. La precipitación media anual es de 1,100 mm, marcándose dos estaciones: una temporada de secas, de noviembre a mayo, y una de lluvias, de junio a octubre (SPP, 1981; García, 1983; Olivera, 1988). La geología del lugar está compuesta por rocas ígneas, que consisten de dacitas intercaladas con ríolitas y tobas. El material sedimentario que se encuentra en la superficie pertenece a la Formación del Balsas y está formado principalmente de areniscas, conglomerados de rocas clásticas de caliza (Zepeda, 1999).

Los tipos de suelo más comunes son las asociaciones acrisolórtico-regosoléutrico y feozemháplico y litosol. Sin embargo, también se encuentran feozemlúvico y la asociación litosol y regosoléutrico, todos de textura media (Detenal, 1978) y roca volcánica (Detenal, 1977; Campa y Ramírez, 1979).

Hidrológicamente, el área de trabajo está ubicada en la región de la cuenca del río Las Balsas. El río Tejupilco, llamado así por que cruza todo el valle de Tejupilco, toma el nombre de Bejucos cuando llega al Estado de México. Es el río más importante de la zona porque conserva su caudal todo el año. Este nace en las colinas de los cerros de Cacalotepec y La Cumbre, ambos dentro del mismo municipio y lo llaman el río de San Simón. Su dirección es hacia el sur y cruza “El cañón de Santa Rosa”, donde se forma la cascada denominada “El Salto (SSP, 1981; Zepeda, 1999).

La cascada “El Salto” es la más importante de la zona por su carácter permanente, aunque su caudal baja considerablemente durante la época seca, sigue fluyendo en dirección al sur, y forma el río San Felipe o Bejucos el cual cruza el poblado del mismo nombre.

Además de “El Salto” se presentan arroyos de corriente intermitente, como los Tinocos, los Salitrillos, los Muñecos y Cacahuananche, en donde la mayoría de las corrientes en la temporada de lluvias son caudalosas, llegándose a formar pequeñas pozas, las cuales sin embargo permanecen secas buena parte del año. (SSP, 1981; García, 1983; Detenal, 1985.)

El río Bejucos desemboca en el Cutzamala, afluente del Balsas y sirve de límite entre los municipios de Tejupilco y Amatepec, ambos del Estado de México.

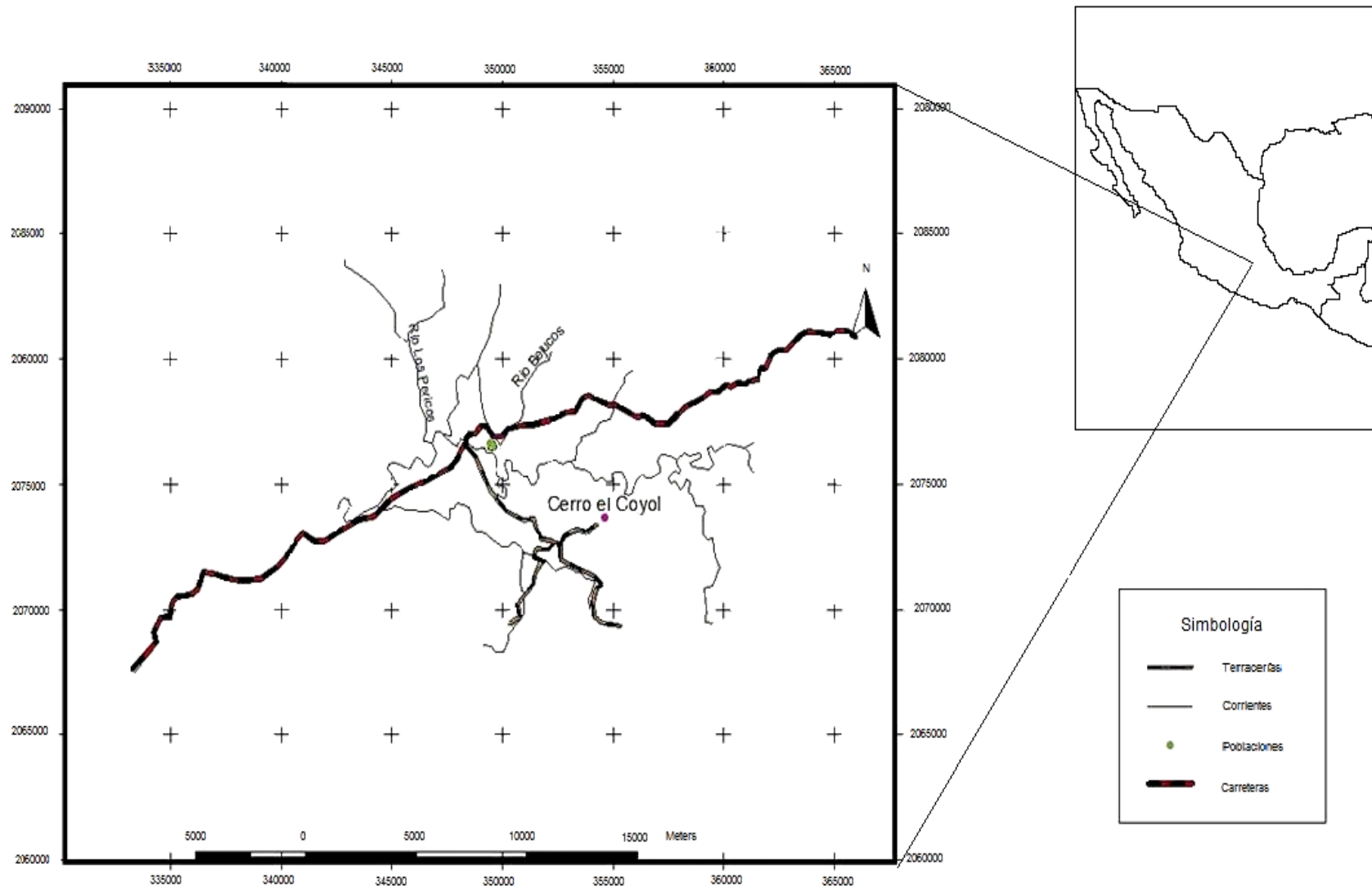


Fig. 1. Ubicación del poblado de bejucos en Estado de México.

## 2.2. Trabajo de Campo.

Se llevaron a cabo cuatro viajes al campo con duración de 3 ó 4 días cada uno, en el periodo comprendido entre octubre del 2010 y septiembre del 2011. El primer viaje fue prospectivo y se efectuó del 30 de octubre al 1 de noviembre del 2010; los objetivos de este viaje fueron: 1) identificar los puntos de mayor contaminación visual y las actividades antropogénicas presentes alrededor y dentro del río Bejucos, 2) investigar los tipos de productos químicos (plaguicidas) empleados en los cultivos que se encuentran en las orillas del río, 3) averiguar si existían actividades de tipo minero que representaran una fuente de metales contaminantes del río, y 4) tomar muestras de ejemplares de *Spermophilus adocetus* para análisis histológico. Todos los datos fueron anotados en una bitácora de campo para su posterior manejo.

El segundo viaje se llevó a cabo durante el periodo de secas del 1 al 4 de abril del 2011; el tercero se efectuó durante el inicio de la época de lluvia del 21 al 24 Julio de 2011 y finalmente el cuarto se realizó a finales de la época de lluvia del 22 al 25 de septiembre de 2011. En éstos la finalidad fue obtener muestras hidrológicas y ejemplares de *S. adocetus*.

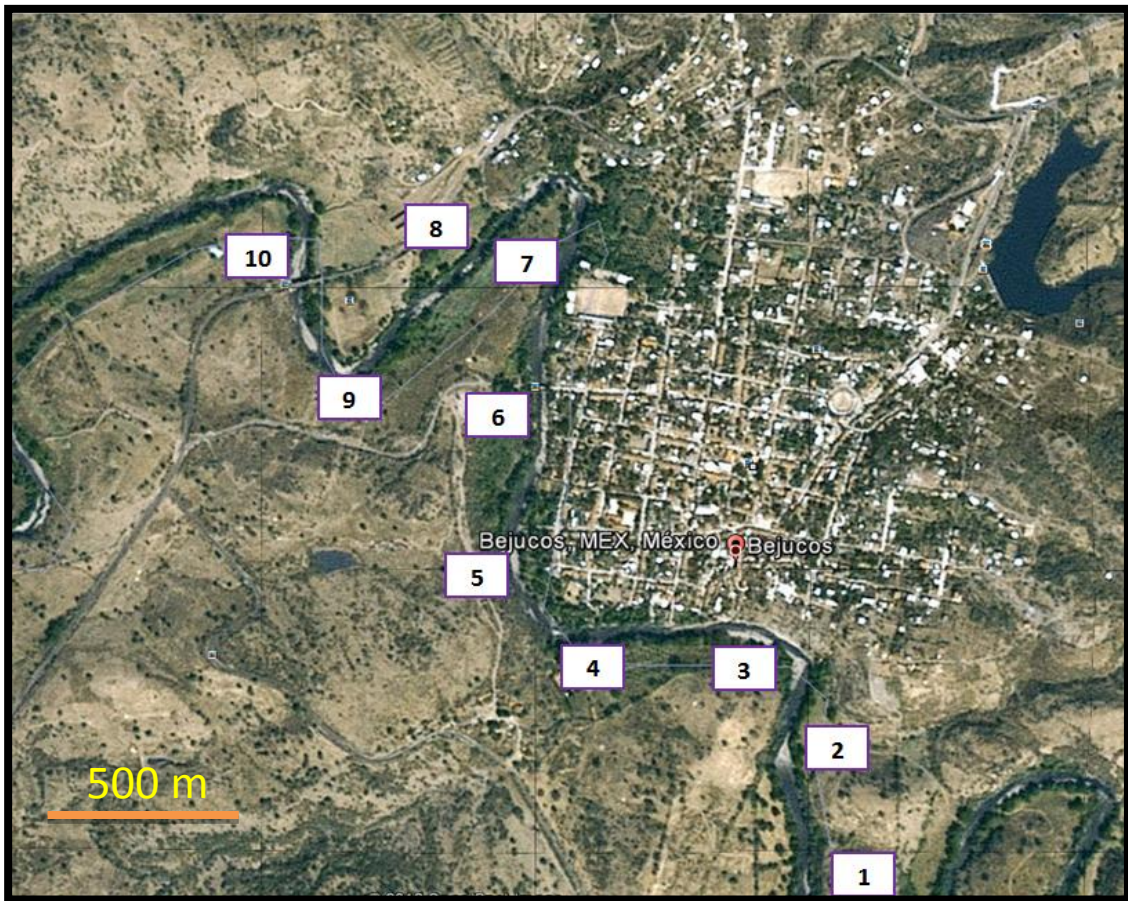
Los sitios de colecta para las muestras de agua fueron establecidos en función de las actividades antropogénicas y las descargas de aguas provenientes del poblado Bejucos al río. Mientras que los sitios de colecta de los ejemplares de *S. adocetus* se ubicaron en función de la proximidad de las actividades



antropogénicas(cultivos, basureros, desagües domiciliarios, potreros, lavado de autos y posible actividad minera de tiempo atrás) y cercanas a la orilla del río.

### 2.2.1. Colecta de muestras hidrológicas

Se obtuvieron muestras de 10 sitios a lo largo del río Bejucos para cubrir una distancia de 5 kilómetros, la separación entre cada punto fue aproximadamente de 500 metros (Fig. 2).



**Fig. 2.** Sitios de colecta hidrológica en el río Bejucos, Estado de México.

Los recipientes utilizados para la colecta fueron lavados de acuerdo con los protocolos indicados en APHA (1992). Se hizo un lavado con Extrán libre de fosfatos, enjuague en agua corriente, posteriormente en agua destilada.

Para la toma de muestras hidrológicas (CO<sub>2</sub>, dureza, nitratos, nitritos, amonio, fosforo, DBO<sub>5</sub>, y detergentes) se utilizaron 10 botellas esterilizadas de un litro y 10 botellas de 100 mL que fueron también esterilizadas previamente. Las muestras fueron tomadas a nivel superficial y se almacenaron en una hielera con hielo, para posteriormente almacenarse en refrigeración hasta su análisis.

Se determinaron *in situ* los siguientes parámetros del agua: Temperatura y pH con un potenciómetro de campo de la marca Hanna modelo HI981. El oxígeno disuelto con la ayuda de un oxímetro marca YSI54A.

Las muestras para las pruebas bacteriológicas, se tomaron con frascos de 125 mL previamente lavados con Extrán y esterilizados. Se colectó agua superficial solo en 5 puntos (sitios 1, 3, 5, 7 y 9). Una vez obtenidas estas muestras, se procedió a su almacenamiento y transporte en frío (4 a 8 °C) para efectuar los análisis bacteriológicos en el laboratorio antes de transcurrir 24 horas desde la colecta.

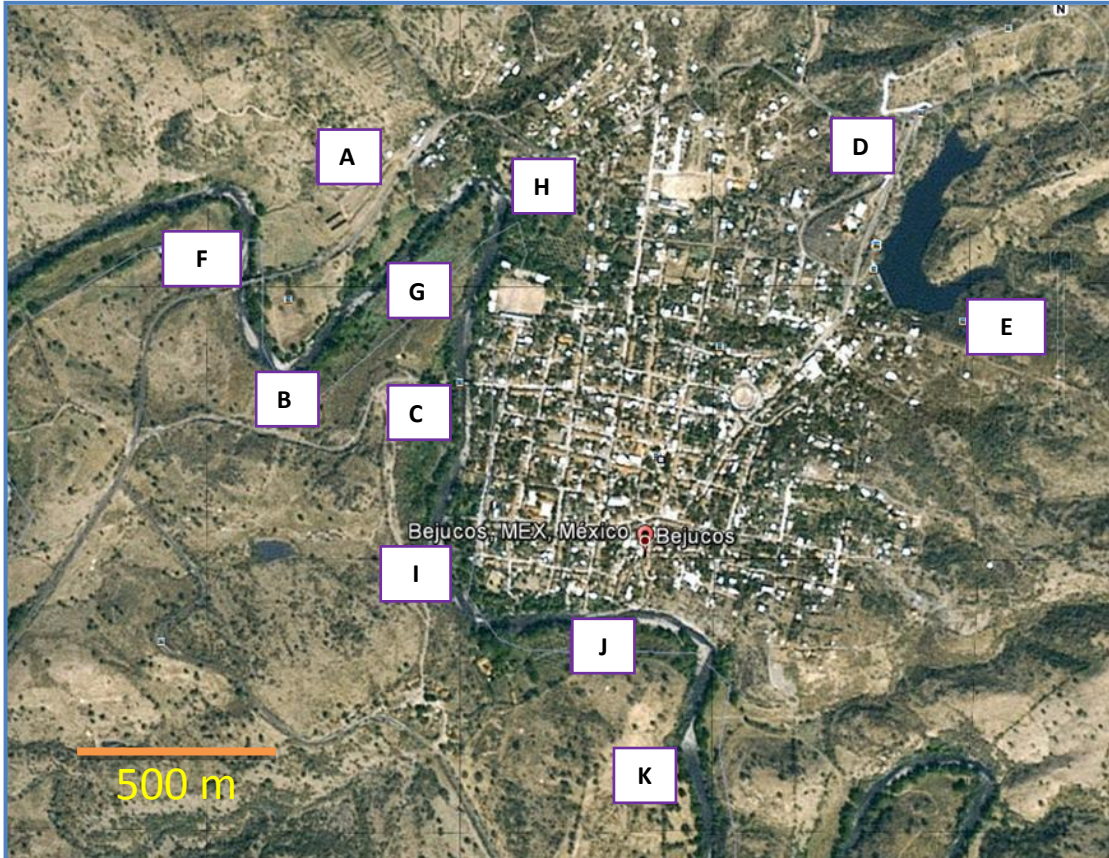
Para la toma de muestras de metales, adicional al proceso de lavado con extran, los recipientes de vidrio (de capacidad de 20 mL) fueron sumergidos por cinco días en ácido nítrico al 10% y después enjuagados con agua destilada; una vez tomadas las muestras fueron sellados con Parafilm para evitar su contaminación.

Para el análisis de plaguicidas, se utilizaron frascos de vidrio con tapa de metal, los que fueron lavados y posteriormente secados durante 24 horas a 60°C en una estufa. Una vez tomada la muestra fueron sellados con parafilm y tapados.

Para el análisis de los parámetros fisicoquímicos: CO<sub>2</sub>, dureza y nutrientes, y los contaminantes: detergentes, DBO<sub>5</sub>, bacterias, plaguicidas y el metal cadmio, las muestras se conservaron en hielo para su análisis en el laboratorio de Ecotoxicología de la UAM-Iztapalapa como se describe más adelante.

### 2.2.2. Colecta de ejemplares de *Spermophilus adocetus*

Los ejemplares de *S. adocetus* provienen de 12 estaciones de muestreo (Fig. 3) Siete estaciones se ubicaron en las orillas del río y abarcan un kilómetro cuatrocientos setenta metros de largo.



**Fig. 3.** Sitios de colecta de *S. adocetus* en Bejuocos, Estado de México.

La estación A se ubicó en el interior de un Centro de Acopio Ganadero, que se localizaba en las inmediaciones del poblado sobre la carretera federal 134. Esta última sirvió de control debido a que se encontraba lejana al río, cultivos, basurero, lavado de autos y descarga de agua residual. En la entrada norte del poblado se ubicó la estación D en las inmediaciones de un montículo de rocas llamado



“paredón” y la estación E se colocó en la parte noreste del poblado, en una zona de forrajeo para vacas y borregos, cercana a la presa del poblado. Al noroeste se situaron 2 estaciones más; la estación F quedó en la entrada trasera al poblado y a lo largo de otro paredón, la H en las orillas del basurero próximo al “puente viejo” que cruza el río Bejucos.

Para la colecta de ejemplares se utilizaron 180 trampas Sherman (28 x 8 x 9 cm), cebadas con avena y avena con esencias de vainilla (Arévalo, 2001). Las trampas se dispusieron en línea recta (técnica de captura en línea) siguiendo un camino o línea imaginaria previamente trazada; la separación entre cada trampa fue de 5 pasos (5 metros aproximadamente) para abarcar una distancia de 75 m entre ellas. Se colocaron 15 trampas por estación y se activaron a partir de las 7:00 h; el monitoreo de las trampas se llevó a cabo a partir de las 9:00 h con intervalos de revisión cada hora en todas las estaciones y se terminó a las 18:00 h.

La determinación específica de los ejemplares se basó en la descripción bibliográfica de Best (1995). Los individuos capturados se sacrificaron siguiendo las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-033- ZOO-1995). Se obtuvieron fragmentos de hígado y gónadas, que se fijaron en formalina neutra estabilizada con solución amortiguadora de fosfatos para realizar la técnica histológica (Fortoul & Castell, 2010). También se obtuvieron fragmentos de hígado y gónadas para medir metales y plaguicidas. Las muestras fueron transportadas en frascos de plástico de 150 mL con tapa de seguridad y selladas con parafilm para su almacenamiento en frío hasta la llegada al laboratorio. Las muestras de

hígado y gónada para el análisis de metales se colocaron en frascos de vidrio de 20 mL y en recipientes contapa de metal para el análisis de plaguicidas. Estas muestras también se conservaron en frío hasta su análisis.

### **2.3. Procesamiento de muestras en el laboratorio.**

#### **2.3.1. Análisis de muestras hidrológicas.**

Se requirió de una fase de montaje de técnicas previo a las salidas de campo definitivas para garantizar el manejo y procesamiento adecuado de las muestras. Los parámetros: nitratos, nitritos, fósforo, amonio, dureza, dióxido de carbono y detergentes se determinaron en el laboratorio con un espectrofotómetro HACH modelo DR/ 2500. A través de los procesos descritos a continuación:

#### **Dióxido de carbono**

Este parámetro se determinó por la técnica de titulación con hidróxido de sodio 0.36±0.002 N en 100 mL de agua de una muestra, se anotó la cantidad de hidróxido de sodio que provocó viraje a color rosa del indicador (fenolftaleína) y se multiplicó por el factor de corrección de 0.2 (APHA, 1992).

#### **Dureza**

Esta se midió por el método de titulación con adición de EDTA. Se determinó a partir de 25 mL de una muestra en la cual se agregó 1 mL de solución buffer de dureza (Hardness1) y una almohadilla indicadora de dureza (Man ver 2), mediante agitación se introdujo el titulador digital para liberar EDTA y se multiplicó la cantidad que se requirió para ocasionar un viraje (Man ver 2) a color azul por el

factor de corrección que está en función del número de cartucho utilizado (factor de corrección 0.4) (Contreras, 1984; Goetz & Smith, 1959)

## **Nutrientes**

La determinación de los nitratos, nitritos y fosforo requirió una longitud de onda de 490 nm.

Para medir la concentración de los nitratos se utilizó el método de reducción con cadmio, para ello se utilizó una almohadilla de Nitriver 5 Nitrate en 25 mL. Se depositó una pequeña muestra (5 mL) en una celda y se colocó en el espectrofotómetro para su lectura con el programa 355 para su lectura (Contreras, 1984; Wood *et al.*, 1967).

Para los nitritos se utilizó el método de diazotización, por lo que se utilizó 25 mL de muestra, se agregó una almohadilla de Nitriver 2 Nitrite para colocar una pequeña muestra representativa (5 mL) en una celdilla, la cual se introdujo en el espectrofotómetro y mediante el programa 371 se dio lectura (Bendschneider & Robinson, 1952; Contreras, 1984).

El fósforo se determinó por el método de oxidación con persulfato de sodio. Para ello se agregó una almohadilla de persulfato de potasio en una muestra de 25 mL y se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico 5.25 N, posteriormente se colocó en baño María por 30 minutos y se dejó enfriar para agregar 2 mL de 5.0 N hidróxido de sodio, para finalmente dar lectura con el programa 215 (Contreras, 1984; Menzel & Corwin, 1965).

## **Amonio**

Este parámetro se cuantificó por medio del método Nessler para lo cual se colocó 25 mL de la muestra en una probeta de 50 mL, se agregó 3 gotas de estabilizador mineral, 3 gotas de alcohol polivinílico, y un mililitro de reactivo Nessler y se dio lectura con el programa 7 (APHA, 1992; Contreras, 1984).

## **Demanda Biológica del Oxígeno en 5 días (DBO<sub>5</sub>)**

Para la medición de este parámetro se utilizó la técnica descrita por la NMX-AA-028-SCFI-2001. Para ello se utilizaron por muestra 10 botellas esmeriladas color ámbar de 150 mL. De cada muestra se llevaron a cabo las siguientes diluciones: dos botellas al 50%, dos al 25 % y dos al 12.5%. Dos botellas se llenaron con solución glucosa-ácido glutámico como el control positivo de consumo de oxígeno y otras dos con agua de dilución como control negativo. El oxígeno disuelto inicial se midió en cada botella con un oxímetro YSI54A y se incubó durante cinco días en oscuridad a 20°C; al final se midió nuevamente el oxígeno disuelto y se calculó la demanda biológica de oxígeno disuelto con la fórmula:

$$DBO_5 \text{ (mg/L)} = \frac{(D1 - D2) - (B1 - B2)f}{P}$$

D1 = Oxígeno disuelto inicial (mg/L), D2 = Oxígeno disuelto final (mg/L), P = volumen usado de la muestra (L), B1 = Oxígeno disuelto inicial del control negativo con agua de dilución (mg/L), B2 = Oxígeno disuelto final del control negativo con agua de dilución (mg/L), f = relación de la dilución de la muestra respecto al control



(% agua de dilución en la muestra/ % agua de dilución en el blanco) (Contreras, 1984).

### **Detergentes**

Las sustancias activas al azul de metileno (NMX-AA-039-SCFI-2001), se determinaron de la siguiente manera. Se colocó en un vaso 150 mL de la muestra, se agregó 5 mL del buffer solución sulfato, media almohadilla de detergentes reagentpowdepillows y 15 mL de benceno; se colocó la muestra con los reactivos en un embudo de separación con la llave cerrada, posteriormente se abrió y agitó lentamente para dejar escapar los gases. Finalmente se procedió a decantar y obtener los residuos en una celdilla de vidrio. Para dar lectura se calibró el espectrofotómetro marca HACH con un blanco; se colocó la celdilla con la muestra y mediante el programa 321 se leyó la concentración de detergente.

