



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
**SECRETARÍA GENERAL**  
**DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR**  
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas  
Fecha: 24 de Octubre de 2023

C. Abril Castillejos Escobar

Pasante del Programa Educativo de: Ingeniería Ambiental

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

"Evaluación de la calidad y toxicidad del agua en el río "Los Perros", Oaxaca".

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

**Revisores**

Dr. José Manuel Gómez Ramos

Dr. Hugo Alejandro Nájera Aguilar

Dra. Rebeca Isabel Martínez Salinas

Firmas:

Ccp. Expediente

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y  
ARTES DE CHIAPAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA EDUCATIVO DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TESIS**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD Y TOXICIDAD DEL AGUA  
EN EL RÍO “LOS PERROS”, OAXACA**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO AMBIENTAL**

**PRESENTA:  
ABRIL CASTILLEJOS ESCOBAR**

**DIRECTORES:  
DRA. REBECA ISABEL MARTÍNEZ SALINAS  
QFB. JUAN JESÚS MORALES LÓPEZ**

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS

NOVIEMBRE 2023



## AGRADECIMIENTOS

A mi escuela, la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, por permitir desarrollar mis estudios profesionales en ella y brindarme las mejores experiencias.

A mi directora, la Dra. Rebeca Isabel Martínez Salinas, expreso mi gratitud por dirigir este proyecto, brindarme sus conocimientos durante esta investigación, apoyarme en los momentos difíciles y creer en mí.

A mi director, el QFB. Juan Jesús Morales López, por su apoyo para la elaboración de este trabajo, un placer haberlo conocido.

A la Ing. Flor de Magaly González Hilerio, quien me recibía con su sonrisa y me apoyó en el proceso experimental.

Al Mtro. Roberto Moreno Ceballo, por su capacitación y contribución en este proyecto.

A mi comité de revisión, por sus observaciones y modificaciones que hicieron que mi trabajo mejorara.

## AGRADECIMIENTOS

A Dania y Eduardo, grandes amigos que la carrera profesional me dio, pasamos días y noches estudiando. Gracias por el gran equipo que logramos ser, por todas las bonitas experiencias que vivimos dentro y fuera de la Universidad, ahora somos colegas.

A Luis Antonio, por siempre contar con su apoyo. Los amigos que son como hermanos los trae el destino y le agradezco a la vida por darme un hermano como tú.

A Jorge, Jhojan, Kevin y Armando, aunque fuera para sacarme de la rutina o brindarme palabras