### **Calidad Sanitaria**

El análisis bacteriológico utilizó a los indicadores de calidad sanitaria coliformes y estreptococos. Se determinó el número más probable (NMP) de estos grupos indicadores utilizando la técnica de tubos múltiples de acuerdo a la NMX-AA-42-1987. Para coliformes se hicieron 5 diluciones ( $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , y  $10^{-4}$ ). Las muestras fueron colocadas en tubos de ensayo con campana Durham invertida que contenían caldo lactosado, las diluciones se inocularon por triplicado y se incubaron a 37°C. Los conteos se llevaron a cabo a las 24 y 48 horas y los tubos que presentaron turbidez y producción de gas, fueron inoculados en dos medios

de cultivo; el primero fue Caldo Bilis Verde Brillante para coliformes totales, que fue incubado a 37°C por 24 horas; el segundo fue caldo EC (*Escherichiacoli*) para coliformes fecales, incubado a 44°C por 48 horas. Finalmente se realizaron los conteos y se calculó el NMP por tablas de Mc Cready.

Para estreptococos se hicieron 5 diluciones (de  $10^0$  a la  $10^{-4}$ ). Las muestras fueron colocadas en tubos de ensayo sin campana Durham que contenían caldo azida-glucosa, las diluciones se inocularon por triplicado y se incubaron a 37°C. Los conteos se llevaron a cabo a las 24 y 48 horas y los tubos que presentaron turbidez, fueron inoculados en Caldo Purpura de Bromocresol-azida e incubados a 37 °C por 48 horas. Finalmente se realizaron los conteos a partir del número de tubos que presentaron un viraje de color purpura a amarillo o café y turbidez (Merck, 1982).

### **Plaguicidas**

En el caso de estos contaminantes la determinación de su presencia fue indirecta, ya que se detectaron a través de kits Abraxis de ELISA inmunoenzimáticos. Con este método se establecieron las muestras que presentaron toxicidad asociada a los plaguicidas bajo búsqueda.

## **Medición de 2,4-D**

Para la determinación de 2,4-D por kitAbraxis de ELISA el procedimiento fue el siguiente: 1) se añadieron 50  $\mu\text{L}$  del reactivo calibrador a los primeros 12 pocillos y 50  $\mu\text{L}$  de muestra (agua del río Bejucos) a los pocillos restantes, procurando utilizar una punta de pipeta limpia por pocillo; 2) se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de enzima conjugada a los pocillos individuales sucesivamente utilizando una micropipeta de 20 a 200  $\mu\text{L}$ ; 3) se incorporó 50  $\mu\text{L}$  de la solución de anticuerpo a los pocillos individuales y se cubrieron los pocillos con parafilm para mezclar el contenido moviendo el soporte de tiras de pocillos en un rápido movimiento circular sobre la mesa de trabajo. Se Incubaron las tiras durante 60 min a temperatura ambiente; 4) después de la incubación, se quitó la cubierta y se agitó el contenido de los pocillos en un fregadero y se lavaron las tiras tres veces con una pipeta usando una solución tampón diluida de 1X utilizando al menos un volumen de 250  $\mu\text{L}$  de solución de lavado para cada pozo. El tampón que quedó en los pozos se retiró con pequeñas palmaditas en la placa, la cual se dispuso sobre una pila de toallas de papel; 5) se incorporaron 150  $\mu\text{L}$  de solución de sustrato / color a los pocillos individuales, se cubrieron los pocillos con parafilm, y se mezcló el contenido moviendo el soporte de tiras en un rápido movimiento circular sobre la mesa de trabajo. Se incubaron las tiras durante 20 minutos a temperatura ambiente; 6) se añadió 100  $\mu\text{L}$  de solución de stop a los pocillos en la misma secuencia que para la solución de sustrato; 7) se midieron con una absorbancia a 450 nm utilizando un lector de ELISA de microplaca (Betancourt *et al.*, 2006).

### **Medición de organofosforados. Paraquat**

Para la determinación de organofosforados por kit Abraxis de ELISA se llevaron a cabo los siguientes pasos: 1) se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de buffer a cada pocillo de ensayo; 2) se adicionaron 25  $\mu\text{l}$  del control negativo a los primeros dos pocillos, 25  $\mu\text{l}$  del control positivo a los siguientes dos pocillos, y 25  $\mu\text{l}$  de muestra (agua del río Bejucos) a los pocillos restantes de la placa para mezclarlos a través de movimientos suaves durante 15 segundos; 3) se incorporaron 25  $\mu\text{L}$  de solución oxidante diluida en cada uno de los pozos, la placa se agitó para mezclar durante 15 segundos e incubó durante 5 minutos a  $- 21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 4) se colocaron 25  $\mu\text{L}$  de solución neutralizadora en cada pocillo, para posteriormente agitar la placa durante 15 segundos; 5) se agregaron 25  $\mu\text{L}$  de la ACh-E en cada pocillo y se agitó la placa durante otros 15 segundos y se incubaron durante 15 minutos a  $- 21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 6) se colocaron 25  $\mu\text{L}$  de sustrato-ATC en cada pocillo y se volvió agitar para mezclar durante otros 15 segundos; 7) se adicionaron 25  $\mu\text{L}$  de cromógeno - DTNB en cada pocillo de ensayo para mezclar durante otros 15 segundos; 8) Finalmente se incorporaron 25  $\mu\text{L}$  de solución de stop de la reacción en cada pocillo de ensayo, y se volvió a agitar por otros 15 segundos. Los pocillos preparados se leyeron con un lector de ELISA a 450 nm (Betancourt *et al.*, 2006).

## **2.3.2. Análisis de órganos de *Spermophilus adocetus***

### **2.3.2.1. Plaguicidas**

La determinación de los herbicidas 2,4-D y organofosforados (Paraquat) se basó en el principio de digestión de tejidos de acuerdo a la NOM-028-ZOO-1995. Se tomaron 2 g de tejido de cada hígado y se colocaron en tubos de ensaye de vidrio de 5 mL, y se les adicionó 1.5 mL de agua destilada para molerlos con un homogenizador de tejidos Omni TH 115. Posteriormente con micropipeta de 1000  $\mu$ l se transfirió un 1 mL de tejido homogeneizado (para medición de 2,4-D) y 0.5 mL (para medición de organofosforados) a tubos Ependorf de 1.5 mL; a los tubos que contenían 0.5 mL de tejido homogeneizado se les adicionó 0.5 mL de metanol al 10 %. Después se agitaron por 10 minutos con un agitador Vortex a 400 rpm y se colocaron en una centrifuga refrigerada a 3000 rpm por 10 minutos a 8°C, el sobrenadante obtenido se pasó a otros tubos Ependorf de 1.5 mL y se centrifugaron de nuevo. Las muestras resultantes en caso de ser almacenadas para su posterior lectura, se guardaron a una temperatura de 6 a 7 °C.

Finalmente se dio paso a la detección de los plaguicidas por medio de los kits de ELISA, uno específico para 2,4-D y otro para organofosforados, con este último se infirió la concentración de Paraquat

### **2.3.2.2 Metales**

La digestión de los tejidos se basó en Narváez *et al.*, 2010 y el principio de la técnica de la NOM-010-ZOO-1994 para la determinación de Cd en frío. Se utilizó 1.25 g de tejido, el cual se colocó en tubos de ensaye de 20 mL de capacidad. Se les adicionaron 2 mL de ácido nítrico(99% de pureza), 2 mL de ácido clorhídrico grado reactivo y se dejaron durante 24 horas en campana de extracción. Posteriormente se agregó un mililitro de peróxido de hidrógeno para degradar posibles remanentes de materia orgánica. Las muestras digeridas se colocaron en cuarto oscuro y a temperatura ambiente hasta su análisis. El análisis se llevó a cabo en los laboratorios ABC en 12 muestras de tejido hepático, a través del método NMX-F-026-SCFI-2008, para alimentos-grasas vegetales o animales determinación de contenido de metales (cromo, cobre, fierro, níquel y manganeso), en donde se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica de flama para dar lectura a las concentraciones de este metal en el tejido.

### **2.3.2.3. Histología**

Se procesaron los órganos de 36 ardillas (*Spermophilus adocetus*) de las cuales 18 fueron machos y 18 hembras. Se procedió a la remoción de cada hígado con una biopsia insicional representativa, en tanto que, del aparato reproductor femenino y masculino se hicieron biopsias escionales de las gónadas; los tejidos obtenidos en el campo a través de las biopsias se fijaron en formalina neutra estabilizada por inmersión. Para el procesamiento de los tejidos en el laboratorio, se disecaron fragmentos de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, fueron lavados, dos veces, con solución amortiguadora de fosfatos para eliminar el exceso del fijador. Posteriormente se

deshidrataron con etanol de 50°, 60° y 70° GL (dos en cada uno), antes del procesamiento e inclusión en el procesador de tejidos.

Los fragmentos se procesaron e incluyeron con ayuda del programa 4 del procesador automático de tejidos “Histoquinet” marca Leica y cuyos pasos fueron deshidratación (etanol de 80°, 96° y 100° GL), aclaración (etanol-xileno -1:1-, xileno 1 y xileno 2) e infiltración de las muestras en ParaplastTissue extra. Marca McCormickScientific en 2 pasos, el paso uno de 2 horas y el paso dos de 8 horas. Para la inclusión de los fragmentos se colocaron en escuadras de Leukart, en las que se orientaron para definir el área de corte del tejido, con ParaplastTissue extra Marca McCormickScientific que solidificó por un periodo de 24 horas (García-Lorenzana, 2007).

Se realizaron cortes con la ayuda de un micrótopo rotatorio de la marca Leica, a un espesor de 7 µmy fueron montados en portaobjetos con pantalla para poder ser rotulados. Posteriormente fueron desparafinados con Neoclear; se tiñeron con la técnica de Hematoxilina- Eosina (H&E) (Fortoul & Castell, 2010, García-Lorenzana, 2007), con el objetivo de analizar la estructura del tejido y detectar posibles cambios que se originaron por acción de los contaminantes (herbicidas y metales). Se conservaron de manera permanente utilizando resina artificial “Entellan” sobre el tejido y colocando su cubreobjetos respectivo; a partir de estas muestras y por medio de un microscopio óptico marca Carl Zeiss, se analizaron y diagnosticaron histológicamente las alteraciones encontradas en los órganos de estudio. Los cortes fueron digitalizados con la cámara axioCamMRc5 y el programa axiovision 4.8 de Carl Zeiss.

## **2.4. Estadística aplicada al análisis de datos.**

Se llevó a cabo la inferencia estadística de los datos. Para la comparación de medias entre temporadas de colecta se aplicó un análisis de varianza (ANOVA o Kruskal Wallis). Para obtener la tendencia de los datos y establecer si hubo variaciones en las temporadas de colecta, se llevó a cabo el siguiente análisis. En las poblaciones de datos que cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad a través de las pruebas de Omnibus ( $K^2$ ) y Levene, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA, F) de una vía. En las poblaciones que no cumplieron con estos supuestos se realizó un análisis de Kruskal Wallis (H). Cuando los datos no presentaron diferencias significativas, se obtuvo su promedio para visualizar la tendencia en las concentraciones a lo largo del río. También se utilizó un análisis de correlación canónica para establecer si existían relación entre las variables de estudio (Sokal&Rohlf, 2012).



### **3. RESULTADOS**

### **3.1. Identificación de las actividades antropogénicas en el río Bejucos y sus alrededores.**

De acuerdo al último censo poblacional efectuado por INEGI en el año de 2010, el poblado de Bejucos cuenta con una población aproximada de 2,528 personas de las cuales 1,192 son hombres y 1,336 son mujeres. La edad en la cual se encuentra la mayor cantidad de los lugareños es de 0 a 14 años con un total de 840 personas, que representan el 33.2% de la población. La cantidad de individuos que no poseen servicios de salud oficiales son 1,810 habitantes (71.6%) y la cantidad de viviendas que no poseen drenajes disponibles son 53 (9.2%) y 46 (8%) no disponen de agua entubada de la red pública.

Las actividades económicas más importantes de la zona son la agricultura, transporte colectivo, turismo, pequeño comercio como tiendas de abarrotes, ventas de artesanías, venta de comida y verdura. Pero el mayor aporte económico proviene del envío de dinero por parte de familiares que viven en los Estados Unidos.

Las principales actividades que realizan los pobladores en el río Bejucos son: 1) pescar, 2) nadar, 3) aseo personal, 4) aseo de ganado como vacas, borregos, caballos y cabras, 5) ingreso del ganado para que beban el agua, 6) lavado de vestimenta y 7) lavado de automóviles.

Cabe destacar que durante el baño del ganado, el hato defeca y orina directamente en el interior del río. Aunado a ello, se lleva a cabo la limpieza de vehículos en las partes menos profundas del río, donde se usan detergentes, de igual manera las personas más pobres del poblado llevan a cabo en el río su limpieza personal y de ropa.

En los alrededores existen zonas rústicas de campamento; existen también áreas de confinamiento para el ganado, las cuales se encuentran a escasos 3 metros del río. En las orillas del río se puede encontrar una gran cantidad de basura derivada de las actividades turísticas y domésticas. Estas últimas tienen mayor presencia del lado del río en que se encuentra la población de Bejucos. Los hogares que no cuentan con drenaje al interior de sus casas, vierten sus desechos directamente al río. Animales como perros, gallinas y cerdos, que provienen de estas mismas viviendas, también suelen encontrarse en las orillas del río y se logra apreciar una gran cantidad de heces y alimento de estos animales.

Durante los recorridos se pudieron observar tres grandes zonas que destacan por su deterioro visual y olor. La primera de ellas es el basurero a cielo abierto, el cual se encuentra en un costado del río sobre un terreno inclinado y enfrente al poblado de Bejucos. Aunque éste ya ha sido clausurado por las autoridades, los lugareños siguen descargando su basura, ya que el basurero actual se encuentra más lejano y ubicado en la cima de un cerro, que se encuentra frente a la entrada del poblado. La segunda zona se ubica en el punto de ingreso de agua residual proveniente de los pobladores que no cuentan con el sistema de drenaje. Aunque

actualmente, ya existe un sistema de drenaje que fue construido por las autoridades del municipio a petición de los pobladores, no todas las casas cuentan con este sistema, por lo que todavía existe la práctica de desechar la basura y el agua en un pequeño canal que va a dar al río. La tercera y última zona en malas condiciones, son los huertos de frutas que se ubican a escasos metros del punto de aporte de basura e ingreso del agua residual. Entre los materiales desechados en este sitio se encuentran: botes de herbicidas, botellas, ropa, fruta en descomposición y desperdicios de comida. Cabe destacar que se cultiva caña, sorgo, frijol, alfalfa, papa y chile en la cercanía de este sitio; estos cultivos destacan por encontrarse en pendientes pronunciadas y a escasos dos metros del río. Los agricultores utilizan una gran cantidad de agua extraída del mismo para regar sus cultivos y también para mezclar los herbicidas. No menos importante, es la presencia esporádica de animales domésticos muertos en las orillas y en el interior del río Bejucos. También se pueden observar en las orillas del río y fuera del basurero principal, artículos como botellas, platos, zapatos, jabón, pantalones y restos de comida.

Finalmente ante la falta de empleo que se registra en el lugar, los lugareños más pobres cazan a las ardillas (*Spermophilus adocetus*) como fuente de alimento, debido a que estos organismos se han vuelto una plaga y al no tener ingresos económicos, se convierten en un recurso importante para ellos.

### **3.2. Condiciones hidrológicas del río Bejucos.**

#### **3.2.1. Comportamiento temporal de las variables.**

##### **Parámetros fisicoquímicos.**

Los valores promedio obtenidos para las variables se muestran en la Tabla 1. En la época de seca se observaron temperaturas de 29.2 °C, pH de 8.1, CO<sub>2</sub> de 80.6 mg/L y dureza de 310.6CaCO<sub>3</sub>/mg/L; estos valores fueron los más altos respecto a las demás temporadas de colecta. El oxígeno disuelto mostró el valor más elevado en el inicio de lluvias y fue de 13.9 mg/L.

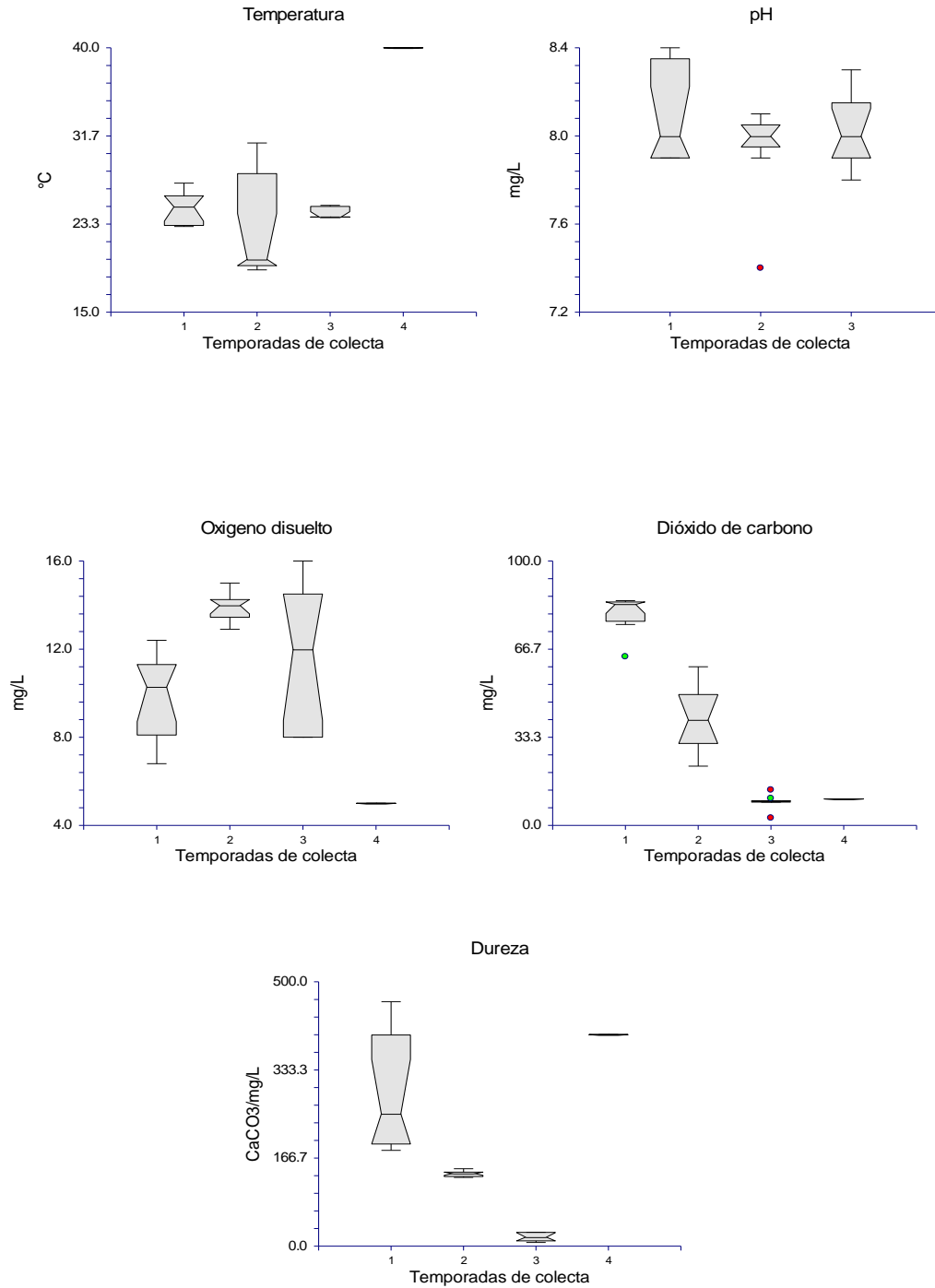
De acuerdo con la NOM-001- ECOL-1996, la cual establece los límites máximos permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales; la temperatura no rebasó los límites aceptables para uso urbano y protección de la vida acuática en ninguna temporada de colecta. De la misma manera el pH y la dureza, no rebasaron los límites máximos permisibles para uso urbano y protección a la vida acuática, indicados por CONAGUA en la Ley Federal de Derechos del 2009 (Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales). Los niveles de oxígeno disuelto se consideraron aceptables ya que se encuentran por encima de los límites mínimos requeridos para uso urbano y protección a la vida acuática, de acuerdo a la ley referida anteriormente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Promedios y desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos y límites aceptables de acuerdo a la legislación mexicana.

<b>VARIABLES</b>	<b>Temporada de seca</b>	<b>Inicio de temporada de lluvia</b>	<b>Final de temporada de lluvia</b>	<b>Límite máximo permitido</b>	<b>Legislación vigente</b>
<b>Temperatura [°C]</b>	29.2±1.7	23.4±4.9	24.4±0.5	40.0	NOM-001-ECOL-1996
<b>pH</b>	8.1±0.2	8.0±0.2	8.0±0.2	6.0-9.0 <sup>1</sup> 6.5-8.5 <sup>2</sup>	Ley Federal de Derechos, 2009
<b>Oxígeno disuelto [mg/L]</b>	10.0±1.9	13.9±0.6	12.0±3.1	4.0 <sup>1</sup> y 5.0 <sup>2</sup>	Ley Federal de Derechos, 2009
<b>Dióxido de carbono [mg/L]</b>	80.6±6.7	42.2±12.1	9.0±2.6	10 <sup>3</sup>	Bascuñán, 2010
<b>Dureza[mg/L]</b>	310.6 ±116.1	137.0±5.4	19.2±7.9	400.0 <sup>1</sup>	Ley Federal de Derechos, 2009

1.- Límite máximo permitido para uso urbano., 2.- Límite máximo permitido para la protección de la vida acuática de agua dulce.3.- Valor típico de lagos y ríos.

El pH mostró poca variación entre las colectas, el valor mínimo registrado fue de 8.0 y el máximo de 8.1. Estos valores no representan riesgo para el desarrollo de los seres vivos según Masters & Wendell, (2008). Las diferencias de temperatura entre épocas no fueron significativas (H= 0.90, P=0.634). Las diferencias por época en los niveles de oxígeno disuelto fue significativa (H= 12.68, P<0.01), apreciándose niveles elevados en la época de lluvias (>12 mg/L) El dióxido de carbono y la dureza mostraron valores muy contrastantes entre épocas, fueron altos en la época de seca y bajos en la de lluvias. De acuerdo a Bascuñán (2010), las concentraciones de dióxido de carbono registradas en seca e inicio de lluvia se encuentran por arriba de los valores típicos para ríos y lagos (Fig. 4 y tabla 2).



**Fig. 4.** Comportamiento de los datos de parámetros físico-químicos por colecta. 1- secas, 2- inicio de lluvias, 3- término de lluvias, 4- límite máximo permitido (CO<sub>2</sub>, valor típico).

**Tabla 2.** Resultados de pruebas de inferencia estadística para los parámetros fisicoquímicos.

<b>Variables</b>	<b>Resultado</b>
Temperatura	H= 0.90, P=0.634
pH	F=2.04, P=0.149
Oxígeno disuelto	<b>H= 12.68, P&lt;0.01</b>
Dióxido de carbono	<b>H=25.82, P&lt;0.01</b>
Dureza	<b>H=25.82, P&lt;0.01</b>

### **Nutrientes**

Todos los parámetros analizados mostraron diferencias significativas entre las colectas, con excepción del amonio (tabla 3).

**Tabla 3.** Resultados de pruebas de inferencia estadística para los nutrientes.

<b>Variables</b>	<b>Resultado</b>
Nitritos	<b>H= 14.13, P&lt;0.01</b>
Nitratos	<b>H=20.68, P&lt; 0.01</b>
Amonio	F=2.48, P=0.28
Fósforo total	<b>H= 21.13, P&lt;0.01</b>

El nitrito mostró concentraciones promedio de 0.12 mg/L en la época de secas, niveles que fueron significativamente superiores a los de otras colectas y se encontraron por arriba del límite aceptable para uso y consumo humano. Los nitratos rebasaron los niveles aceptables al inicio de la temporada de lluvias con concentraciones significativamente superiores a las de las demás colectas (13.62 mg/L promedio). Los límites base para la interpretación de los resultados establecen la salud ambiental, indican si el agua es adecuada para uso y consumo humano, e indican los límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe

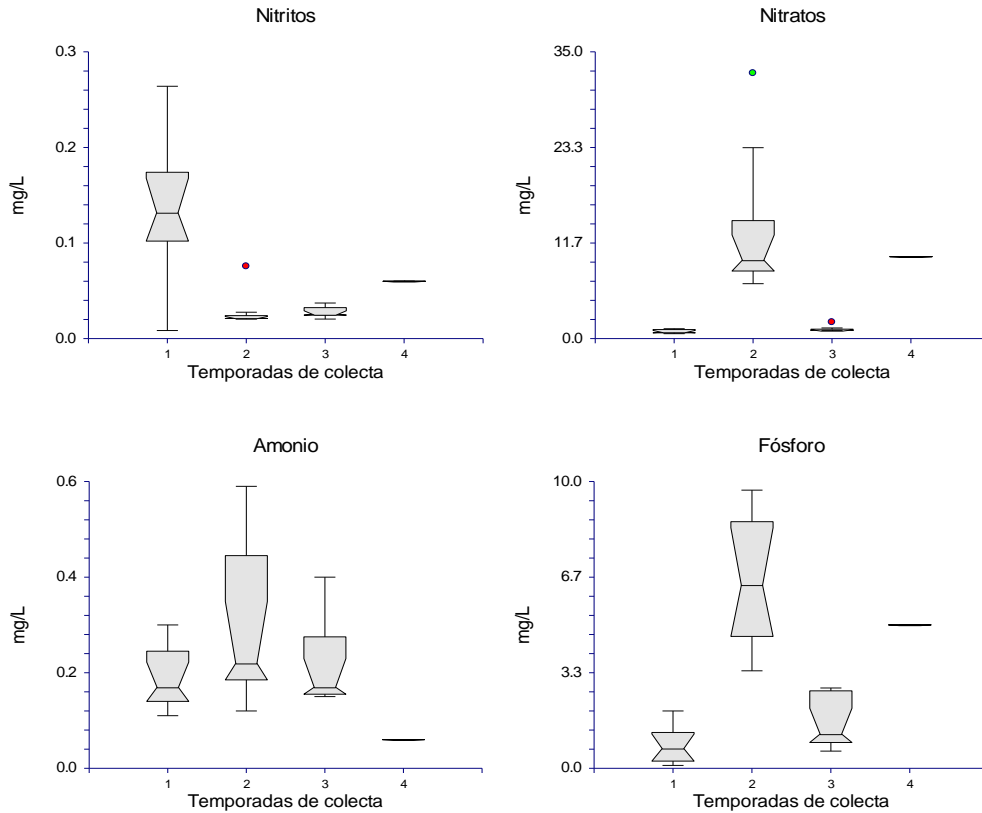


someterse el agua para su potabilización. El amonio se encontró siempre por arriba de lo permitido para la protección de la vida acuática de agua dulce, 0.06 mg/L, el promedio registrado para la temporada de secas fue de 0.20 mg/L, para inicio de lluvias 0.32 mg/L y finalmente para término de la temporada de lluvias 0.22 mg/L. Los niveles del fósforo, no basaron los límites aceptables para riego agrícola en ninguna temporada de colecta, sin embargo, considerando que el agua en Bejucos también tiene uso público urbano, se observó que el agua tuvo calidad inadecuada para el inicio de las lluvias, colecta en la cual el valor promedio fue de 6.8 mg/L. Esta colecta tuvo valores superiores a los de las colectas restantes. (Tablas 3 y 4, Fig. 5).

**Tabla 4.** Promedios, desviaciones estándar de los nutrientes y límites máximos permitidos de acuerdo a la legislación mexicana.

<b>Variables</b>	<b>Temporada de seca</b>	<b>Inicio de temporada de lluvia</b>	<b>Final de temporada de lluvia</b>	<b>Límite máximo permitido</b>	<b>Norma oficial Mexicana</b>
<b>Nitritos [mg/L]</b>	0.12,±0.58	0.02,±0.14	0.024,±0.04	0.05	NOM-127-SSA-1994
<b>Nitratos [mg/L]</b>	0.92,±0.22	13.62,±8.41	1.17,±0.30	10	NOM-127-SSA-1994
<b>Amonio [mg/L]</b>	0.20,±0.63	0.32,±0.17	0.22,±0.92	0.06 <sup>3</sup>	Ley Federal de Derechos 2009
<b>Fósforo [mg/L]</b>	0.90,±0.65	6.82,±2.21	1.82,±0.94	20 <sup>1</sup> y 5 <sup>2</sup>	NOM-001-ECOL-1996

1.- Uso en riego agrícola. 2.- Uso público urbano. 3.- Protección de la vida acuática de agua dulce.



**Fig. 5.** Comportamiento de los nutrientes por colecta. 1- secas, 2- inicio de lluvias, 3- término de lluvias, 4- límite máximo permitido.

### Comportamiento temporal de los contaminantes presentes en el río Bejucos.

La Demanda Biológica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) no rebasó el límite máximo permitido que establece las concentraciones aceptables de contaminantes en descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Estos límites son de 75 mg/L para uso en riego agrícola y 30 mg/L para uso público urbano. Asimismo, no mostró diferencias importantes entre las colectas.

Los niveles de detergentes, registrados como sustancias activas al azul de metileno no rebasaron los límites estipulados para uso y consumo humano y para el tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización, ya que los valores promedio obtenidos en las colectas fueron inferiores: 0.044 mg/L para secas, 0.08mg/L en inicio de lluvias, y 0.11 mg/L para finales de lluvias.

Las concentraciones de los grupos de bacterias analizados fueron muy elevadas. La interpretación de la calidad sanitaria del agua es compleja ya que algunas normas oficiales tienen mucha tolerancia en las concentraciones que son aceptables, mientras que otras, son muy exigentes en función del uso de que se le da al agua. No todos los grupos de bacterias se encuentran dentro de la legislación ambiental mexicana, lo que imposibilita frecuentemente ponderar su importancia con un enfoque oficial. Por lo tanto la interpretación dependerá del criterio del investigador y/o de las normas, lineamientos u publicación de algún organismo oficial que marque un límite. Cabe destacar que a veces se tiene que hacer extrapolaciones en los límites para un grupo determinado de bacterias, para poder hacer su descripción ejemplo de ello son los estreptococos, los cuales se describirán más adelante

Las coliformes fecales rebasaron todos los niveles permisibles en las tres temporadas de colecta de acuerdo a la NOM-003-ECOL-1997 y la Ley de Derechos; a su vez las coliformes totales, no tipificados en las normas mencionadas, también rebasaron las concentraciones límite estipuladas para todas las temporadas de colecta en la NOM-127-SSA-1994, que establece los

límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales que se reúsen en servicios al público. El grupo de estreptococos rebasó, el límite de 100 NMP/100mL mencionado en los requisitos y especificaciones de sustentabilidad de calidad de playas, NMX-AA-120-SCFI-2006 en las tres temporadas de colecta (tabla 4).

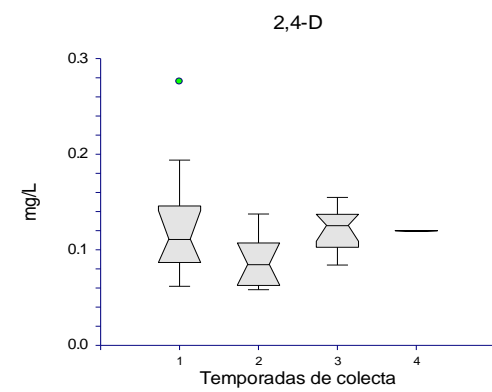
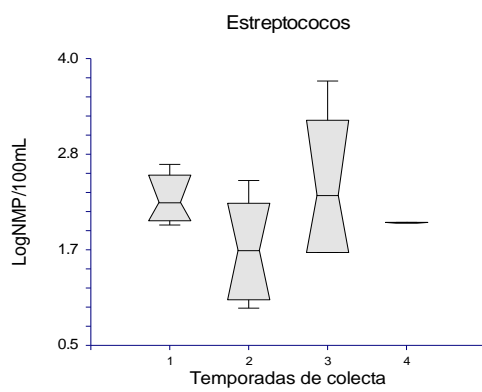
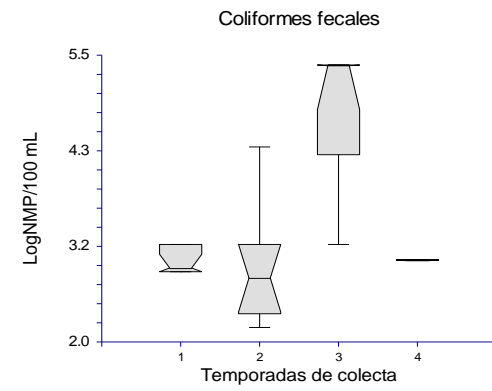
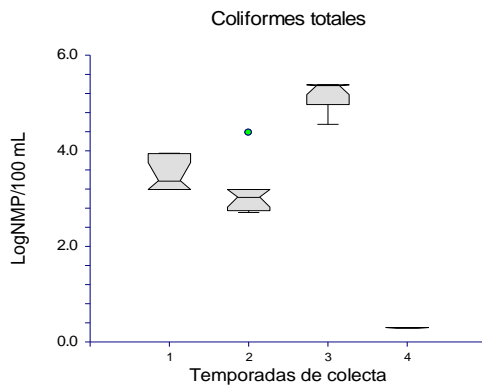
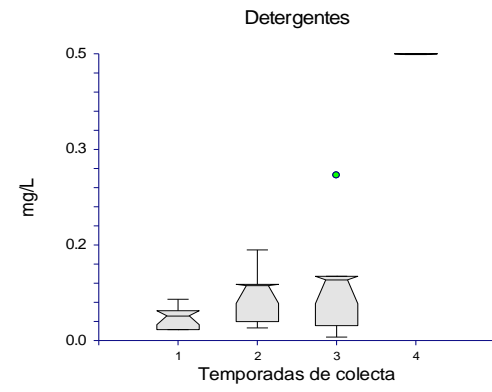
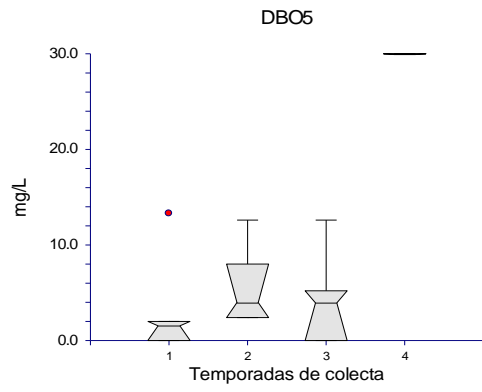
Los coliformes totales y fecales presentaron diferencias significativas entre temporadas de colecta, los estreptococos no, debido a que en la última colecta de lluvias hubo un amplio intervalo de concentraciones registradas entre los diferentes sitios de colecta.

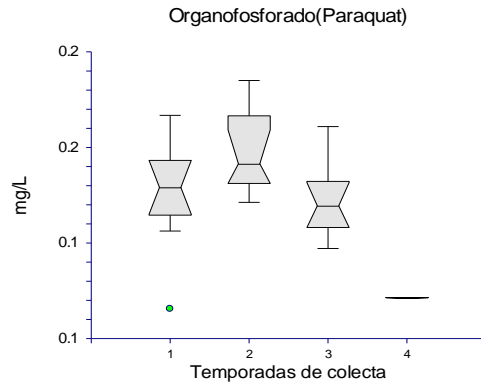
En cuanto a los plaguicidas, el herbicida organoclorado 2,4-diclofenoxiacético (2,4-D), se encontró por encima de lo establecido en la Ley Federal de Derechos en la primera temporada de secas en la que se determinó una concentración de 0.11 mg/L y al término de las lluvias con 0.10 mg/L. La concentración de compuestos organofosforados (Paraquat), presentó diferencias significativas entre las colectas. A nivel internacional existe un límite de 0.10 mg/L para Paraquat (Hamilton *et al.*, 2008). Por lo tanto, en las tres temporadas de colecta los niveles se encontraron por encima de la concentración límite aceptable (Tablas 5 y 6, Fig. 6).

**Tabla 5.** Promedios, desviaciones estándar temporales y límites máximos permitidos de contaminantes.

<b>Variables</b>	<b>Temporada de seca</b>	<b>Inicio de temporada de lluvia</b>	<b>Final de temporada de lluvia</b>	<b>Límite máximo permitido</b>	<b>Norma Oficial Mexicana</b>
<b>DBO5 [mg/L]</b>	4.2 ± 6.1	6.7 ± 4.5	5.4 ± 5.2	75.0 <sup>6</sup> 30.0 <sup>7</sup>	NOM-001-ECOL-1996
<b>Detergentes [mg/L]</b>	0.044 ±0.20	0.08±0.50	0.11 ±0.98	0.50	NOM-127-SSA-1994
<b>Coliformes totales [NMP/100 mL]</b>	5,322 ±3,634	5,554 ±9,730	199,150 ±86,118	2	NOM-127-SSA-1994
<b>Coliformes fecales [NMP/100 ml]</b>	1,068 ±415	3,082 ±7,373	192,310 ±100,540	1000 <sup>1,2,3,4</sup>	NOM-003-ECOL-1997 Y Ley Federal Derechos, 2009
<b>Estreptococos [NMP/100ml]</b>	285 ±189	132 ±134	1, 716 ±2,186	100	NMX-AA-120-SCFI-2006
<b>2,4-D mg/L</b>	0.11±0.53	0.08±0.24	0.10±0.18	0.10 <sup>2</sup>	Ley Federal de Derechos, 2009
<b>Organofosforado mg/L</b>	0.15±0.26	0.17±0.21	0.15±0.02	0.10	Hamilton <i>et al.</i> , 2008

1.- Servicios al público con contacto indirecto u ocasional. 2.-Fuente de abastecimiento para uso público urbano. 3.-Riego agrícola. 4.-Protección a la vida acuática agua dulce. 5.- Uso en riego agrícola. NOM-001-ECOL-1996. 6- Uso público urbano. NOM-001-ECOL-1996.





**Fig. 6.** Distribución de los datos de contaminantes por colecta. 1- secas, 2- inicio de lluvias, 3- término de lluvias.

**Tabla. 6.** Inferencia estadística de los datos de contaminantes.

<b>Variables</b>	<b>Resultado</b>
DBO5	F=0.22, P=0.80
Detergentes	H=1.35, P=0.51
Coliformes fecales	<b>H=10.06, P&lt;0.01</b>
Coliformes totales	<b>H=10.58, P&lt;0.01</b>
Estreptococos	H=0.37, P=0.83
2,4-D	H=2.69, P=0.08
Organofosforados (Paraquat)	F= 3.26, P=0.06

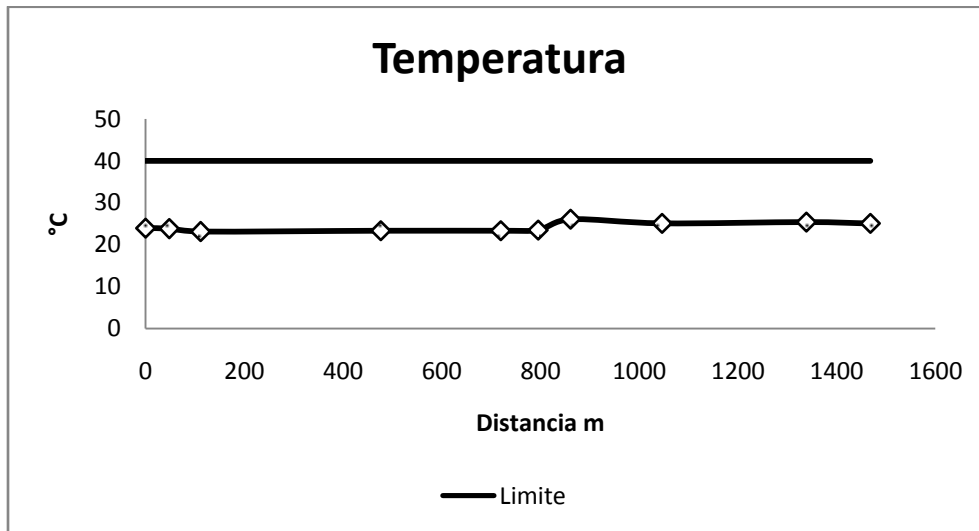
### 3.2.2. Comportamiento espacial de las variables.

Para este análisis, se utilizó el promedio de las tres colectas en las variables que no presentaron diferencias significativas entre las temporadas del año. La finalidad de realizar dicho análisis fue integrar los datos y visualizar su comportamiento por estación.

## Parámetros fisicoquímicos

### Temperatura

La temperatura del agua del río, no rebasó los límites aceptables para uso público urbano y protección de vida acuática de acuerdo a la NOM-001-ECOL-1996 que es 40 °C. Sin embargo la estación número siete que se ubica a más de 800 m del inicio del muestreo presentó los niveles más altos para las tres temporadas de colecta, la temperatura promedio en este punto fue 26.2 °C. Las estaciones subsecuentes: 8, 9 y 10, presentaron 25.1°C, 25.4 °C y 25 °C, respectivamente, es decir, disminuyeron, pero se mantuvieron altas en relación a las primeras estaciones (Fig. 7).

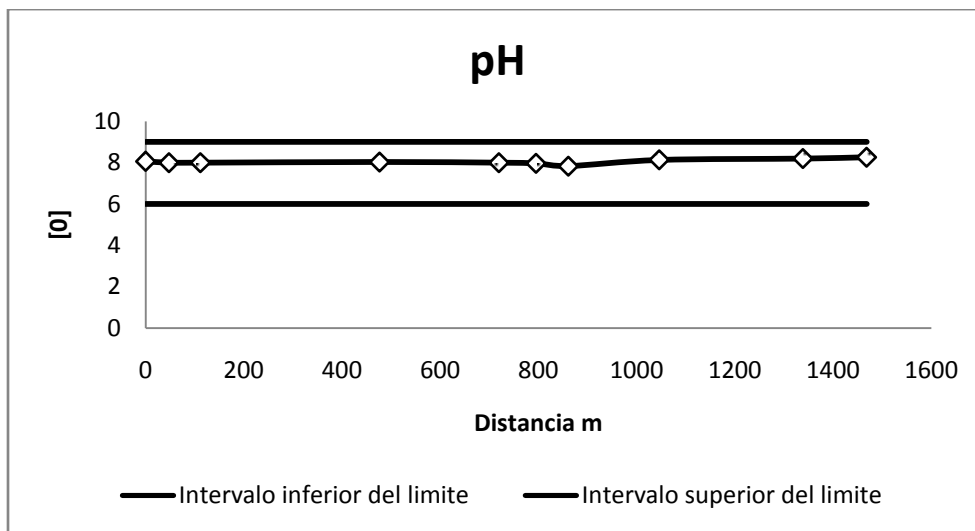


**Fig. 7.** Promedio de la temperatura en las estaciones de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo para la NOM-001-ECOL-1996.



## pH

Los niveles de pH fueron homogéneos, y se encontraron dentro de los límites aceptables. La estación número siete presentó un valor un poco menor respecto a todas las primeras estaciones, 7.8. Las subsecuentes presentaron los niveles un poco más altos y fluctuaron alrededor de 8 (Fig. 8.)

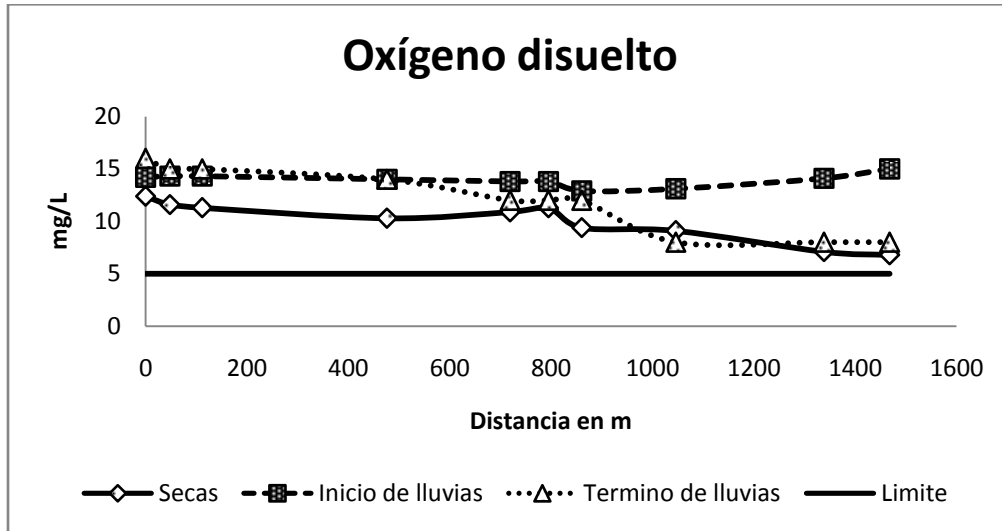


**Fig. 8.** Promedio del pH a lo largo del río Bejucos. Las líneas representan el intervalo del límite máximo permitido por la Ley Federal de Derecho (CONAGUA).

## Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto siempre se encontró en concentraciones aceptables para el uso público urbano el cual establece como límite mínimo 4 mg/L y para riego agrícola, 5mg/L. Pero, como se mencionó anteriormente, el comportamiento de cada época del año fue diferente. Para las temporadas de secas y término de lluvias, se pudo apreciar un descenso en las concentraciones de oxígeno disuelto en las estaciones ubicadas más adelante de la estación siete, (ubicada cerca del poblado de Bejucos). En el término de lluvias, las primeras seis estaciones de

colectamos mostraron concentraciones más altas (que pasaron de 16 mg/L, a 12 mg/L) que el resto. Al inicio de las lluvias se midieron concentraciones elevadas de oxígeno disuelto que fluctuaron entre 13.8 y 14.8 mg/L (Fig. 9).

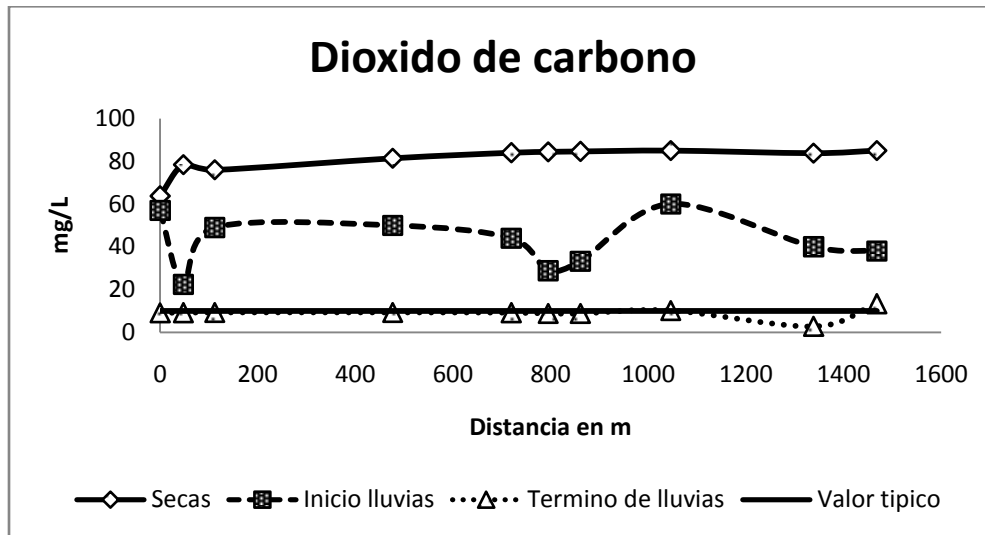


**Fig. 9.** Concentraciones de oxígeno disuelto por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido para la Ley Federal de Derechos (CONAGUA).

### Dióxido de carbono

El comportamiento de este parámetro fue diferente en cada colecta. La temporada de secas fue la que presentó los niveles más altos de dióxido de carbono, y las concentraciones fueron uniformes, la mayoría de las estaciones presentaron concentraciones cercanas a los 80 mg/L. En el inicio de lluvias los valores también fueron elevados, con un máximo en la estación 8 con 60 mg/L. Dos estaciones presentaron niveles algo más bajos, la primera de ellas fue la estación dos cuya concentración fue 22.4 mg/L, y la sexta con 28.8 mg/L. Finalmente, en la temporada término de lluvias, los niveles fueron mucho más bajos y se acercaron

a los valores típicos que se registran en ríos (10 mg/L) (Bascuñán, 2010). Las concentraciones fluctuaron entre 9 y 10 mg/L, y hubo un valor bajo en la estación nueve con 2.8 mg/L (Fig. 10).

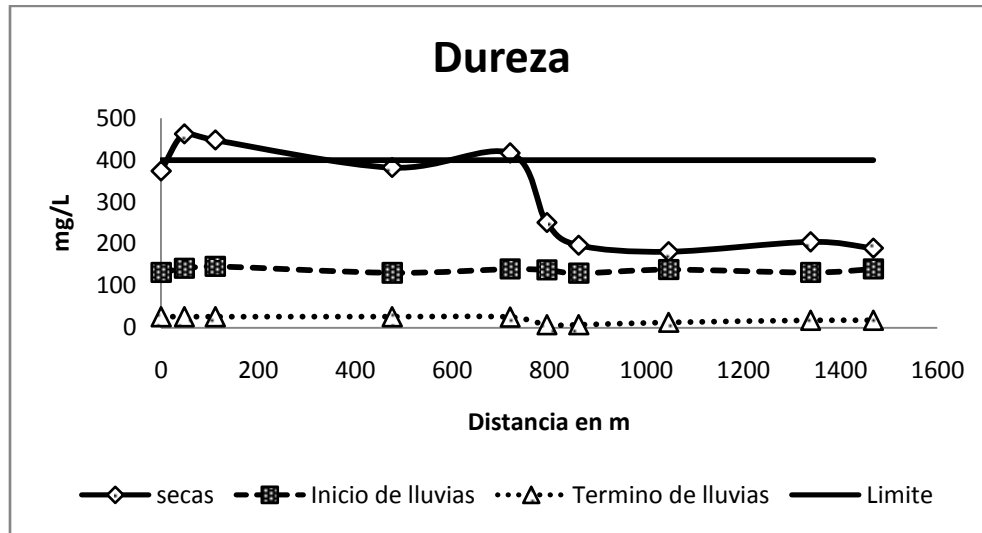


**Fig. 10.** Concentraciones de dióxido de carbono por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el valor típico para ríos y lagos.

### Dureza

La dureza también mostró un comportamiento diferente en cada colecta. En un 30% de las estaciones el agua rebasó la concentración de 400.0 mg/L establecida por la Ley de Derechos como límite para uso urbano. Tres sitios de colecta mostraron valores por arriba de este límite en la temporada de secas, dos de ellos se encuentran ubicados antes de la población de Bejucos y uno cerca del poblado, por lo que puede considerarse que éstas son las condiciones naturales del cuerpo acuático en ausencia de lluvias. Para el inicio de lluvias, las concentraciones a lo largo del río fluctuaron entre 130 y 146 mg/L. Para el término de las lluvias la

dureza se mantuvo casi constante hasta la estación cinco ( $\geq 26.0$  mg/L),hubo un descenso en la estación seis hasta 7 mg/L, para volver a incrementarse ligeramente en las siguientes estaciones de colecta. Los valores de esta colecta fueron bajos (Fig. 11).

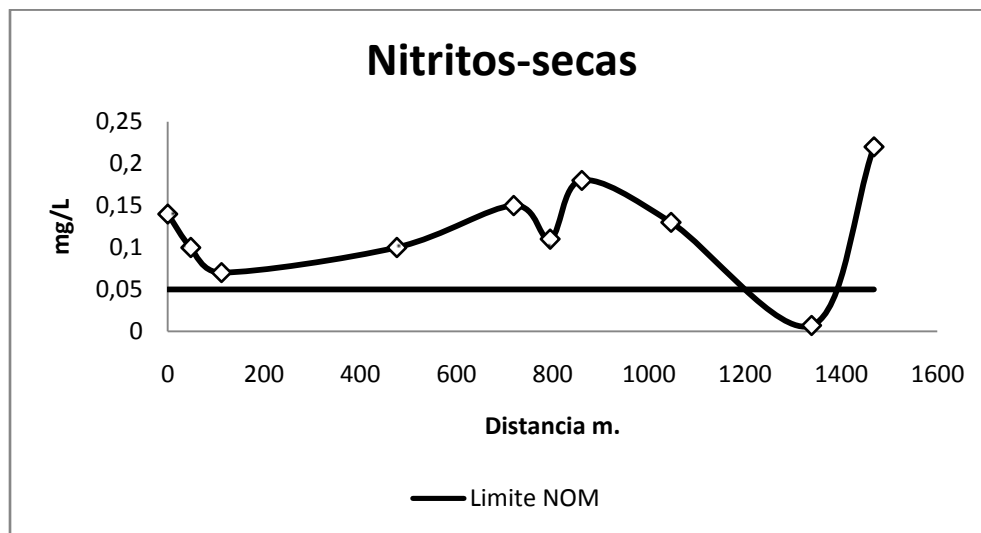


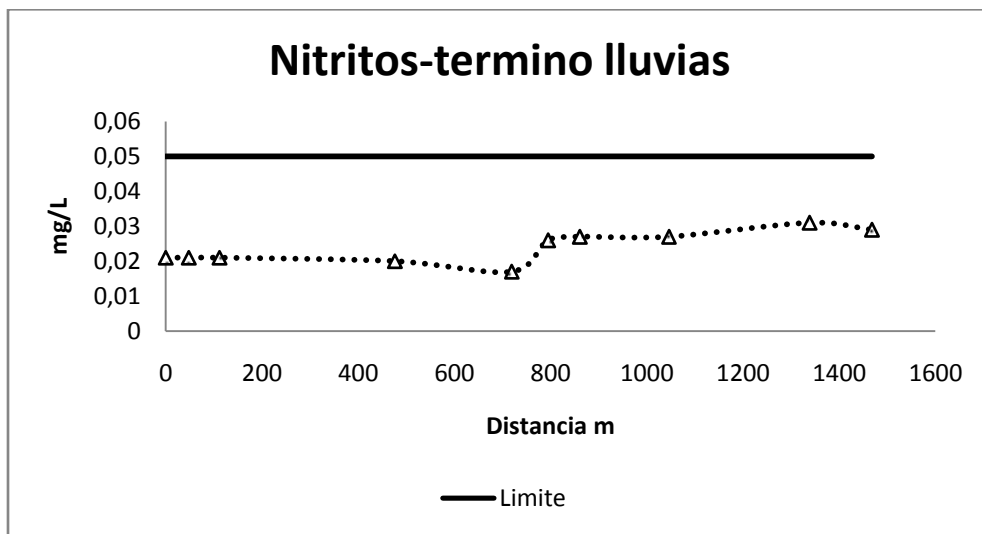
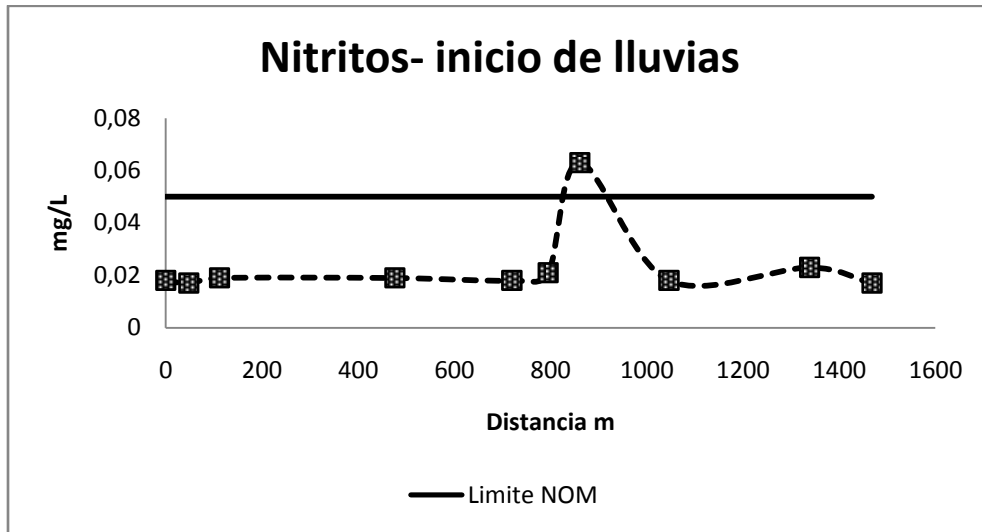
**Fig. 11.** Concentraciones de dióxido de carbono por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el valor máximo permitido para la Ley Federal de Derechos (CONAGUA)

## Nutrientes

### Nitritos

En la temporada de secas la mayoría de las estaciones rebasaron la concentración de 0.05 mg/L, estipulada para uso y consumo humano (NOM-127-SSA1-1994), solo la estación nueve se encontró por debajo de los límites. En contraste, para el inicio de lluvias sólo la estación siete rebasó la norma con 0.063 mg/L. Los niveles de nitritos fueron aceptables al término de la temporada de lluvias, los valores fluctuaron entre 0.017 mg/L y 0.031 mg/L (Fig. 12).

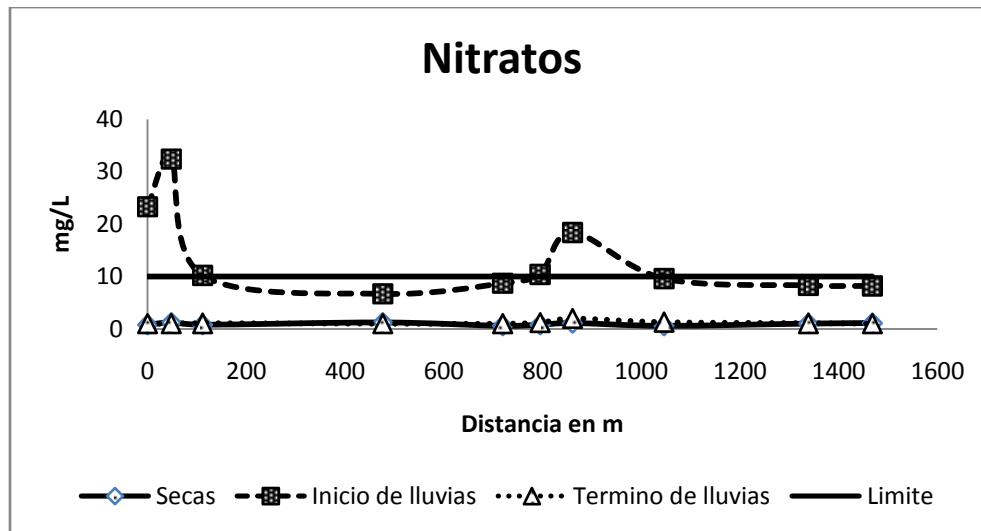




**Fig. 12.** Concentraciones de nitratos por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido por NOM-127-SSA1-1994.

## Nitratos

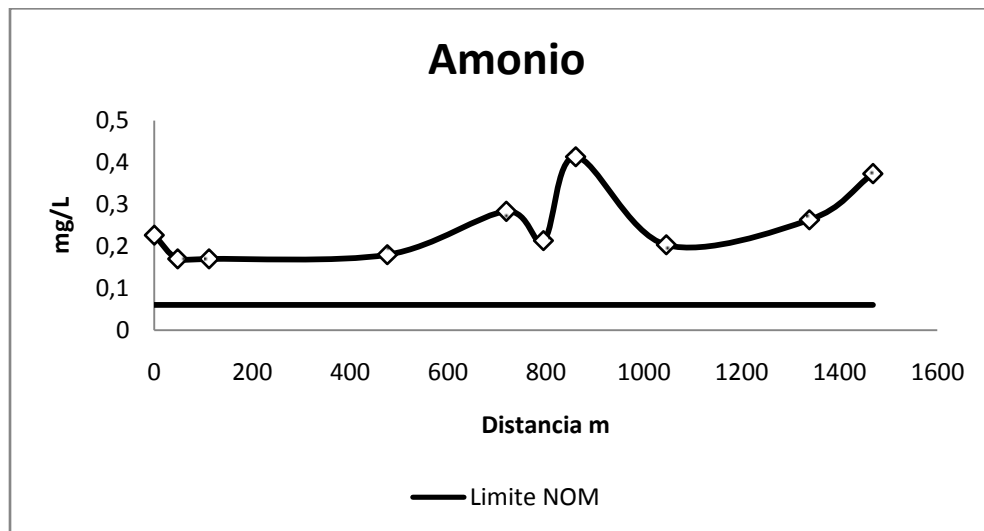
Como se mencionó anteriormente solo se rebasaron los límites aceptables de nitratos (10mg/L) en la temporada de inicio de lluvias(NOM-127-SSA1-1994). En esa colecta, tres de las estaciones rebasaron los niveles máximos estipulados, dos estuvieron muy cercanas al límite y cinco estuvieron por debajo. Aparentemente la cercanía de la población de Bejucos no tuvo relevancia en el comportamiento de este parámetro. Las concentraciones de nitratos fueron aceptables en las otras dos colectas. En la temporada de secas las concentraciones a lo largo del río fluctuaron entre 0.6 y 1.2 mg/L y en la colecta del término de lluvias entre 1 y 1.3 mg/L(Fig. 13).



**Fig. 13.** Concentraciones de nitratos por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido por NOM-127-SSA1-1994.

## Amonio

Los niveles de amonio fueron malos en el río Bejucos. Todas las estaciones rebasaron la concentración de 0.06 mg/L establecida como límite para protección de la vida acuática de agua dulce, según CONAGUA en la Ley Federal de Derechos de 2009. Los niveles menores se registraron en las estaciones seis (0.21 mg/L) y ocho (0.20 mg/L), que difirieron de la estación siete, la cual tuvo la mayor concentración, 0.41 mg/L (Fig. 14).

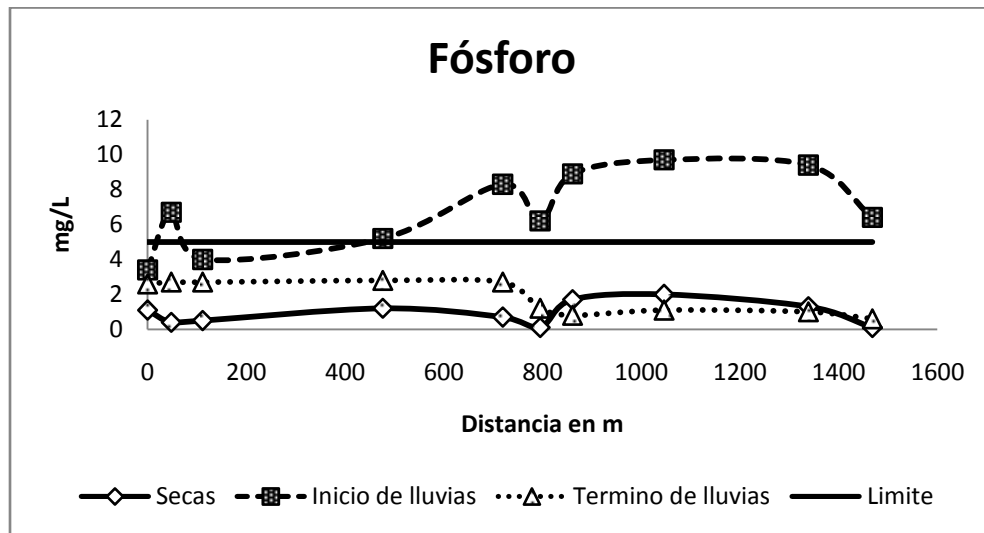


**Fig. 14.** Promedio de las concentraciones de amonio a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo aceptable para la protección de la vida acuática, Ley Federal de Derechos (CONAGUA).



## Fósforo

El fósforo mostró niveles por encima de las normas únicamente en la temporada de inicio de lluvias en que se rebasó la concentración de 5.0 mg/L establecida como límite máximo permisible para uso público urbano (NOM-001-ECOL-1996). Solo dos estaciones mostraron valores inferiores al límite, ambas ubicadas al inicio del trayecto analizado. Ocho estaciones rebasaron los valores aceptables. Los valores más altos se registraron en las estaciones siete (8.9 mg/L), ocho (9.7 mg/L) y nueve (9.4 mg/L). En las temporadas de secas e inicio de lluvias, las condiciones fueron aceptables (Fig. 15).

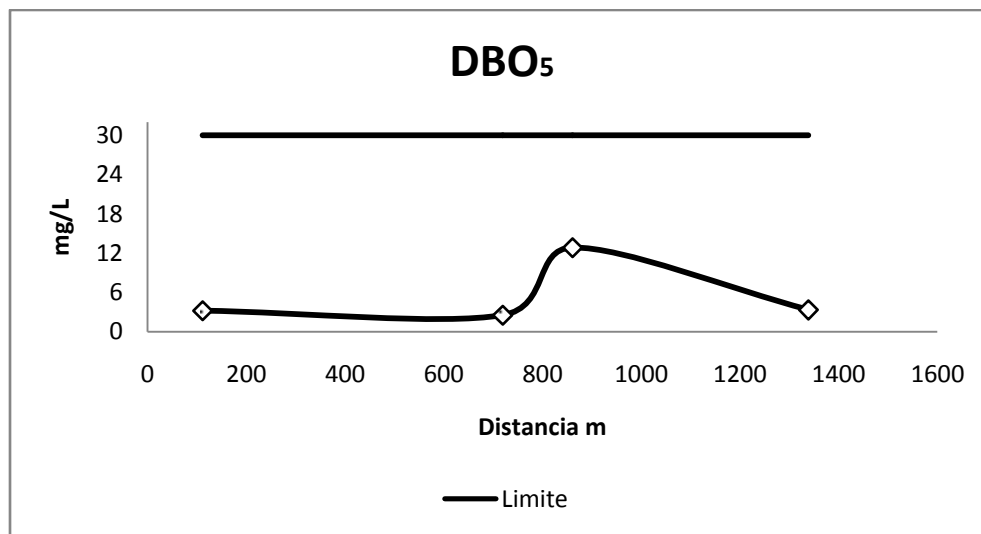


**Fig. 15.** Concentraciones de fosforo a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido por la NOM-001-ECOL-1996.

## Comportamiento espacial de los contaminantes en el río Bejucos.

### DBO<sub>5</sub>

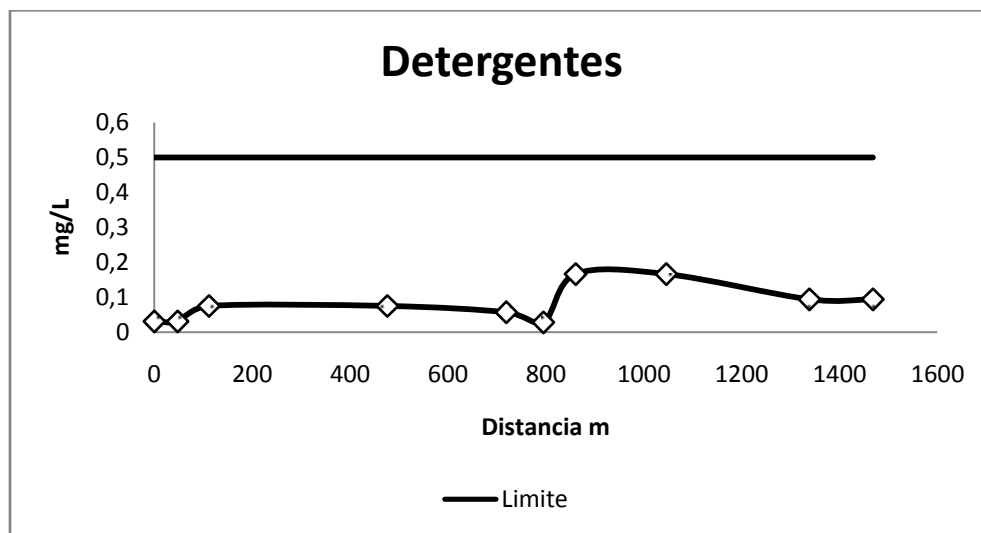
Los niveles de DBO<sub>5</sub> indicaron que el contenido de materia orgánica del agua era aceptable para los usos que se da al agua del río. El nivel más alto se registró en la estación siete con un promedio de 12.6 mg/L (Fig. 16). Los valores registrados se consideraron aceptables, ya que no rebasaron los 30 mg/L, concentración que muestra indicios de contaminación (NOM-001-ECOL-1996)



**Fig. 16.** Promedio de las concentraciones de detergentes a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido establecido por la NOM-001-ECOL-1996.

## Detergentes

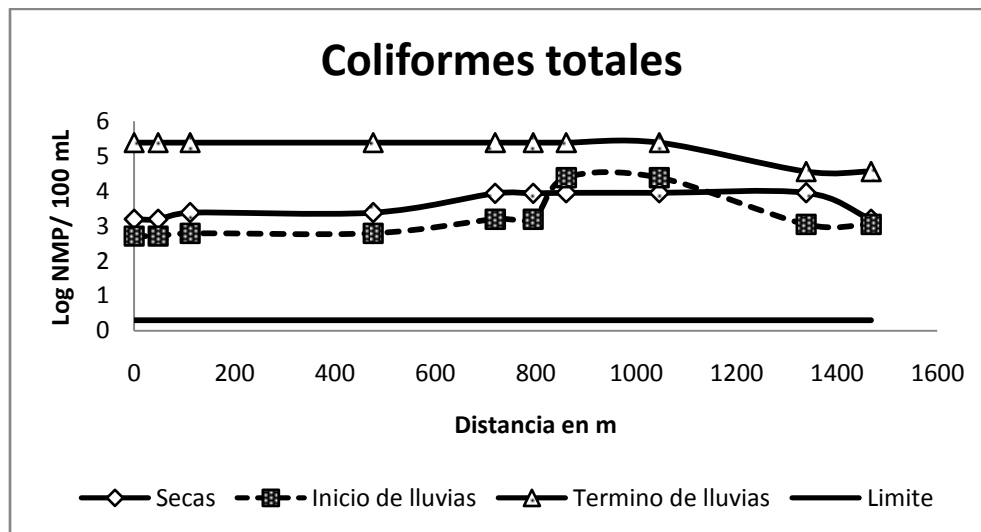
Para este parámetro no rebasó la concentración límite de 0.50 mg/L para el uso y consumo humano(NOM-127-SSA1-1994) en ninguna estación. Sin embargo, los máximos niveles obtenidos a lo largo del cauce del río mostraron variaciones. Las estaciones siete y ocho tuvieron en promedio 0.16 mg/L, las nueve y diez tuvieron 0.09 mg/L. Los valores mínimos se registraron en las estaciones uno, dos y seis, con valores de 0.03 mg/L o inferiores (Fig. 17).



**Fig. 17.** Promedio de las concentraciones de detergentes a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido establecido por la NOM-127-SSA1994.

### Coliformes totales

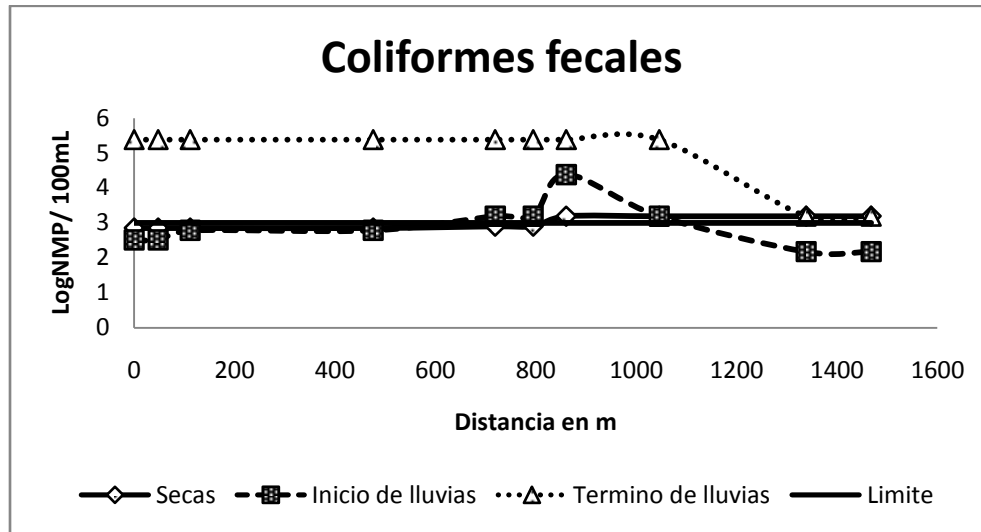
Todas las muestras rebasaron el límite máximo permisible para el uso y consumo humano (NOM-127-SSA1-1994), la cual es 2 NMP/100 mL. Para la temporada de secas, las máximas concentraciones (entre 8,656 y 8,883 NMP/100 mL) se obtuvieron entre las estaciones cinco a nueve; mientras que las mínimas fueron 1,549 NMP/100mL. En el inicio de lluvias las estaciones siete y ocho, registraron hasta 24,000 NMP/ 100 mL, mientras que el resto de las estaciones tuvo valores inferiores a 1,550 NMP/ 100 mL. En la colecta del término de lluvias se registraron valores que superaron el límite de detección de la prueba, mostrando concentraciones superiores a 240,000 NMP/100mL en las primeras siete estaciones, con un decremento abrupto hasta 35,752 NMP/100mL (Fig. 18).



**Fig. 18.** NMP de coliformes totales por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido para la NOM-127-SSA-1994

### **Coliformes fecales.**

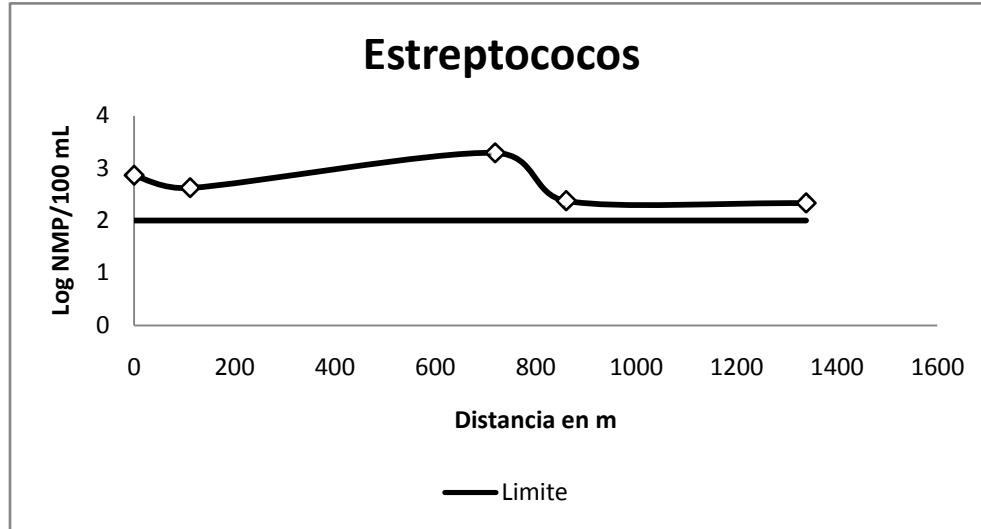
Siendo 1,000 CF el límite para uso público urbano, riego agrícola, y protección a la vida acuática de acuerdo a la NOM-003-ECOL-1997 y por CONAGUA en la Ley Federal de Derechos (fuente de abastecimiento), el río Bejucos mostró una mala calidad sanitaria. En la temporada de secas estos límites se rebasaron en el 40% de las muestras, hubo un incremento evidente a partir de las estaciones cinco y seis que tuvieron 803 NMP/100 mL, a la siete con 1,549 NMP/100 mL. Desde esta última estación hasta la diez se rebasó el límite. En el inicio de las lluvias la estación siete registró el valor más alto, el cual fue 24,000 NMP/100mL, por lo que su concentración se encontró muy arriba de lo aceptable; lo mismo sucedió para las estaciones cinco, seis, y nueve cuyas concentraciones fueron 1,549 NMP/100mL. En la colecta del término de lluvias las estaciones uno a la ocho se mantuvieron constantes con 240,000 NMP/100mL, en contraste la estación nueve y diez tuvieron 1,549 NMP/100 mL. En esta colecta, todas las estaciones rebasaron el límite aceptable (Fig. 19).



**Fig. 19.** NMP de concentraciones de coliformes totales por estación y por temporada de colecta a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido para la NOM-003-ECOL-1997 y Ley Federal de Derechos (CONAGUA)

### Estreptococos

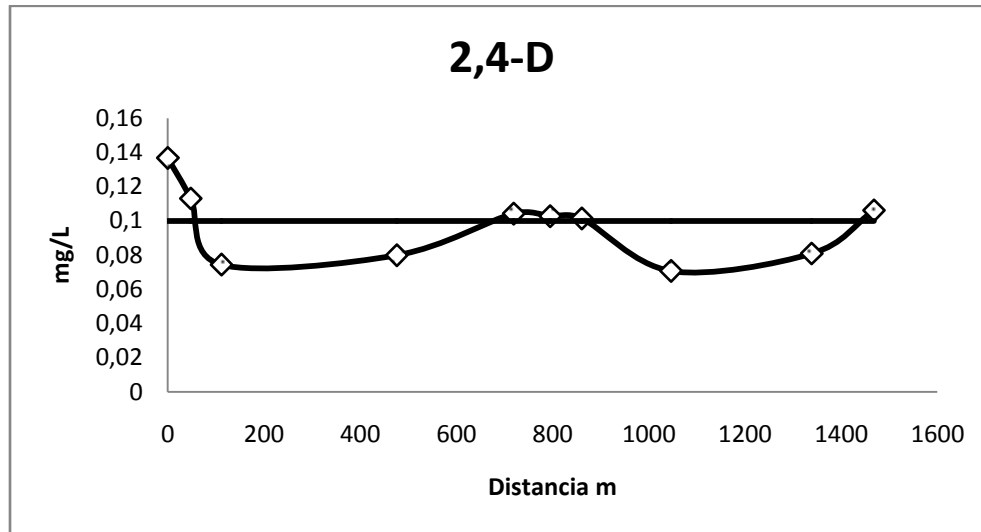
Considerando los valores promedio de estreptococos fecales, todas las estaciones presentaron concentraciones por arriba del límite aceptable de acuerdo a los requisitos y especificaciones de sustentabilidad de calidad de playas NMX-AA-120-SCFI-2006, cuyo límite es 100 NMP/100mL (Fig. 20). Siendo las estaciones uno, tres y cinco las que presentaron los niveles más elevados.



**Fig. 20.** NMP de estreptococos a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite de NMX-AA-120-SCFI-2006.

### 2,4-Diclorofenoxiacético

Los valores promedio del 60% de las estaciones rebasaron los límites máximos permitidos para fuente de abastecimiento para uso público urbano Ley Federal de Derechos (2009), la cual establece 0.1 mg/L como valor máximo. Las concentraciones de estas estaciones fluctuaron entre 0.106 a 0.136 mg/L (Fig. 21).

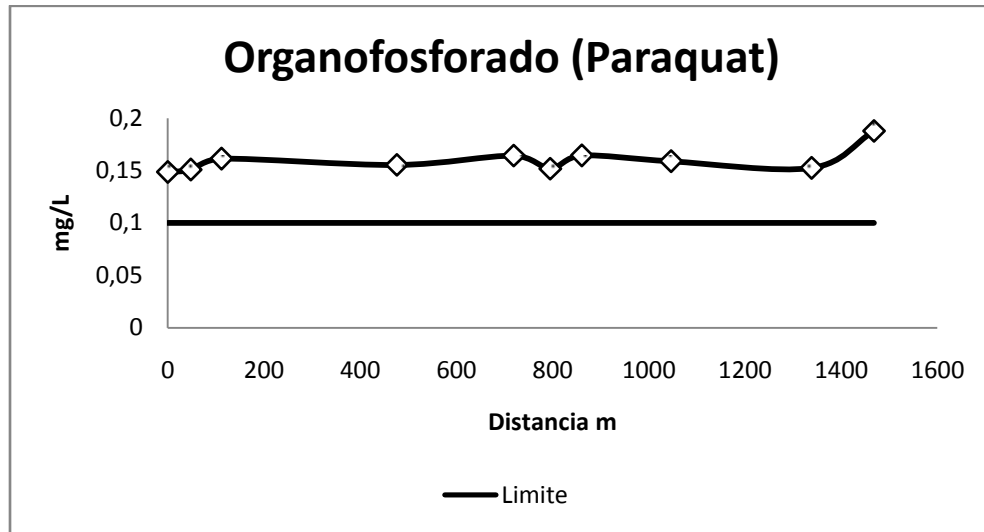


**Fig. 21.** Promedio de las concentraciones de 2,4-D a lo largo del río Bejucos. La línea representa el límite máximo permitido por la Ley de Federal de Derecho de 2009

### Organofosforado (Paraquat)

Este análisis se realizó como un método indirecto para evaluar la presencia de plaguicidas organofosforados, entre los cuales se incluye el Paraquat, plaguicida de amplio uso en la zona de colecta. Por este motivo se considera una medida indirecta de los posibles niveles de este plaguicida. Las concentraciones se mantuvieron uniformes, con valores promedio de 0.15, 0.17 y 0.15 mg/L en cada colecta, respectivamente. El nivel más bajo se registró en la estación número uno con 0.14 mg/L, las demás estaciones fluctuaron entre 0.15 y 0.18 mg/L. En todas las estaciones se detectaron niveles elevados de acuerdo al límite establecido por Hamilton *et al.*, 2008(Fig. 22).





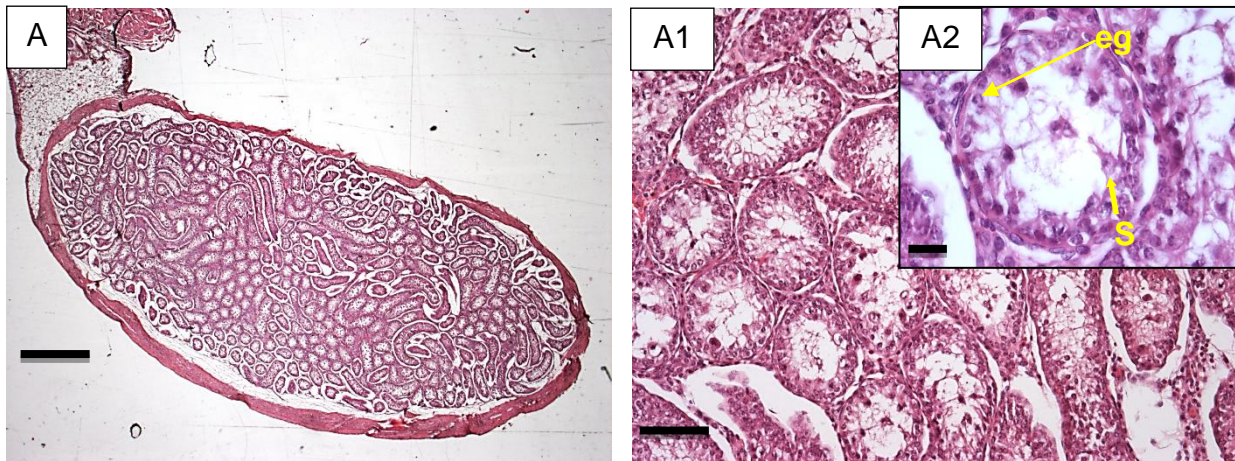
**Fig. 22.** Promedio de los datos de organofosforados a lo largo del río Bejucos. La línea representa el valor límite establecido por Hamilton et al., 2008 para agua.

### 3.3. Histopatología

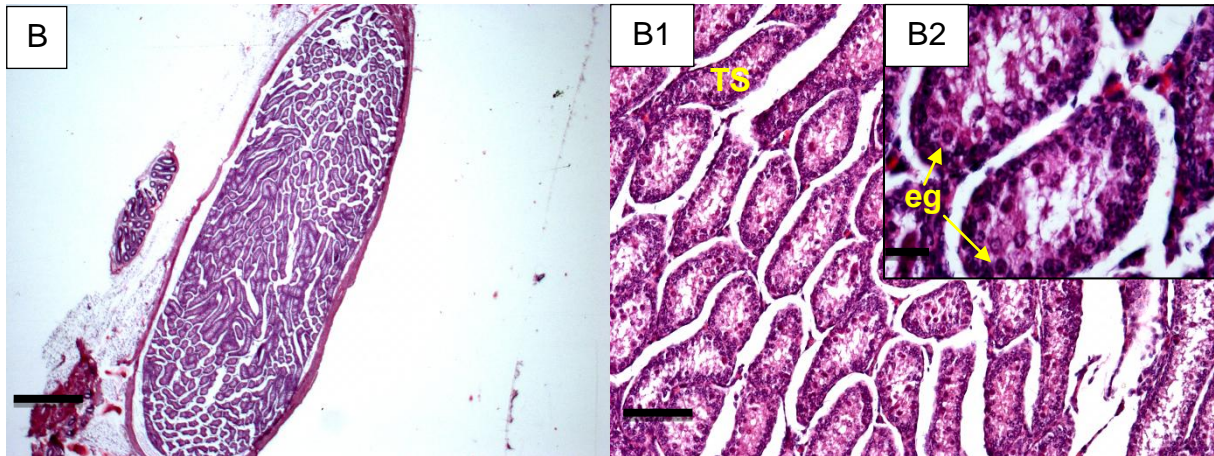
De los 36 ejemplares diseccionados, se analizaron un total de 540 cortes histológicos en microscopio de campo claro; 270 fueron de gónada y 270 de hígado. Para fines prácticos, sólo se presentan las fotomicrografías de los cortes obtenidos en los órganos de estudio de ejemplares capturados en cuatro estaciones de muestreo: A (zona control), C (sitio 6 para toma de muestras hidrológicas), G (sitio 7) y B (sitio 9). Se determinó que la estación A sería el control para ejemplificar las condiciones normales en la organización tisular en gónada e hígado, por estar en una zona lejana al río y a las actividades antropogénicas. Los ejemplares de esta localidad no mostraron lesiones y sirvieron como referencia para identificar alteraciones en los tejidos; el sitio C mostró el panorama tisular más común observado en los cortes de los especímenes de las estaciones I a K, ubicadas antes del poblado de Bejucos; en el sitio G se registraron alteraciones histológicas que no se observaron en los demás sitios de colecta; el sitio B mostró la tendencia general en la organización tisular de las estaciones F, H, D, y E, ubicadas río abajo de la población.

### 3.3.1. Gónada

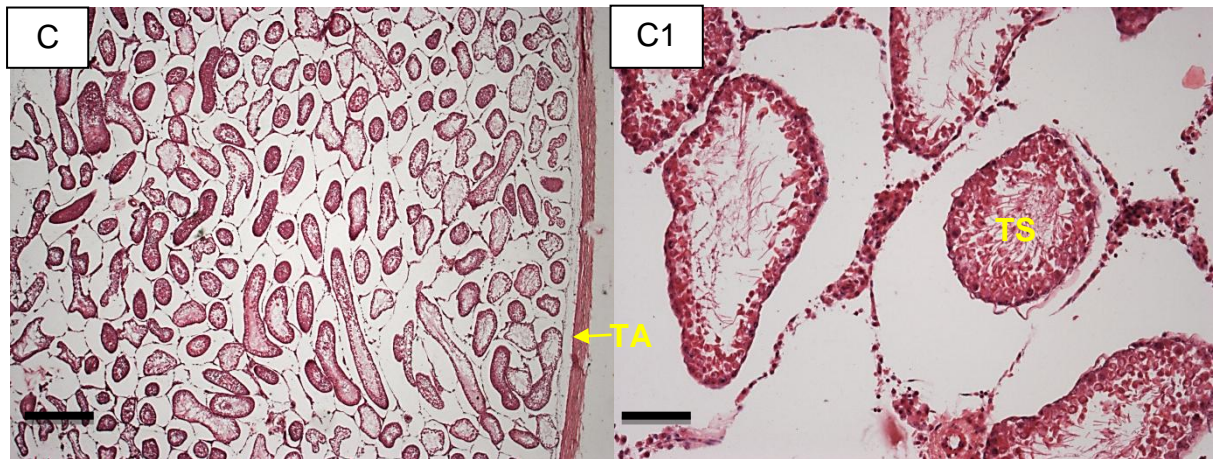
Los órganos reproductores, no mostraron ninguna alteración en la organización tisular del aparato reproductor masculino en la zona control (Figura 23); a diferencia de los ejemplares colectados en la zona de mayor alteración (sitio 7), los cuales presentaron una anatomía característica de época reproductiva (Figura 25) y que difirió del resto de los sitios de colecta (Figuras 24 y 26).



**Figura 23. Órgano:** testículo de zona control. Se observan células de Sertoli (s) y espermatogonia (eg) en túbulos seminíferos con organización normal (A. Tinción H-E. Barra = 700 µm), (A1. Tinción H-E. Barra= 100 µm y A2. Tinción H-E. Barra =25µm).

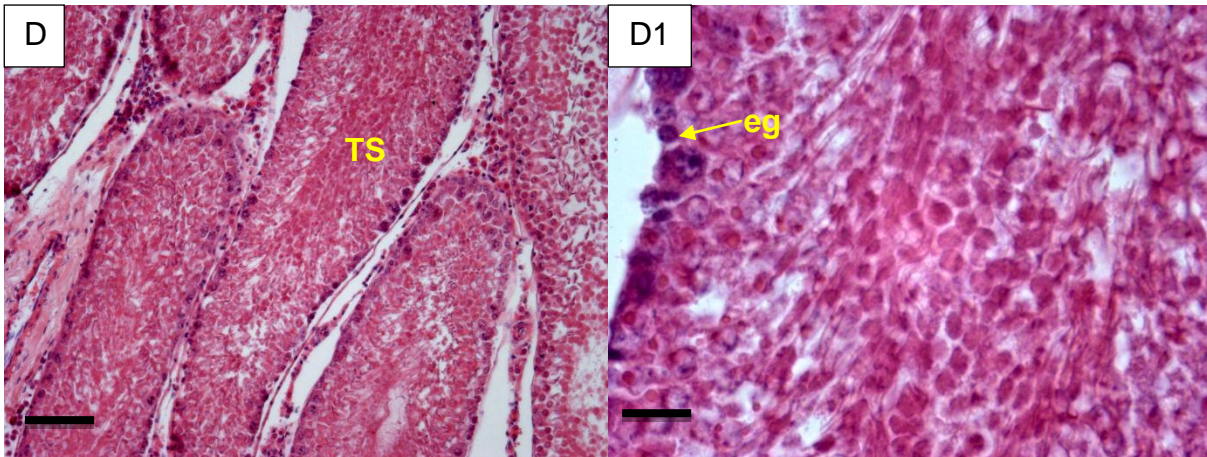


**Figura 24.** Órgano: testículo desitio seis. Se observan espermatogonias (eg) en túbulos seminíferos (TS) con organización normal (B. Tinción H-E. Barra = 700  $\mu$ m, B1. Tinción H-E. Barra= 100  $\mu$ m, y B2. Tinción H-E. Barra =25 $\mu$ m)



**Figura 25.** Órgano: testículo desitio siete. Se observan los túbulos seminíferos (TS), túnica albugínea (TA) en espermatogénesis. Anatomía característica en etapa de reproducción (C. Tinción H-E. Barra = 700  $\mu$ m y, C1. Tinción H-E. Barra= 100  $\mu$ m).

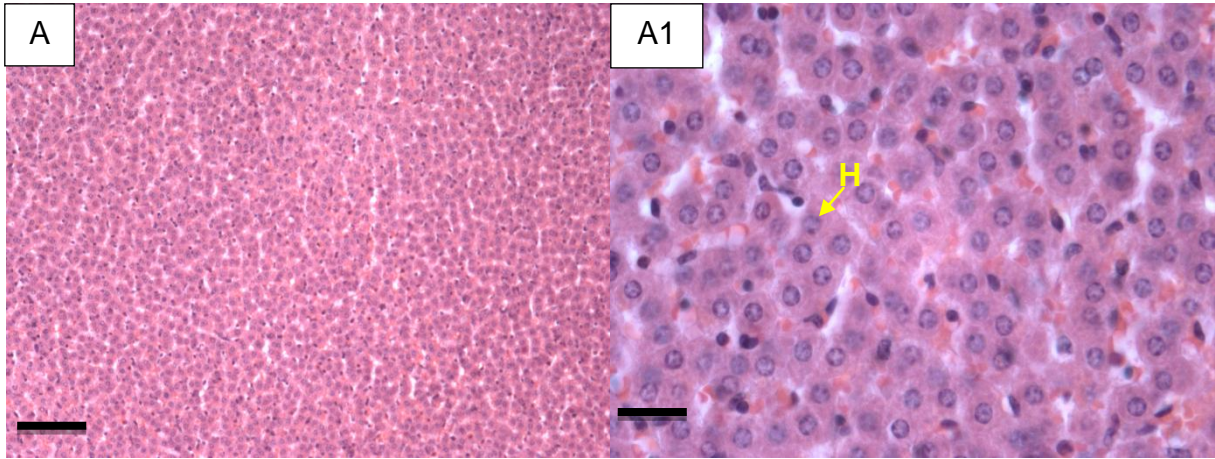




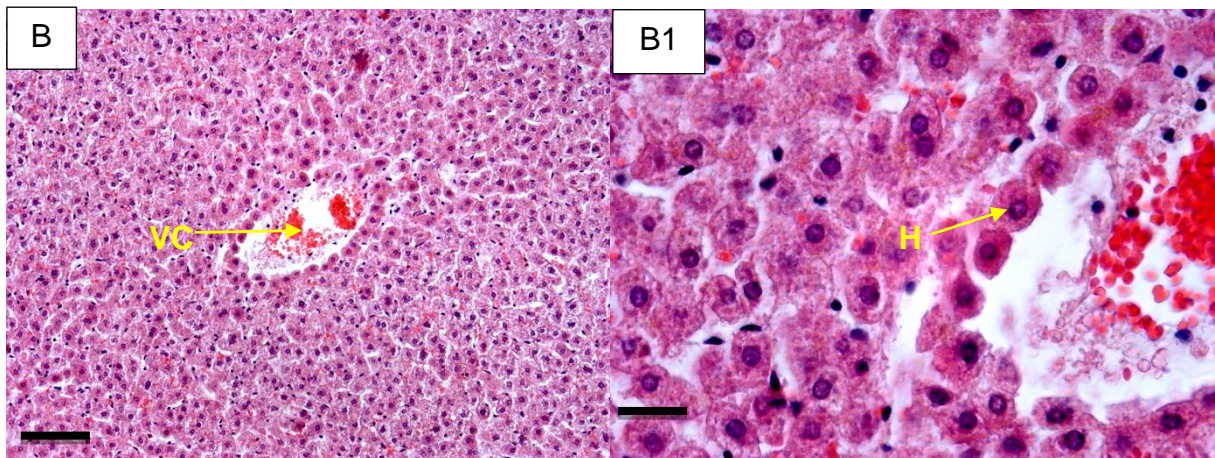
**Figura 26.** Órgano: testículo desitionueve. Se observan espermatogonia (eg) en túbulos seminíferos (TS) con organización normal (D.Tinción H-E. Barra= 100  $\mu$ m, y D1. Tinción H-E. Barra =25 $\mu$ m).

### 3.3.2. Hígado

Los estudios histológicos, indicaron que en la zona control no se presentó alteración en la organización tisular hepática (Figura 27); mientras que en la zona ubicada en las cercanías del drenaje y cultivos (sitio 7) se observó presencia de depósitos leucocitarios en el hígado, representados por neutrófilos (Figura 29). Esto difiere de lo observado del resto de las estaciones de colecta (Figura 28 y 30), en las cuales no se observaron estas alteraciones.

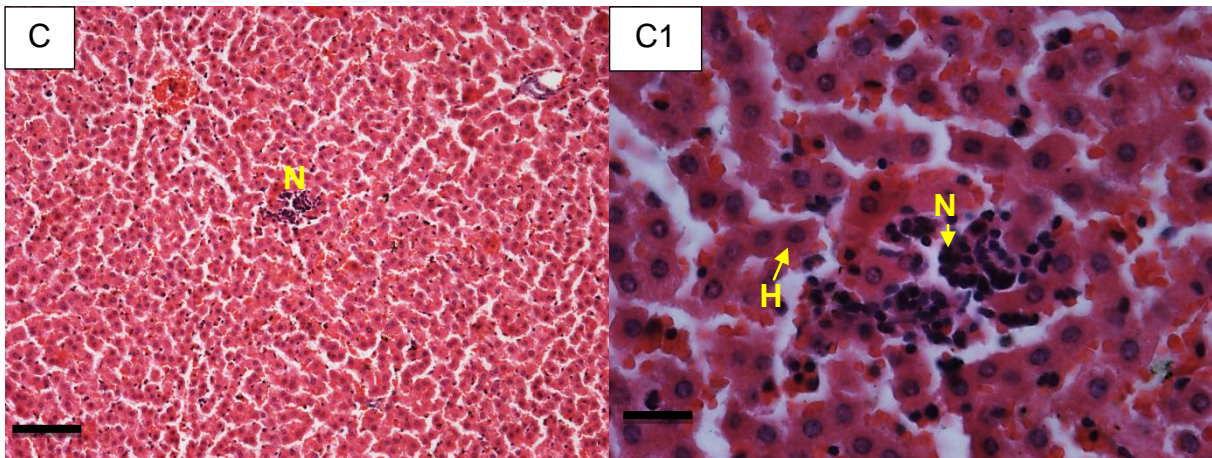


**Figura 27.** Órgano de estudio: hígado de la **zona control**. Se observan hepatocitos (H) bien definidos con organización tisular normal (A. Tinción H-E. Barra = 100 $\mu$ m y A1. Tinción H-E. Barra= 25 $\mu$ m).

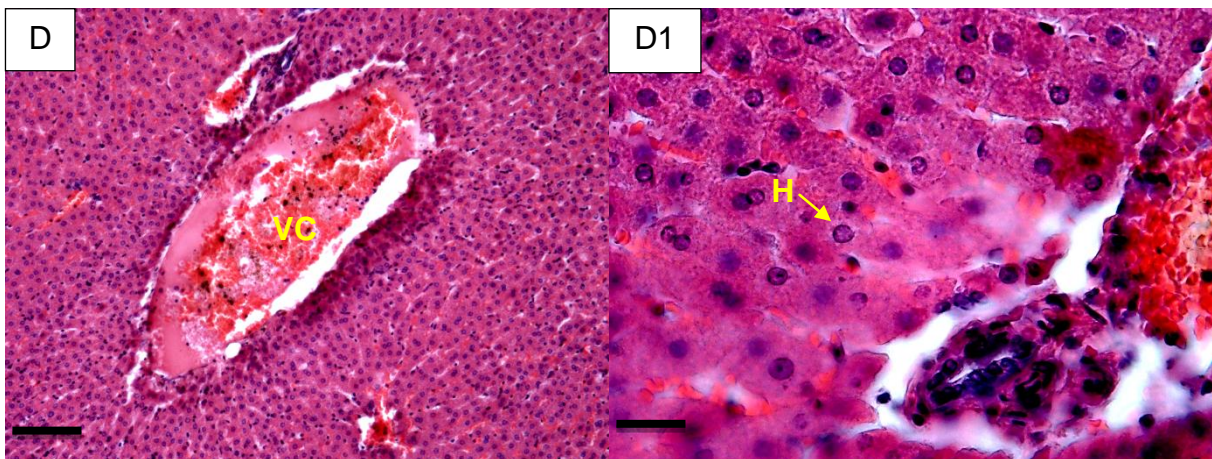


**Figura 28.** Órgano de estudio: hígado **sitio seis**. Se observan hepatocitos (H) y la vena central (VC). Anatomía de organización tisular normal, es decir, sin presencia de leucocitos (B. Tinción H-E. Barra = 100 $\mu$ m), (B1. Tinción H-E. Barra= 25 $\mu$ m).





**Figura 29.** Órgano de estudio: hígado de **sitio siete**. Se observa depósito leucocitario representado por neutrófilos(N) alrededor de los hepatocitos (H), (C. Tinción H-E. Barra = 100µm), (C1. Tinción H-E. Barra= 25µm).



**Figura 30.** Órgano de estudio: hígado de **sitio nueve**. Se observan hepatocitos (H) y la vena central (VC). Organización tisular normal (D. Tinción H-E. Barra = 100µm), (D1. Tinción H-E. Barra= 25µm).

El 16% de las muestras revisadas mostraron depósitos leucocitarios en hígados y gónadas con anatomía característica de reproducción. Estos ejemplares fueron colectados en la estación G o sitio 7 del río Bejucos.

### **Contaminantes en tejido de *S.adocetus*.**

Se midió la concentración de organofosforados, 2,4-D y de cadmio sólo en hígado, debido a que este fue el órgano que presentó alteraciones histológicas evidentes que involucran una afectación del sistema inmune (leucocitos).

En cuanto al Paraquat (organofosforado), los especímenes capturados en los sitios C, G y B rebasaron el límite de 0.005 mg/Kg establecido por FAO/OMS para residuos de Paraquat para carne (de mamíferos distintos a los mamíferos marinos). Los valores más elevados registrados en hígado se encontraron en organismos colectados en las estaciones C y G durante el inicio de la temporada de lluvia 0.484 mg/Kg y 0.692 mg/Kg, respectivamente (Tabla 7). Esto representa valores 100 veces por arriba del límite aceptable. En contraste, los organismos colectados en la zona control (estación A) no mostraron un nivel de organofosforados detectable con la técnica de análisis aplicada.

En el caso del herbicida 2,4-D, todos los ejemplares presentaron niveles superiores al límite de 0.2 mg/Kg establecido por la FAO/OMS para residuos de 2,4-D para carne (de mamíferos distintos a los mamíferos marinos). Nuevamente, los ejemplares que llegaron a presentar valores más altos fueron los capturados en el sitio 6 (0.329 mg/Kg) y 7(0.475 mg/Kg) durante la el inicio de la temporada de lluvia. Los organismos de la zona control no mostraron niveles detectables de 2,4D.

El análisis de contenido de cadmio en hígado indicó que los ejemplares del sitio 7 (estación G) del río tuvieron 0.152 mg/Kg y 0.134 mg/Kg de cadmio, niveles



superiores a los aceptables en carne para consumo humano, que es 0.1 mg/Kg. Los ejemplares restantes mostraron niveles inferiores a los aceptables, en promedio tuvieron 0.01 a 0.09 mg/Kg. En los organismos de la zona control se detectaron 0.008 mg/Kg en promedio.

Los límites utilizados para la comparación, son los establecidos para cumplir con los requisitos del comercio entre países NOM-004-ZOO-1994, que están estipulados para el control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñones de bovino, equinos, porcinos y ovinos. Estos límites se utilizaron porque la ardilla es consumida como alimento en la zona.

**Tabla 7. Concentraciones de 2,4-D, organofosforados y cadmio registrados en hígado *S. adocetus* límites establecidos en la legislación mexicana.**

<b>Sitio-temporada</b>	<b>Organofosforados mg/Kg</b>	<b>2,4-D mg/Kg</b>	<b>Cadmio mg/Kg</b>
Control-secas	0.000	0.000	0.009
Control-ini.lluvia	0.000	0.000	0.010
Control-term.lluvia	0.000	0.000	0.006
6-secas	0.053*	0.200*	0.019
6-ini.lluvias	0.484*	0.321*	0.023
6-term.lluvias	0.142*	0.235*	0.022
7-secas	0.203*	0.207*	0.094
7-ini.lluvias	0.692*	0.475*	0.152*
7-term.lluvias	0.235*	0.339*	0.134*
9-secas	0.042*	0.282*	0.037
9-ini.lluvias	0.246*	0.260*	0.076
9-term.lluvias	0.203*	0.264*	0.051
Límites aceptables (mg/Kg)	0.005 <sup>1</sup>	0.200 <sup>2</sup>	0.100 <sup>3</sup>

1. Límite máximo de residuo de Paraquat para carne (de mamíferos distintos a los mamíferos marinos) FAO/OMS 2010.
2. Límite máximo de residuo de 2,4-D para carne (de mamíferos distintos a los mamíferos marinos) FAO/OMS 2010.
3. NOM-004-ZOO-1994, productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias.

Los contenidos de los herbicidas y el cadmio no se analizaron en gónada, porque no se observaron alteraciones importantes a nivel tisular. Solo en los ejemplares colectados en las estación G se evidencio espermatozoides que indica un desfase del desarrollo gonádico

## **4. DISCUSIÓN**

#### **4.1. Actividades antropogénicas en el río Bejucos.**

Durante las tres colectas llevadas a cabo en el periodo 2010-2011, se registraron diversas actividades en el río Bejucos. En la temporada de seca se pudo observar una gran cantidad de espuma en el río, producto de la utilización de este cuerpo de agua para el aseo personal y el lavado de vestimenta y de automóviles, sin embargo el detergente no mostró niveles elevados en el agua. El sitio donde se concentra la mayoría de la gente para poder ejecutar su limpieza y la de sus artículos fue la estación 5. Este sitio se caracteriza por ser la parte menos profunda y la más accesible al poblado, existen varios caminos bien despejados para llegar al río y hay mayor concentración de casas sobre dicho y trayecto.

A partir del sitio 5 y hasta el 10, fue frecuente la presencia de ganado en las orillas e interior del río, debido a que los ganaderos guían a su hato para que puedan beber agua y bañarlos. Esta situación ocasiona que en este trayecto se pueda percibir el olor característico de las excretas y a simple vista se puede detectar excremento tanto en las orillas como en la propia agua. Aunado a ello, los propios lugareños suelen nadar durante las tardes para aliviarse el calor, a pesar de las condiciones visibles en las que se encuentra el río. Además de la situación provocada por el ganado y el aseo personal, a unos cuantos metros de la estación 5, se encuentra el ingreso de agua residual proveniente del poblado a través de un pequeño canal construido por los lugareños. Este se utiliza para verter los desperdicios domésticos y así eliminarlos lo más pronto posible, ya que parte de la población no cuenta con drenaje, en especial la que se encuentra en las cercanías

del río. Así, el aporte de este tipo de agua se adiciona al problema que ocasiona el ganado. También se observó en las orillas una gran cantidad de comida que es arrojada en este sitio para que las gallinas y cerdos puedan alimentarse, por lo que de igual manera se logra apreciar una buena cantidad de heces derivada de estos animales y que en buena parte se encuentran depositadas en los márgenes del río, lo que contribuye aún más a la contaminación orgánica del río. Por otro lado, aparentemente el río tiene suficiente movimiento como para impedir que la contaminación por materia orgánica represente un problema, ya que  $DBO_5$ , no mostró niveles elevados.

Cabe destacar que antes de que termine la temporada de secas, los lugareños empiezan a preparar las tierras para la siembra de caña, sorgo, frijol, alfalfa, papa y chile, entre otros cultivos. Por lo que desvían y acarrear agua del río Bejucos para regar las semillas que ya fueron previamente sembradas, también para poder combinar los plaguicidas y hacer las respectivas fumigaciones a los cultivos.

Durante la temporada de lluvia, se apreciaron actividades diferentes, llevadas a cabo tanto por los pobladores, como por los turistas. Por parte de los pobladores se observó el constante uso y riego con productos químicos (herbicidas) para combatir la maleza de los cultivos. El manejo de estos productos es llevado a cabo por la gente adulta del pueblo, estas personas no cuentan con equipo especializado para la aplicación de los plaguicidas y tampoco con el equipo de protección personal. Solo en ocasiones utilizan un paliacate y un sombrero para cubrir el rostro. Los propios agricultores mencionan que para tener una mayor

efectividad con los herbicidas en poco tiempo, ellos combinan los productos de Hierbamina (2,4-D) y el Gramoxone (Paraquat). La mayoría de los agricultores no cuentan con estudios y en caso de tenerlos solo es la primaria o secundaria. Aunado al desconocimiento de los productos químicos, los vendedores solo les indican para qué sirven los productos y las cantidades que deben aplicarse, pero no los requerimientos de seguridad que deben tomar en cuenta al aplicarlos. Es frecuente que los envases donde contenían estos herbicidas sean tirados: en los márgenes del río (lugar donde posteriormente acampan los turistas), en el interior de los huertos de frutas, o en el basurero que fue clausurado, pero que se sigue utilizando. Esto se debe a que el basurero autorizado se encuentra sobre el cerro ubicado a la entrada del pueblo, es decir, a una distancia mayor. Los botes depositados en dicho basurero suelen encontrarse sobre el río gracias a que las lluvias ocasionan escorrentías que transportan dichos contenedores. Cabe destacar que en las cercanías del basurero, los pobladores suelen pescar para autoconsumo o venta al público.

Los pobladores que cuentan con pocos recursos económicos, utilizan como alimento al cuinique (*Spermophilus adocetus*), y suelen cazarlos en los márgenes del río donde estos habitan o en los huertos y cultivos. Según ellos la ardilla tiene beneficios medicinales, como evitar la diabetes y controlar la presión arterial. Por ello la gente que tiene estos padecimientos también la consume.

La influencia de las actividades humanas en el río fue evaluada a través de la caracterización de la calidad del agua, la cual se describe a continuación.

## 4.2. Condiciones hidrológicas del río Bejucos.

### Parámetros fisicoquímicos.

Los resultados obtenidos indican que la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto y la dureza no rebasaron los límites máximos permisibles de acuerdo con la ley federal de derechos del 2009 (uso urbano y protección para la vida acuática).

La temperatura y el pH no presentaron diferencias significativas entre las épocas del año analizadas. Se observó un incremento de la temperatura entre las estaciones 6 y 7, que puede relacionarse con el ingreso de agua residual que existe en esa zona. Incrementos de la temperatura han sido observados cuando se incorporan aguas residuales a cuerpos de agua, ya sea por infiltración directa o por aportes subterráneos (Rodríguez, 2009). En cambio la disminución del pH entre las estaciones 6 y 7 puede relacionarse con el aumento de la temperatura en esa zona. Ya que la temperatura afecta la constante de disociación del agua, que a su vez influye en las concentraciones relativas de los iones hidronio e hidroxilo. Aunque también puede asociarse con los aportes de agua provenientes de los domicilios o escorrentías de drenajes; los cuales pueden contener materia orgánica que acidifica el agua (Fuentes y Massol, 2002; Solís *et al.*, 2011).

El dióxido de carbono presentó niveles superiores al valor de referencia de 10 mg/L, durante las temporadas de seca e inicio de las lluvias. Este parámetro no mostró una variación específica en cuanto a las localidades. Los elevados valores de dióxido de carbono durante la época de seca pueden tener varios orígenes: la

difusión del dióxido de carbono atmosférico, la disminución de los niveles de agua y la corriente (Fuentes & Massol, 2002; Obregón, 2006; Roldán, 2008)

El oxígeno disuelto y la dureza presentaron un decremento en las estaciones 6 y 7 en la temporada de seca e inicio de lluvia, que puede atribuirse al ingreso del agua residual.

El oxígeno nunca fue limitante para la vida acuática, aunque el valor mínimo registrado en la estación 10 fue de 6.8 mg/L en la época seca y se considera aceptable para el desarrollo de los organismos (Bain & Stevenson, 1999; EPA, 1997). El valor promedio de este parámetro en esta época también fue menor comparado con las demás temporadas (10.0 mg/L), esto puede deberse a la falta de movimiento de la masa de agua del río, cuyo volumen disminuye considerablemente; y cuando esto sucede los peces quedan confinados en un nivel del agua menor y por lo tanto existe un mayor consumo de oxígeno. Esto es característico en los cuerpos de agua durante el periodo de secas; aunado a ello, el incremento de la temperatura en el agua favorece la disminución del oxígeno disuelto e incrementa el dióxido de carbono. En el río Bejucos se observó una correlación negativa entre la temperatura y el oxígeno disuelto en el agua ( $R^2 = -0.74$ ,  $P < 0.01$ ), como es de esperar por el comportamiento que existe entre estas variables. Además, otros factores como la presencia de materia orgánica y el menor volumen de agua pueden contribuir al menor nivel detectado de  $O_2$  y los valores elevados de  $CO_2$  durante la temporada de seca.



El aumento en el volumen de agua y la mayor corriente durante la época de lluvia modificó los parámetros como el oxígeno disuelto, cuyos valores aumentaron, y puede ser la causa de la disminución del  $\text{CO}_2$  hasta niveles típicos de ríos, y la disminución de la dureza (Arocena & Conde, 1999; Goyenola, 2007). Cabe destacar que las concentraciones de oxígeno registradas durante la temporada de lluvias ( $>12$  mg/L) indican que el sistema estaba sobresaturado. Mientras que los valores registrados en la temporada de secas fueron menores al nivel de saturación (10 mg/L), a pesar de lo cual, se consideraron aceptables para la vida de la gran mayoría de especies de peces y otros organismos acuáticos (Bain & Stevenson, 1999).

Existen cuerpos acuáticos con diferentes niveles de dureza, propiedad que depende de la cantidad de carbonatos contenidos en el agua. El agua del río Bejucos corresponde a un agua muy dura ( $> 180$   $\text{CaCO}_3$  /mg/L) durante la temporada de seca, dura (121 – 180  $\text{CaCO}_3$ /mg/L) en el inicio de las lluvias, y blanda (0 – 60  $\text{CaCO}_3$ /mg/L) al término de las lluvias (Catalán, 1969; Mora, 1999). Las variaciones de este parámetro en función de época del año están ligadas a la cantidad de agua que ingresa al río de forma natural y a la fuerza de las corrientes que arrastran los minerales (Rodríguez, 2009). En Bejucos podemos observar que las corrientes y nivel del agua del río disminuyen en la época seca, lo que favorece el depósito de minerales, incluyendo el  $\text{CaCO}_3$ ; y aumentan, conforme hay mayor ingreso de agua durante la temporada de lluvias. El pH afecta las especies iónicas de  $\text{CO}_2$  en el agua, los valores de pH registrados en el río Bejucos fueron entre 8.0

y 8.1, que indican predominancia del  $\text{HCO}_3^-$ . Este parámetro no representó peligro a la fauna acuática o a la salud (Solís-Garza, *et al.*, 1996 y 2000; Strocker&Seager, 1981).

### **Nutrientes**

Los nitritos rebasaron el límite permisible para uso y consumo humano en la temporada seca, mientras que los nitratos y el fósforo lo hicieron en el inicio de lluvia. El amonio rebasó los límites aceptables siempre. Respecto a la espacialidad, los nitritos, los nitratos, el amonio y el fósforo, presentaron valores elevados entre las estaciones 6 y 7 durante el periodo de estudio.

Las variaciones temporales de los nitratos y nitritos pueden relacionarse con la deposición atmosférica, escorrentía superficial y subterránea, la disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno, la descomposición biológica de la materia orgánica y la fijación del nitrógeno por algunos organismos procariontes, así como a fuentes antropogénicas entre las que identificamos a la deposición de excretas, desechos municipales y desechos alimentarios y desde luego el uso de fertilizantes (Camargo, 2007; Fuentes&Massol, 2002). Particularmente en la zona de Bejucos esto puede ser la causa principal del comportamiento de los nutrientes, ya que no tuvieron un comportamiento asociable a los aportes de agua residual, debido a que se registró poca presencia de materia orgánica.

Un factor que afecta las concentraciones de nitrógeno en los ecosistemas acuáticos, es el oxígeno disuelto. Los ecosistemas ricos en oxígeno (> 0.3 mg/L) pueden fijar bien el nitrógeno, mientras que a concentraciones menores no se

pueden sostener el proceso de nitrificación. A pesar de los elevados niveles de oxígeno, los aportes de fertilizantes pueden impedir un reciclado adecuado de nutrientes, ya que las concentraciones en el río se consideraron altas por rebasar los valores considerados por las normas oficiales mexicanas. La presencia de altas concentraciones de materia orgánica disuelta puede inhibir de forma indirecta a las bacterias nitrificantes. Aunque en Bejucos este no fue el caso, ya que la  $DBO_5$  fue baja. En condiciones limitantes de oxígeno, los heterótrofos aerobios y anaerobios facultativos compiten con las bacterias nitrificantes por el oxígeno disuelto disponible. Esto hace que el proceso de descomposición de materia orgánica se realice con más facilidad. Un parámetro relevante en la nitrificación es el pH. En un pH bajo, la nitrificación también disminuye, el pH óptimo para este proceso oscila entre 8 y 9. Las condiciones de Bejucos por lo tanto eran apropiadas para un proceso de nitrificación adecuado. Finalmente, la temperatura también está asociada positivamente con la nitrificación, ya que al disminuir la temperatura ( $< 15^{\circ}C$ ) la nitrificación disminuye y cuando aumenta la temperatura ( $15^{\circ}C$  a  $35^{\circ}C$ ) la nitrificación se eleva (Fuentes & Massol, 2002; Masters & Wendell, 2008). En Bejucos los niveles de temperatura fueron siempre mayores a  $15^{\circ}C$ .

Niveles elevados de amonio aparecen como resultado de los procesos de descomposición de la materia orgánica y como resultado del metabolismo de organismos acuáticos, ya que algunos de estos, son amoniotélicos, es decir sus desechos nitrogenados consisten principalmente de amonio. Sin embargo, en la

zona de estudio hay un factor más que estaría contribuyendo a estos elevados niveles, la actividad agrícola de la zona, ya que al aumentar las lluvias, se incrementa el uso de abonos nitrogenados. Por lo anterior, los niveles de amonio se consideran tanto un índice de la actividad biológica, como un índice de contaminación (Fernández-Alba *et al.*, 2010; Russo, 1985).

Las concentraciones relativas de  $\text{NH}_4$  y  $\text{NH}_3$  también dependen del pH y la temperatura del agua (Russo, 1985); a medida que los valores de pH y temperatura aumentan, la concentración de  $\text{NH}_3$  también aumenta pero la concentración de  $\text{NH}_4$  disminuye (Camargo, 2007). El amoniaco se encuentra en cantidades notables cuando el medio es fuertemente reductor pero en Bejucos no fue el caso. En un medio oxidante, el ion amonio se transforma en nitrito. Se le considera un constituyente normal de las aguas superficiales y está íntimamente relacionado con descargas recientes de desagües. Cuando su concentración es mayor de 0.1 mg/L (como N), como en el caso de Bejucos, podría constituirse en un indicador de contaminación por aguas residuales domésticas o industriales. Esta sustancia se encuentra presente en aguas residuales y es producido, en su mayor parte, por la eliminación de compuestos que tienen nitrógeno orgánico y por la hidrólisis de la urea (Marbello, 1997; Ramírez, 1998; Roldan, 2008).

Finalmente, los niveles de fósforo, podrían asociarse a dos factores. En el primer caso los detergentes domésticos y en el segundo los fertilizantes. Los detergentes son considerados como contaminantes de naturaleza orgánica; se disuelven bien en el agua, contaminando sus ríos, lagos y manto freático, lo que provoca, junto

con otros nutrientes, la eutrofización de estos cuerpos. Muchos de los detergentes contienen fosfatos o nitrógeno y su proporción puede llegar a ser hasta el 40% en relación al peso. El fósforo en los detergentes secuestra iones de calcio o magnesio, que en aguas duras impiden la acción limpiadora del jabón (Alfonso & Pérez, 2010; Castiglioni, 2010). Sin embargo, el análisis de correlación canónica de la concentración del fósforo con los detergentes, no mostró correlación en ningún momento en Bejucos. El segundo factor responsable de los niveles relativamente elevados de fósforo, pueden ser los fertilizantes que se utilizan en la zona. El agua del río Bejucos presentó diferentes niveles de dureza pasando de ser muy dura, a dura y a blanda entre temporadas, de acuerdo al análisis canónico hubo una relación entre la cantidad de fósforo y la dureza ( $R^2 = 0.725$ ,  $P < 0.01$ ) en la época de termino de lluvias. Considerando lo anterior, la fuente del fósforo pueden ser los fertilizantes y los detergentes; si el fósforo estuviera asociado a los detergentes, la disminución de la dureza durante lluvias, debería asociarse al incremento del fósforo; sin embargo, al existir niveles bajos de detergentes se atribuye más al incremento de los fertilizantes en los plantíos.

## Contaminantes

### DBO5

La DBO<sub>5</sub> no tuvo diferencias entre las temporadas y los niveles no indicaron contaminación orgánica importante. Sin embargo se registraron 12.6 y 13.3 mg/L promedio en la estación siete, lo cual puede deberse al ingreso de agua residual proveniente del poblado de Bejucos. El agua residual suele estar cargada de microorganismos de origen fecal. La descomposición de materia orgánica nitrogenada (ej. proteínas, bases nitrogenadas, urea, etc.), llevada a cabo por microorganismos, así como por plantas y animales acuáticos, ocasionan la disminución de las concentraciones de oxígeno y el aumento de CO<sub>2</sub>. Aunado a esto, las temperaturas altas aceleran el proceso de descomposición (Díaz *et al.*, 2003). La aireación por el movimiento del agua favoreció la oxigenación en la época de lluvia, sin embargo, los altos niveles de CO<sub>2</sub> parecen indicar que en la época de secas, cuando no hay suficiente aporte de agua, existe descomposición de materia orgánica. De manera que, a pesar de que la DBO<sub>5</sub> no sea elevada, las altas concentraciones de bacterias parecen corroborar que sí existe aporte de materia orgánica.

Los resultados de DBO<sub>5</sub> indican que la contaminación por materia orgánica no es un problema en el río, sin embargo los detergentes pueden tener influencia en el comportamiento de la DBO<sub>5</sub> (Marshe & Polkowski, 1972; Masters & Wendell, 2008).

## **Detergentes**

Los detergentes no representaron un contaminante importante en el río Bejucos y las concentraciones mostraron cierta uniformidad, con un ligero incremento asociado a la estación 7.

Los detergentes son considerados contaminantes por los problemas que ocasionan en el ambiente acuático, entre estos se pueden citar la disminución del oxígeno disuelto en el agua, la inhibición del proceso de fotosíntesis, y en casos extremos impiden la respiración de los peces, además inhiben los procesos funcionales de las bacterias, que degradan la materia orgánica. Entre los agentes espumantes se agrupan todos los compuestos tensoactivos que, por su naturaleza, en mayor o en menor grado, producen espuma cuando el agua es agitada. La causa principal reside en la presencia de residuos de los detergentes domésticos, como el alquil-sulfonato lineal (LAS) y el alquil-sulfonato bencénico ramificado (ABS) (Alfonso & Pérez, 2010). Su acción más importante en las aguas superficiales está relacionada con la interferencia en el poder autodepurador de los recursos hídricos, debido a la inhibición de la oxidación química y biológica. Como consecuencia de esto, aun en aguas fuertemente contaminadas, la determinación de la carga orgánica biodegradable ( $DBO_5$ ) suele presentar valores bajos. Esto se debe, entre otras causas, a que las bacterias en presencia de detergentes, se rodean de una película que las aísla del medio e impide su acción. Lo anterior puede estar sucediendo en Bejucos debido a que existe una gran cantidad de bacterias y bajos valores de  $DBO_5$ ; además, al correlacionar los

detergentes con la  $DBO_5$  se observaron correlaciones directas en las temporadas de inicio de lluvia ( $R^2=0.84$ ,  $P=0.04$ ) y al término de estas ( $R^2= 0.80$ ,  $P=0.03$ ).

Por otro lado, la solubilidad del oxígeno en aguas que contienen detergentes es menor que en aguas libres de ellos. En niveles elevados de detergentes disminuye la difusión del oxígeno desde aire a través de la superficie del agua (Alfonso & Pérez, 2010). Los altos niveles de oxígeno disuelto del río Bejucos corroboran de alguna manera que los detergentes no se aportan en grandes cantidades.

### **Coliformes totales, fecales y estreptococos**

Con base en los resultados microbiológicos obtenidos, la calidad sanitaria del río Bejucos fue inaceptable e implica un riesgo a la población que tiene contacto con ella. La estación del año que presentó las concentraciones más elevadas para estos parámetros fue el término de la temporada de lluvias, ya que los coliformes totales presentaron un promedio de 199,150 NMP/100 mL, los fecales 192 NMP/100 mL, y los estreptococos 1,716 NMP/ 100 mL, si bien no hubo diferencias significativas entre las épocas. Las condiciones fueron particularmente malas en las estaciones 6 y 7. El incremento de estos organismos durante la temporada de lluvias puede deberse a dos factores: el primero es el incremento de turistas en el río, y el segundo, el incremento en los niveles de agua que proviene de escorrentías y el incremento del nivel del agua que invade los corrales de ganado ubicados a orillas del río, los cuales se encuentran al descubierto en la época de secas. Esto corroboraría lo estipulado por Conway&Pretty, 1991; quienes mencionan que en las zonas rurales, este tipo de contaminación se origina por



defecación a campo abierto y a la presencia de animales domésticos y silvestres que actúan como reservorios de agentes patógenos. Al existir fecalismo se liberan estos microorganismos en el agua, encontrando en ésta un medio para distribuirse y reproducirse, ya que al considerarse termotolerantes pueden permanecer en el medio con rangos de temperatura de 10°C a 45 °C y pH 9.6 (Suárez, 2002). Las corrientes de los ríos se encargan de transportar y conducir estos microorganismos a los cuerpos de agua (Galárraga, 1984; OMS, 1995 y 1996; Vargas & Joseli, 1996). Además, el incremento que se presenta entre las estaciones 6 y 7 puede deberse al ingreso de agua residual sin ningún tratamiento.

#### **2,4-D**

Los niveles de 2,4-D en el río no tuvieron diferencias temporales y su distribución espacial no tuvo tendencias claras. Sin embargo, los niveles en el agua rebasaron las normas en algunos sitios. Como se mencionó anteriormente, se utilizan grandes cantidades de Hierbamina que se diluye con el agua proveniente de este cuerpo de agua, para regar los cultivos y estos al encontrarse en terrenos con pendiente, favorecen escorrentías que pueden estar cargadas de dicha sustancia, de manera que es movilizada por las corrientes del río.

## **Organofosforados (Paraquat)**

Del mismo modo, los compuestos organofosforados detectados no mostraron tendencias temporales ni espaciales, sin embargo, las concentraciones rebasaron el límite establecido por Hamilton *et al.*, 2008 para agua.

Los herbicidas organofosforados elaborados a base de Paraquat, como el Gramoxone, se utilizan en la zona para erradicar la maleza en las orillas del río y así poder cultivar. Este herbicida se biodegrada lentamente en el agua y en el suelo, tiene un tiempo de vida estimado en el subsuelo de 1,000 días. No experimenta hidrólisis, fotólisis ni volatilización desde el medio acuático (Moreno, 2003).

### **4.3. Efectos biológicos del 2,4-D y Paraquat**

El análisis histopatológico del hígado de *S. adocetus*, reveló daños en los ejemplares colectados en el sitio 7. Estos consistieron en la presencia de depósitos leucocitarios representados por neutrófilos, lo que indica una inflamación aguda. Dicha inflamación puede relacionarse con la presencia de los herbicidas 2,4-D y Paraquat detectados en el tejido mediante los kits de Elisa.

La vía oral es posiblemente de entrada de los herbicidas a la ardilla *S. adocetus* y responsable de una respuesta inmunológica hepática. La absorción de estos plaguicidas vía dérmica es deficiente debido a que la piel funciona como una barrera que imposibilita su penetración. Por vía aérea o inhalatoria estos compuestos suelen afectar preferentemente a los pulmones, los cuales tienden

biocumularlos hasta en un 97%, eliminado la fracción restante por vía renal. Los herbicidas clorofenoxiacéticos, como el 2,4-D, se absorben bien por la vía oral y respiratoria, mientras que lo hacen de forma escasa por la piel. Un 75% de lo absorbido se elimina inalterado por la orina en 4 días o por las heces (Moreno, 2003; Mencías, 2000).

El mecanismo de absorción de los herbicidas por vía oral, hacia el intestino delgado sería el transporte activo, este permite que los agentes xenobióticos pasen el epitelio del intestino y se dirijan hacia el hígado a través de los vasos sanguíneos de la circulación enterohepática, para penetrarlo a través de los vasos sinusoides. Los vasos sinusoides se caracterizan por carecer de una membrana basal. Esto permite que los agentes xenobióticos (herbicidas) tengan contacto directo con los hepatocitos. En el hígado se encuentran las células de Kupffer unidas a las células endoteliales de los espacios sinusoides; al ingresar el agente xenobiótico estas células son activadas, promoviendo su función de macrófagos, la síntesis y la liberación de mediadores proinflamatorios como reactivos de ROS, especies reactivas de nitrógeno y citoquinas. También en el hígado se encuentran presentes neutrófilos, que son células inmunitarias circundantes que juegan un papel importante en el proceso inflamatorio, mediante la fagocitosis, cuando hay liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y enzimas proteolíticas. Los neutrófilos son producidos en médula ósea y dirigidos al hígado como una de las primeras respuestas inmunes, lo que caracteriza la inflamación aguda (Repetto, 2009).

### **Toxicocinética del 2,4-diclofenoxiacético.**

Estos compuestos son inhibidores débiles de la fosforilación oxidativa y se comportan como tóxicos musculares y nerviosos (nervios periféricos) directos (Mencías, 2000). Los herbicidas pueden tener diferentes efectos biológicos dependiendo de las concentraciones, tiempo de exposición, vía de entrada, mecanismo de absorción y efecto tóxico. En el caso de exposición aguda al 2,4-D por vía oral, se presentan hemorragias de la mucosa del tracto intestinal, congestión, necrosis y edema del intestino, infiltración grasa, inflamación y necrosis hepática y degeneración de los túbulos renales. Se han reportado efectos teratogénos, cancerígenos (próstata) y reproductivos como atrofia de gónada y malformación espermática (Moreno, 2003; Albert, 2011).

La  $DL_{50}$  de 2,4-D vía oral para rata es de 300-700 mg/kg. La exposición diaria durante un año de 0 – 0.01 mg/kg de peso corporal en perros, y de 2 años en ratas, favorece el desarrollo de cáncer (Mencías, 2000). Las concentraciones detectadas de este herbicida en el tejido hepático de *S. adocetus* son superiores a la concentración asociada al desarrollo de cáncer. Sin embargo, el desarrollo de cáncer no pudo ser evidenciado mediante el análisis histopatológico en hígado. Los ejemplares colectados en la estación 6 en el inicio de lluvia y 7 en inicio y término de lluvia acumularon 2,4-D en concentraciones que se encuentran dentro del rango de la  $DL_{50}$  en rata.

### **Toxicocinética y toxicodinámica del Paraquat.**

La absorción de Paraquat es mínima a través de la piel ya que no se trata de una sustancia liposoluble. Por vía oral es del 5-10% de la dosis, y aun menor en presencia de comida en el tracto gastrointestinal. El compuesto presenta baja unión a proteínas plasmáticas y se distribuye prácticamente por los tejidos vascularizados (riñón, hígado, corazón y músculo estriado). La eliminación se produce por la vía renal con una metabolización insignificante, excretándose alrededor del 70% de la dosis al cabo de 48 horas. Entre el 20 y el 30% permanece en los tejidos (en músculo entre 15 y 20 días), para finalmente, excretarse por la orina, aunque en ese momento ya suele haber producido lesión renal. Una pequeña fracción del producto se elimina por la vía biliar (Mencías, 2000).

El mecanismo de toxicidad del Paraquat inicia con la formación de radicales libres (superóxido, peróxido de hidrógeno) debido a reducciones y oxidaciones sucesivas de la molécula del herbicida por la NADPH y el oxígeno, respectivamente. Esto origina una disminución de NADPH y la saturación de la capacidad de la superóxido dismutasa, con lo que se generan aún más radicales libres. Todo ello produce daño tisular por peroxidación de los lípidos de las membranas celulares, lo que forma más radicales libres, perpetuando el proceso (Mencías, 2000). Se estableció una concentración de 0-0.002 mg/kg de peso corporal por día para poder ocasionar efectos biológicos en los organismos. Tras la exposición oral se presentaron quemaduras en la cavidad oral y faringe, dolor

retroesternal, disfagia y gastroenteritis con náuseas, vómito, diarrea, necrosis hepática (desde daño transitorio a necrosis) y renal (proteinuria y hematuria que puede evolucionar a necrosis tubular aguda) (Albert, 2011; Mencías, 2000). Al igual que el herbicida 2,4-D, se detectaron en el río y en las ardillas, concentraciones de compuestos organoclorados superiores a los límites establecidos por la FAO/OMS para residuos de plaguicidas en carne de mamíferos distintos a los mamíferos marinos y para agua (Hamilton *et al.*, 2008). Las concentraciones registradas en los organismos rebasan el 0.002 mg/kg mencionado por OMS. Sin embargo, no pudimos evidenciar necrosis hepática asociada a la bioacumulación de este compuesto.

### **Disrupción endócrina por herbicidas**

La exposición de organismos silvestres a compuestos xenobióticos incluyendo los herbicidas, en la actualidad está siendo estudiada a profundidad (Rondón-Barraganet *et al.*, 2010). Cada vez se reportan más casos de disfunciones del aparato reproductivo derivadas de la exposición de plaguicidas, como disminución del recuento y funcionalidad espermática, pubertad precoz, cáncer testicular y malformaciones asociadas con problemas hormonales. Como respuesta a ello, se ha promovido una intensa actividad de investigación para caracterizar a estos compuestos, en función de su capacidad para alterar la homeostasis del sistema endocrino-reproductivo (Ankley&Giesy, 1998; Kendall *et al.*, 1998). Entre los compuestos disruptores que apenas se han reconocido están compuestos organoclorados y organofosforados presentes en la vida diaria. En la actualidad se

conocen unos 45 compuestos con propiedades disruptoras confirmadas, y unos 600 considerados potenciales disruptores endocrinos (Blundell, 2003). En general se tratan de sustancias lipofílicas, persistentes y bioacumulables. De acuerdo al listado de plaguicidas en el censo Europeo de disruptores endocrinos, el 2,4-D se encuentra ubicado en la categoría A, nivel 2, lo que significa, que se tiene sospecha de disrupción endocrina. El paraquat también se encuentra en la categoría A, pero en el nivel 3, que significa que no se tienen evidencias precisas de disrupción por lo que se encuentra en estudio (ISLAS, 2002; Olea *et al.*, 2002). Los dos herbicidas bajo estudio se detectaron en el hígado de las ardillas en concentraciones altas, y solo se hizo el estudio en este órgano por ser el primer órgano filtrador y por mostrar evidencias de inflamación hepática, sin embargo no se midieron los niveles en la gónada. De acuerdo con la literatura, la atrofia, malformación de espermatozoides o disminución en la cantidad de los mismos son resultados esperados. Sin embargo, hubo evidencia de tales, en cambio lo que se detectó fue la presencia de gónada masculina madura en espermatogénesis, con una anatomía característica de etapa de reproducción en 6 ejemplares de *S. adocetus* del sitio 7, por lo que surgió la hipótesis de que alguno de estos dos herbicidas puede estar funcionando como disruptor endócrino. Será necesario estudiar el sistema endocrino de la especie para poder relacionar la presencia de los espermatozoides en gónada con los plaguicidas. Sin embargo, considerando la clasificación de plaguicidas en el censo Europeo de disruptores endocrinos, cabe la posibilidad de que el 2,4-D este influyendo en el desfase del ciclo reproductivo de las ardillas en el sitio 7, ya que en ese sitio se detectaron los niveles más altos

de 2,4D en agua y en tejido. No hay que perder de vista también, que se detectó el Paraquat en altas concentraciones en los ejemplares del mismo sitio 7, y, aunque no hay sospecha de disrupción endocrina en este compuesto organoclorado, aún no se sabe que efectos sinérgicos puede generar la combinación que hacen los agricultores del 2,4-D y el Paraquat.

En caso de que tal tipo de efectos fuera generado por los herbicidas, se han podido evidenciar cuatro vías de acción: 1. Unión y activación de receptores estrogénicos –androgénicos (xenoestrógenos y xenoandrógenos). 2. Unión sin activación del receptor estrogénico (actúan como antiestrógenos o antiandrógenos). 3. Modificación del metabolismo hormonal. 4. Modificación del número de receptores hormonales en la célula (Argemiet *al.*,2005).

#### **4.4. Efectos biológicos de Cadmio**

Este metal se registró en altas concentraciones en el hígado (entre 0.134 y 0.152 mg/Kg) de ejemplares colectados en el sitio 7 (o estación G) con respecto al límite (0.1 mg/kg) de la NOM-004-ZOO-1994, aceptable para control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bóvidos, equinos, porcinos y ovino. Se sabe que en animales jóvenes este elemento se absorbe rápidamente respecto a los animales viejos (Moreno, 2003). Casi el 50% se retiene en el hígado y en riñones. Algunas fuentes que contribuyen a la contaminación por cadmio en el ambiente acuático son los cigarrillos, las baterías de níquel-cadmio y los pigmentos hechos con base de este metal, aunque también suele aparecer como impureza de minas de cobre y plomo. Esto puede estar sucediendo en Bejucos, ya que, de acuerdo a



los pobladores existen minas de cobre. El basurero también puede estar contribuyendo con dicho metal al medio acuático, ya que en el río se depositan los desperdicios del pueblo, entre los que se pueden encontrar pilas, baterías de carros, botellas diversas, colillas de cigarrillos, etc. Además de que en la temporada de lluvias la basura suele caer en las corrientes del río como resultado del arrastre y escorrentías en la época de lluvias pudiendo, lo que contribuirá a la presencia y deposición de este metal.

### **Toxicocinética y toxicodinámica del cadmio.**

Solo se absorbe el 6% por ingestión y esta proporción puede variar en función de varios factores como las proteínas, calcio y hierro. Dentro de los organismos, se transporta unido a la hemoglobina, metalotioneína y albúmina. Se deposita en la corteza renal, hígado y testículos. Se elimina por vía gastrointestinal y renal, pero muy lentamente, teniendo una vida media larga de 10 a 30 años (Mencías, 2000).

El cadmio inhibe las enzimas con grupos sulfhidrilo (tioles). Estimula la glucólisis e inhibe la respiración celular, la síntesis de proteínas, la absorción del hierro, etc. Interfiere en el metabolismo del zinc y del calcio. Al alterarse la función renal se pierden por la orina aminoácidos, glucosa, minerales, calcio y fósforo. Como mecanismo defensivo el organismo estimula la síntesis de metalotioneína, especialmente en el hígado (Mencías, 2000). La intoxicación aguda por vía oral produce un cuadro gastrointestinal tipificado por náuseas, vómitos, diarreas y dolores abdominales (Albert, 2011). La intoxicación crónica puede desarrollar nefropatía cádmica con daño tubular renal proximal, proteinuria de origen tubular,

aminoaciduria, glucosuria, osteoporosis, dolores óseos, dolor lumbar (Albert, 2011, Mencías, 2000). El daño observado en ejemplares colectados en la localidad 7 podría no estar asociado a este metal, ya que si bien suele depositarse en hígado, sus efectos se observan más a nivel gastrointestinal, riñón y sistema óseo.

Al ser organismos silvestres, las ardillas *S. adocetus* están expuestas a múltiples factores ambientales que también contribuyen a las modificaciones histológicas observadas. Existe aún la necesidad de corroborar que la entrada de los plaguicidas a los organismos haya sido a través del alimento o del agua. A pesar de la incertidumbre en varios campos, *S. adocetus* funcionó adecuadamente como indicador biológico en el río Bejucos, sus hábitos territoriales implican poco desplazamiento de los ejemplares a otras zonas y por ello se puede tener cierta seguridad en la relación de las modificaciones histológicas por la acumulación de los plaguicidas.

## **5. CONCLUSIÓN**

## **Actividades antropogénicas sobre el río Bejucos**

- La zona que comprende los sitios 6 y 7, fue donde hubo mayor actividad humana en las tres temporadas de colecta, actividad pesquera y turística, estos sitios se ubican en las cercanías del ingreso de agua residual, los cultivos y el basurero, y presentaron alteraciones en los nutrientes, parámetros fisicoquímicos, y altos niveles de contaminación. El oxígeno disuelto, el CO<sub>2</sub> y la dureza presentaron una disminución entre las estaciones 6 y 7 durante la temporada de seca e inicio de lluvia, que podrían asociarse al ingreso de agua residual.

## **Parámetros fisicoquímicos**

- La temperatura, el pH, el oxígeno disuelto y la dureza se encontraron en condiciones aceptables en el río, mientras que el dióxido de carbono presentó valores altos respecto a las concentraciones usualmente registradas en este tipo de cuerpos acuáticos, en la temporada de seca e inicio de lluvia.
- Los parámetros fisicoquímicos que presentaron diferencias significativas temporales fueron el oxígeno disuelto, el dióxido de carbono y la dureza. El oxígeno disuelto mostró valores elevados en el inicio de las lluvias, mientras que el CO<sub>2</sub> y la dureza tuvieron valores altos en secas.
- A pesar de la disminución en la temporada de seca los niveles de oxígeno disuelto fueron favorables para la vida acuática. Los valores elevados del CO<sub>2</sub> durante seca se pueden deber a la descomposición de la materia orgánica, disminución de la corriente del río y el nivel bajo de agua.

- El río Bejucos presentó diferente dureza en función de la temporada de colecta, ocasionado posiblemente por la cantidad de agua que ingresa al río de forma natural en la época de lluvias.

## **Nutrientes**

- Los nitritos, nitratos y fósforo total presentaron diferencias significativas entre las épocas analizadas. Los nitritos rebasaron el límite en la temporada de seca. Mientras que los nitratos y fósforo lo hicieron durante el inicio de lluvia. El amonio presentó valores superiores al límite permisible en las tres temporadas de colecta.
- Los nitritos, nitratos, amonio y fósforo registraron concentraciones elevadas entre las estaciones 6 y 7, si bien estos niveles podrían asociarse con el ingreso de agua residual, también es posible que se originen en los fertilizantes que se utilizan en la zona. Además las variaciones en la concentración de los nitratos y nitritos pueden deberse a depositación atmosférica y geológica, escorrentía superficial y subterránea, la descomposición de materia orgánica, excretas, desechos alimentarios ya la fijación del nitrógeno por microorganismos.
- La utilización de fertilizantes ricos en nitrógeno y fósforo en las cercanías del río puede estar impidiendo un reciclado adecuado de los nutrientes, ocasionando que las concentraciones se mantengan altas. Los niveles elevados del amonio pueden ser resultado de la descomposición de la materia orgánica, metabolismo de los organismos acuáticos y el uso de abonos a base de nitrógeno.
- El aumento del fósforo puede ser originado por los fertilizantes que se utilizan en el lugar. Los fertilizantes ricos en fósforo contribuyen a la eutrofización y los

detergentes al secuestro de iones de calcio o magnesio en aguas duras, impidiendo la acción limpiadora del jabón.

### **Contaminantes**

- Los niveles de la  $DBO_5$  fueron bajos, indicaron un bajo aporte de materia orgánica, pero los niveles elevados de bacterias registrados indican lo contrario. La influencia de los detergentes en la actividad bacteriana puede ser la razón del registro de niveles bajos de  $DBO_5$ .
- Los detergentes no representaron un contaminante importante en el río Bejucos y las concentraciones mostraron cierta uniformidad, con un ligero incremento asociado a la estación 7. No hubo correlación entre el fosforo y los detergentes.
- La calidad sanitaria del agua del río Bejucos fue mala, e implica un riesgo para la población considerando las actividades a las que se destina el río que incluyen el turismo, del aporte de desperdicios de comida y las actividades ganaderas. El incremento de las bacterias en la estación siete puede deberse al ingreso de agua residual o los escurrientos de drenaje.
- Los niveles de 2,4-D y organofosforados (Paraquat) no tuvieron diferencias temporales y su distribución espacial no tuvo una tendencia clara, pero los niveles indicaron que en el río el 2,4-D, tiene niveles elevados en tres segmentos; el primero de ellos abarca una extensión de 48 m y son los sitios 1 y 2; el segundo comprende los sitios 5, 6, y 7, los cuales cubren una extensión de 145 m; mientras que el tercero fue el sitio 10 que se ubica a los 1468 m. En tanto el Paraquat presentó altas concentraciones lo largo de los 1468 m, que representan toda el

área de estudio del río Bejucos. El origen de la presencia de estos herbicidas en el río se asoció al abundante uso de estos productos para poder combatir la maleza, así como a la utilización de grandes volúmenes de agua para regar los cultivos ubicados a orillas del río y que regresa al río por escorrentía en la época de lluvia.

## **Histología**

- Los niveles detectados de 2,4-D y compuestos organofostorados en los ejemplares, rebasaron los límites aceptables en las estaciones C, G y B. Los niveles más altos de herbicidas y cadmio se registraron en la estación G.
- La estación G fue el único lugar donde se detectó inflamación hepática y presencia de espermatozoides en gónada, este sitio se encuentra ubicado cerca de la población de Bejucos.
- La inflamación hepática podría asociarse al herbicida 2,4-D, debido a que suele bioacumularse preferentemente en hígado y afectarlo. Esta conclusión también se apoya en el hecho de que el Paraquat, se considera un herbicida de contacto, agresivo, que ocasiona la muerte en la mayoría de los organismos y suele ocasionar cáncer o necrosis hepática, parámetros histológicos que no se observaron en *S. adocetus*.
- La presencia de 2,4D en ejemplares con presencia de espermatozoides en gónada, permite plantear la hipótesis de una posible asociación de este plaguicida con disrupción endocrina,

- La vía de ingreso probable de estos herbicidas hacia *S. adocetus* es la oral a través del agua, aunque no puede descartarse la posibilidad de que la vía de entrada sea el alimento.

### **Conclusión General**

Las actividades humanas han ocasionado alteración en el río Bejucos, con una disminución de la calidad del agua, al contribuir con aguas negras y residuos que favorecen al incremento de los nutrientes, dióxido de carbono, coliformes totales y fecales, estreptococos, 2,4-D y compuestos organofosforados hasta niveles por arriba de los aceptables.

La forma en que se utiliza el agua proveniente del río puede ser al mismo tiempo el vehículo para movilizar los herbicidas emitidos en los cultivos y la corriente del mismo contribuye a su dispersión.

Los niveles microbiológicos representan un riesgo para la salud de las personas que utilizan al río como fuente de recreación. La presencia de los corrales de ganado y animales domésticos en las orillas del río Bejucos, además de los desperdicios de comida dejados por los turistas, podrían estar contribuyendo a la proliferación de las bacterias; por lo que se deben tomar acciones de mitigación para tratar de disminuir la concentración de bacterias en dicho cuerpo de agua.

Los organismos colectados en la estación G, la de mayor alteración, podrían estar reflejando la contaminación. En dicha estación se detectaron los niveles más altos de herbicidas y cadmio en hígado. Los niveles de plaguicidas y cadmio detectados



en los organismos que mostraron daño histológico, implican riesgo para la salud humana por dos motivos: el primero es el consumo de esta ardilla como fuente de alimento, que involucra la acumulación directa; y el segundo, que la ardilla, como indicador biológico está demostrando el efecto de los niveles de contaminantes en la fauna silvestre que vive en la ribera del río Bejucos.

Finalmente, la presente investigación y resultados, representan un esfuerzo y contribución científica y social para Bejucos, ya que no existe información ecológica actualizada de los niveles de contaminación. Solo hay escasa información botánica que se realizó en los alrededores del poblado de Bejucos tiempo atrás. Tampoco existe información publicada sobre mamíferos, reptiles, anfibios y aves de este sitio; tampoco sobre la calidad del agua del río Bejucos. Por lo que la información que aquí se presenta puede ser la base para la toma de decisiones de manejo del río. En cuanto a la parte social, los resultados que aquí se reportan pueden servir para que los pobladores se informen sobre las condiciones y riesgos que representa el río, ya que para algunos pobladores dicho cuerpo de agua figura como su fuente de empleo y esparcimiento; mientras que para todo el poblado el río Bejucos es su símbolo de atracción turística.

La presente información se incorporará a la página Web del poblado ([www.bejucos.net](http://www.bejucos.net)), que es el medio de comunicación más importante de Bejucos, también se difundirá a la comunidad científica mediante publicaciones.

## **6. REFERENCIAS**

1. Abel, P.D. 1996. *Water pollution biology*. Taylor & Francis. EU., 156-159 p.
2. Albert, A. L. 2011. *Toxicología ambiental*. Limusa. México. 310 p.
3. Alfonso. I. D., G.C. Pérez. 2010. Evaluación ecotoxicológica de detergentes comerciales y naturales, como criterio de contaminación ambiental. *Revista electrónica de veterinaria* 11(03): 1-9.
4. Álvarez, T., J. Ramírez-Pulido. 1968. Descripción de una nueva subespecie de *Spermophilus adocetus* (Rodentia, Sciuridae) de Michoacán, México y estado taxonómico de *S. a. arcelsiae* (Villa, 1942). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 29:181-189.
5. Anguiano, F. 2005. *Conociendo los efectos adversos de los plaguicidas podremos cuidar nuestra salud y la del ambiente*. Universidad Nacional del Comahue. Argentina. 64 p.
6. Ankley, G.T., J.P. Giesy. 1998. Endocrine disruptors in wildlife: A weight of evidence perspective. In: Kendall, R., R. Dickerson., W. Suk., J.P. Giesy (Eds). *Principles and Processes for Assessing Endocrine Disruption in Wildlife*. Pensacola: SETAC Press. U.S., pp. 349–368.
7. Anón, F. 2005. *Questions and Answers about 2,4-D, Pest Management Regulatory Authority (PMRA)*. Canada. 60 p.
8. APHA. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th edition. American Public Health Association. Washington, D. C.
9. Arévalo, J. E. 2001. *Manual de campo para el monitoreo de mamíferos terrestres en áreas de conservación*. Asociación Conservacionista de Monteverde. Costa Rica. 16 p.
10. Argemi, F., C. Natalia., P. Andrés. 2005. Disrupción endocrina: perspectivas ambientales y salud pública. *Acta bioquímica clínica latinoamericana* 39(003): 291-300.
11. Arocena, R., D. Conde. 1999. *Métodos en Ecología de Aguas Continentales, con Ejemplos de Limnología en Uruguay*. DIRAC/FC/UDELAR. Montevideo. 233 p.
12. Aspelin, A.L. 2003. Pesticide usage in the United States: Trends During the 20th Century. *NSF CIPM Technical Bulletin 105*. NSF Center for Integrated Pest Management. Disponible en URL: [http://www.pestmanagement.info/pesticide\\_history/full\\_doc.pdf](http://www.pestmanagement.info/pesticide_history/full_doc.pdf).
13. Badii, M., J. Landeros. 2006. Efectos de los plaguicidas en la fauna silvestre. *Cultura científica y tecnológica* 3(14-15): 22-44.
14. Bain, M.B., N.J. Stevenson. 1999. *Aquatic habitat assessment: common methods*. American Fisheries Society. Maryland. 371 p.

15. Bascuñán, W. F. 2010. Crecimiento urbano y balance de CO<sub>2</sub> en la Cuenca del río Elqui (Chile). *Bosques* 31 (2): 109-116.
16. Bejarano, G. F. 2007. *2,4-D: razones para su prohibición mundial*. IPEN. México, 90 p.
17. Bendschneider, K., R.J. Robinson. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea-water. *Journal of Materials Research* 11:87-96.
18. Benton, T.G., D.M. Bryant., L. Cole., H.Q.P. Crick. 2002. Linking agricultural practice to insect and bird populations: a historical study over three decades. *Journal of Applied Ecology* 39(4): 673-87.
19. Best, L. T. 1995, *Spermophilus adocetus*. *Mammalian Species* 504: 1-4.
20. Betancourt, J. A., F.Q. José., O.C. Rogelio., A.R.V. Luz. 2006. Técnicas inmunoquímicas para el análisis de residuos de pesticidas. *Revista Universidad de Caldas* (3): 105 – 122.
21. Blundell, T. 2003. *Chemicals in products safeguarding the environment and human*. Royal Commission on Environmental Pollution. London, 307 p.
22. Burger, J., F. Díaz-Barriga., E. Marafante., J. Pounds., M. Robson. 2003. Methodologies to examine the importance of host factors in the bioavailability of metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56: 20-31.
23. Calderón, R. A., R.F. Serpa. 2003. Efectos del Paraquat sobre el crecimiento y la morfología de la microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Ecología aplicada* 2(1): 99-102.
24. Camargo, J. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas* 16 (2): 1-13.
25. Campa, M. F., J. Ramírez. 1979. *La evolución geológica y la metalogénesis del noroccidente de Guerrero*. Universidad Autónoma de Guerrero. Guerrero. 85 p.
26. Campbell, A. 1999. Declines and disappearances of Australian frogs. Canberra. *Environment Australia* (9): 26-36.
27. Capó, M.A. 2002. *Principios de Ecotoxicología. Diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente*. Mc Graw-Hill. España. 320 p.
28. Castiglioni, M. 2010. Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *Daphnia magna*. *The Biologist* 8(1): 43-53.
29. Ceballos, G., A. Miranda. 1986. *Los mamíferos de Chamela, Jalisco, Manual de Campo*. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 436 p.

30. Ceballos, G., Miranda, A. 2000. *Guía de campo de los mamíferos de la costa de Jalisco, México*. Fundación Ecológica Cuixmala, A.C. México. 502 p.
31. Ceballos, G., O. Gisselle. 2005. *Los mamíferos silvestres de México*. Fondo de Cultura Económica. México. 985 p.
32. Chyla, M.A. 1998. *Feathers and hair as non-destructive indicators of heavy metals pollution – a critical analysis*. Master of Science thesis. Department of Environmental Sciences and Policy. Central European University. Budapest (Hungria).
33. Chyla, M.A., I. Trzepierezynska., A. Chyla. 2000. *Animal hair as nondestructive indicator of heavy metal pollution – preliminary attempt*. 5th International Symposium of Environmental Contamination. Praga (República Checa).
34. Comisión Nacional del Agua. 2009. *Ley federal de derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales*. Diario Oficial de la Federación, México. Noviembre 13.
35. Contreras, E. F. 1984. *Manual de técnicas hidrobiológicas*. UAM. México. 150 p.
36. Conway, G.R., J. N. Pretty. 1991. *Unwelcome Harvest. Agriculture and Pollution*. Earthscan Publications Ltd. London, 676 p.
37. Cooney, J. D. 1995. *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. G. M. London. 71-102 p.
38. Davidson, C., H.B. Shaffer., M.R. Jennings. 2001. Declines of the California red-legged frog: climate, UV-B, habitat, and pesticides hypotheses. *Journal of Applied Ecology* 11(2): 464-79.
39. Davidson, C., H.B. Shaffer., M.R. Jennings. 2002. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate change hypotheses for California amphibian declines. *Journal Biological Conservation* 16(6):1588-601.
40. Detenal. 1977. Carta Geológica E14A55. Esc. 1: 50 000.
41. Detenal. 1978. Carta Edafológica E14A55. Esc. 1: 50 000.
42. Detenal. 1985. Carta Topográfica E14A55. Esc. 1: 50 000.
43. Diaz, D. C., F. Cheikh., E. Quentin. 2003. *Agua potable para comunidades rurales, reusó y tratamientos avanzados de agua residual y doméstica*. Ciencia y tecnología para el desarrollo. Colombia. 256 p.
44. Dietz, J., M. Baier., U. Kramer. 1998. *Free radicals and reactive Oxygen Species as mediators of heavy metal toxicity in plants*. Prasad MNV. Germany. 97 p.

45. Dirzo, R. 1974. *Mapa de vegetación de la cuenca del Río Cutzamala*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 66 p.
46. Donald, P.F., R.E. Green., M.F. Heath. 2001. Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proceedings Biological Sciences/The Royal Society* 268: 25-29.
47. Duffus, J.H.1983. *Toxicología Ambiental*. Ed. Omega, Barcelona. 350 p.
48. EPA. 1997. Volunteer Stream Monitoring: A Methods Manual. <http://www.epa.gov/owow/monitoring/volunteer/stream/>.
49. Evans, P., B. Halliwell. 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal Nutrition* 85: 67-74.
50. Fairbrother, A., R. Wenstel., K. Sappington., W. Wood. 2007. Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68:145-227.
51. Fan, A. M. 1996. *An introduction to monitoring and enviromental and risk assessment of metals*. Lewis Publishers. E.U. 59 p.
52. FAO/OMS. 2010. Codex alimentarius. FAO/OMS. <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/index.html>.
53. Fernández-Alba, A., G.P. Letón., G.R. Rosal., V.M. Dorado. 2010. *Tratamiento avanzados de aguas residuales industriales*. CEIM. Madrid. 137 p.
54. Fortoul, T., Castell, A. 2010. *Histología y biología celular*. Mc Graw Hill. México. 307 p.
55. Fuentes, F., A. Massol. 2002. *Manual de laboratorios: ecología de microorganismos*. Universidad de Puerto Rico, Puerto Rico. 90 p.
56. Furness, R.W. 1993. Birds as monitors of pollutants. *In:Birds as monitors of environmental change*. Furness R.W., J.J. Greenwood. Chapman & Hall. Londres. pp 140.
57. Galárraga, E. 1984. Algunos Aspectos relacionados con microorganismos en agua potable. *Revista Politécnica de información técnica científica*. 9: 135-43.
58. García, I. 1983. *Contribución al conocimiento de los árboles y arbustos de Bejucos, Edo. de Méx.* Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 105 p.
59. García–Lorenzana, M. 2007. Estudio sobre algunos aspectos de la biología de la reproducción de *Peromyscuswinkelmani*. Tesis doctoral. UAM. pp. 157-159.

60. Genoways, H. H., J.K. Jones. 1973. Notes on some mammals from Jalisco, México. Occasional papers. *The museum, Texas Tech University* 9:1-22.
61. Goetz, C.A., R.C. Smith. 1959. Evaluation of various methods and reagents for total hardness and calcium hardness in water. *Iowa State Journal of Science* 34:81.
62. Goyenola, G. 2007. *Guía de calidad del agua*. Red de monitoreo ambiental participativo de sistemas acuáticos. Uruguay. 50 p.
63. Hamilton, D. J., A. Ambrus., R.M. Dieterke. 2008. Regulatory limits for pesticide residues in water. *International Union of Pure and Applied Chemistry* 75: 1123-1155.
64. Heaney, S.I., R.H. Foy., G. J.A. Kennedy., W.W. Crozier., W.C.K. O'Connor. 2001. Impacts of agriculture on aquatic systems: lessons learnt and new unknowns in Northern Ireland. *Marin & Freshwater Research* 52(1): 151-63.
65. Hernández, H. N., M.A. Martínez. 2000. Intoxicación por Paraquat. *Salud en Tabasco* 6(1): 302-305.
66. Hoffman, A. J. 1993. Family Sciuridae. *Mammal Species of the world* (3): 419-466.
67. Hoffman, D.J., B.A. Rattner., I. Scheunert., F. Korte., 2001. Environmental contaminants. In: Shore, R.F., B.A. Rattner (Eds.), *Ecotoxicology of wild mammals*. Ecotoxicology and Environmental Toxicology Series. John Wiley and Sons, Ltd, Chichester. pp 1-48.
68. Howell, A. H. 1938. Revision of the North American Ground squirrels, with a classification of the North American Sciuridae. *North American Fauna* 56: 1-256.
69. INEGI. 2005. Minería en México. Disponible en: <http://cuentame.inegi.gob.mx/impresión/economía/minería>.
70. INEGI. 2010. Censo poblacional. México. Disponible en: <http://www.censo2010.org.mx/>
71. ISLAS (Institución Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud de España). 2002. *Curso de introducción a los disruptores endocrinos*. ISLAS, España, 33 p.
72. Jarup, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* 68: 167-182.
73. Kendall, R. J., A. Brouwer., J.P. Giesy. 1998. *A risk based field and laboratory approach to assess' endocrine disruption in wildlife*. SETAC Press. E.U. 300 p.

74. Krebs, J.R., J.D. Wilson., R.B. Bradbury., G.M. Siriwardena.1999. The second silent spring. *Nature* 400: 611-12.
75. Leonard, S.S., G.K. Harris., X. Shi. 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine* 37: 1921-1942.
76. Lesmana, S. O., N. Febriana., F.E. Soetaredjo., J. Sunarso., S. Ismadji. 2009. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. *Biochemical Engineering Journal* 44: 19-41.
77. Longley, M., P.C. Jepson., J. Izquierdo., N. Sotherton. 1997. Temporal and spatial changes in aphid and parasitoid populations following applications of deltamethrin in winter wheat. *Entomología Experimentalis Applicata* 83(1): 41-52.
78. López, P.A., A.M. Viegas-Crespo., A. C. Nunes., T. Pinheiro., C. Marques., M.C. Santos., M.L. Mathias. 2002. Influence of age, sex, and sexual activity on trace element levels and antioxidant activities in field mice (*Apodemus sylvaticus* and *Mus musculus*). *Biological Trace Element Research* 85: 227-239.
79. Maier-Bode, H. 1972. 2, 4, 5-T Frage. Anzeiger für Schädlingskunde und Pflanzenschutz, Heft 11972: 1-6.
80. Marbello, R. 1997. *Calidad de aguas. Parámetros y su interpretación*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 13 p.
81. Marshe, O. M., L.B. Polkowski. 1972. *Evaluation of methods for estimating Biochemical Oxygen Demand parameters*. J. Water Process Control Federation. 2000 p.
82. Masters, G. M., P.E. Wendell. 2008. *Introducción a la ingeniería medio ambiental*. Pearson. 3era edición. España, 133 p.
83. Mclean, I. G. 1982. The association of the female kin in the Arctic ground squirrel *Spermophilus parryi*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 10: 91-99.
84. Mencías, R. E. 2000. *Manual de toxicología básica*. Díaz de Santos. Madrid, 886 p.
85. Menzel, D.W., N. Corwin. 1965. The measurements of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnology and Oceanography* 10:280-282.
86. Merck. 1982. *Análisis microbiológico del agua*. Merck. Darmstad, 35 p.
87. Merriam, C. H. 1903. Four new mammals, including a new genus (*Teanopus*), from México. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 16:79-82.



88. Moreno, G. M. D. 2003. *Toxicología ambiental*. McGraw Hill. México, 370 p.
89. Narváez, H.M., L. Rojas de Astudillo., J.L. Prin. 2010. Determinación de metales pesados en el tejido comestible del molusco *Arca zebra* Comercializado en el estado nueva Esparta, Venezuela. *Saber* 22(2):141-148.
90. Newton, I. 2004. The recent declines of farmland bird populations in Britain: an appraisal of causal factors and conservation actions. *Ibis* 146(4): 579-600.
91. Obregón, A. 2006. Limnología aplicada a la acuicultura. *Revista electrónica veterinaria* 7(11): 1-24.
92. Olea, N., M.F. Fernández., P. Araqua., F. Olea-Serrano. 2002. Perspectivas en disrupción endocrina. *Gaceta sanitaria* 16(3): 250-6.
93. OMS. 1995. *Guías para la calidad del agua potable*. OMS. Ginebra. 370 p.
94. OMS. 1996. *Guías OMS para la Calidad del Agua de Bebida*. OMS. Ginebra. 481 p.
95. Peakall, D., J. Burger. 2003. Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 110-121.
96. Pérez-Coll, C. S. 2008. Contaminación por metales, una perspectiva ecotoxicológica para la salud humana. *Instituto Tlaxcalteca de Asistencia Especializada a la Salud* 10(5): 14-21.
97. Ramírez, G. V. 1998. *Limnología Colombiana: Aportes a su conocimiento y estadística de análisis*. BP Exploration Company. Colombia, 69-80 p.
98. Renu, G., M. Snedeker. 2005. *Pesticides and Breast Cancer Risk: An Evaluation of 2,4-D, Program on Breast Cancer and Environmental Risk Factors*. College of Veterinary Medicine. Ithaca, NY. 6401 p.
99. Repetto, M. 1995. *Toxicología avanzada*. Díaz de Santos. Madrid, 621 p.
100. Repetto, M. 2009. *Toxicología fundamental*. Díaz de Santos. Madrid, 589 p.
101. Ritter, L., K.R. Solomon., J. Forget. 1995. *Contaminantes orgánicos persistentes. Informe sobre: aldrin, dieldrin, endrin, clordano, heptacloro, hexaclorobenceno, mirex, toxafeno, BPCs, dioxinas y furanos*. Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas. ONU. E.U., 500 p
102. Rodríguez, R., L. Oldecop., R. Linares., V. Salvado. 2009. Los grandes desastres medio ambientes producidos por la actividad minero-metalúrgica a nivel mundial: causas y consecuencias ecológicas y sociales. *Revistas del instituto de investigaciones FIGMMG* 12(24): 7-25.

103. Rodríguez, Z. J. 2009. Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las asociaciones administradoras del Acueducto, (ASADAS), de cada distrito de Grecia, canto de Alajuela, noviembre del 2008. *Revista de Veterinaria* 9(12): 125-134.
104. Roldan, P. G., Restrepo, J. J. R. 2008. *Fundamentos de Limnología neotropical*. Accefyn, UCO y Universidad de Antioquia (Eds). Colombia, 442 p.
105. Rondón-Barragán, I, S., D. Pardo-Hernández., P.R. Eslava-Mocha. 2010. Efecto de los herbicidas sobre el sistema inmune. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 4(1): 1-22.
106. Russo, R.C. 1985. Ammonia, nitrite and nitrate. *In: Fundamentals of aquatic toxicology: Rand, G.M., S.R. Petrocelli, (Eds).* Hemisphere Publishing Corporation, Washington DC, USA. 455-471 p.
107. Schmitz, R. J. 1995. *Introduction to Water Pollution Biology*. Gulf Publishing. Co. Huston, TX. 320 p.
108. Schulz, R., M. Liess. 1999. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46(3): 155-76.
109. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1994. *NOM-010-ZOO-1994. Determinación de cobre, plomo y cadmio en hígado, músculo y riñón de bóvidos, equinos, porcinos, ovinos y aves, por espectrofotometría de absorción atómica*. Diario oficial de la Federación, México, Septiembre. 5.
110. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1996. *NOM-004-ZOO-1994, Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bóvidos, equinos, porcinos y ovino*. Diario Oficial de la Federación, México, Noviembre. 8.
111. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. 1995. *NOM-028-ZOO-1995. Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados, en hígado y músculo de bóvidos, equinos, porcinos, ovinos, caprinos, cérvidos y aves, por cromatografía de gases*. Diario oficial de la Federación, México, Junio 22.
112. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1987. *NMX-AA-42-1987. Calidad del agua determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales (termotolerantes) y Escherichicola presuntiva*. Diario oficial de la Federación, México, Junio 22. 21.
113. Secretaria de Economía. 2001. *NMX-AA-028-SCFI-2001. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO5) y residuales tratadas*. Diario Oficial de la Federación, México. Abril. 17.

114. Secretaría de Economía. 2001. *NMX-AA-039-SCFI-2001. Análisis de aguas Determinación de sustancias activas al azul de metileno (SAAM) en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas*. Diario Oficial de la Federación, México, Agosto 1.
115. Secretaria de Economía. 2006. *NMX-AA-120-SCFI-2006 que establece los requerimientos y especificaciones de sustentabilidad de calidad de playas*. Diario oficial de la Federación, México. Julio. 6.
116. Secretaría de Programación y Presupuesto (SPP). 1981. *Síntesis geográfica del estado de México*. SPP, México, D.F., 175 pp.
117. Secretaria de Salud. 2008. *NMX-F-026-SCFI-2008. Alimentos-grasas vegetales o animales-determinación de contenido de metales (cromo, cobre, fierro, níquel y manganeso)*. Diario Oficial de la Federación, México. Septiembre. 2.
118. Secretaria de Salud. *NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. Diario Oficial de la Federación, México, Noviembre. 30.
119. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 1996. *NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales*. Diario Oficial de la Federación, México, Enero 6.
120. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 1997. *NOM-003-ECOL-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público*. Diario Oficial de la Federación, México, Septiembre. 21.
121. Shibamoto, T., L.F. Bjeldanes. 1993. *Introduction to food Toxicology*. Academic Press Inc. New York, 203 p.
122. Sokal, R. R., F.J. Rohlf. 2012. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 4th edition. W. H. Freeman and Co: New York, 937 p.
123. Solís, G. G., I.V. Arturo., N.O. Gerardina., M.A. José., M.A. Flor. 2011. Físico-química del agua superficial y sedimentos en el río Santa Cruz, Sonora, México. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 13 (1): 3-9.
124. Solís-Garza, G., A. Gómez-Álvarez., A. Villalba-Atondo., G. Nubes-Ortiz., A. Romero. 1996. *Efecto de la Calidad del Agua sobre los Ecosistemas Riparios en el Rio Santa Cruz, Sonora, México. Informe Académico Final*. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Convenio de Cooperación Científica con la

- Universidad de Arizona para la Colaboración de Investigadores. Fomes 1995-1996. México. 480 p.
125. Solís-Garza, G., A. Gómez-Álvarez., R. López-Estudillo., A. Villalba-Atondo., L. Bringas-Alvarado., A. Pérez-Villalba. 2000. Riparian Vegetation and Water Quality on the San Pedro River, Sonora, México. Reporte Técnico Final. Universidad de Sonora and Arizona State University. Funded by: "Transborder Watershed Research Program". Environmental Research and Policy (SCERP). U.S., 470 p.
  126. Spanh, S.A., T.W. Sherry. 1999. Cadmium and lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging success of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*) in south Louisiana wetlands. *Archives of Environmental Contaminations and Toxicology* 37: 377-384.
  127. Stark, J.D., J.E. Banks. 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology* 48: 505-19.
  128. Stocker, H.S., L.S. Seager. 1981. *Química Ambiental Contaminación del Aire y del Agua*. Editorial Blume, Barcelona, 233 p.
  129. Stohs, S.J., D. Bagchi. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine* 18: 321-336.
  130. Suárez, P.M. 2002. Tendencia actual del *Estreptococo* como indicador de contaminación fecal. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 40(1): 38-43.
  131. Tataruch, F., H. Kierdorf. 2003. *Mammals as bioindicators*. Bioindicators and Biomonitoring: principles, concepts and applications (Ed. Markert B.A., A.M. Breure., H.G. Zechmeister). Amsterdam, 550 p.
  132. Taylor, E., H. Gordon., M. Kirk. 2006. Pesticide Development a Brief Look at the History. [www.extensionforestry.tamu.edu](http://www.extensionforestry.tamu.edu).
  133. Torres, D., T. Capote. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas* 13 (3): 2-6.
  134. Valdez, C., G.A. Vázquez. 2003. *Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de agua residuales*. Fundación ICA, A.C. México, 100 p.
  135. Valko, M., D. Leibfritz., J. Moncol., M.T.D. Cronin., M. Mazur., J. Telser. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39: 44-84.
  136. Vargas, C., J. Joseli. 1996. *Control y Vigilancia de la Calidad del Agua de Consumo humano*. Textos Completos. Peru. 27p.

137. Verschueren, K. 1983. *Handbook of environmental data on organic chemicals*. VanNostrandReinhold. New York – Melbourne, USA-Australia. 1500 p.
138. Villa, R. B. 1942. Los cuiniques de Arcelia *Citellus adocetus arceliacea*, sub. Sp. Nov. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional de México* 13:357-368.
139. Villa, R. B. 1943. Algunos aspectos de la ecología de *C. adocetus arceliae* Villa, R. *Anales del instituto de Biología de la Universidad Nacional de México* 14: 285-290.
140. Volke-Sepúlveda, T., T.J. Velasco., P.D. de la Rosa. 2005. *Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología, México, 141 p.
141. Volke-Sepúlveda. T., T.J. Velasco. 2002. *Tecnologías para la remediación de suelos contaminados*. INE. México, 150 p.
142. Waldemar, F. 2009. Aspectos toxicológicos de los herbicidas. *Toxicología* (1): 1-6.
143. Ware, G. W. 2004. *The Pesticide Book, Willoughby*. Meister Pro Information. Ohio, 426 p.
144. Westing, A. H. 1971. Ecological effects of military defoliation on the forests of South Vietnam. *Bioscience* 21 (7): 893-898.
145. Wood, E.D., F.A.J. Armstrong., F.A. Richards. 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium cooper reduction to nitrite. *Journal of the Marine Biological Association* 47: 23-31.
146. Yarto, M., A. Gavilán., J. Barrera. 2010. *El convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones en México*. INE-SEMARNAT, México, 19 p.
147. Zepeda, G. C. 1999. El Bosque tropical caducifolio de la vertiente sur de la Sierra de Nanchititla, Estado de México: la Composición y la Afinidad Geográfica de su flora. *Acta Botánica Mexicana* 49:29- 55.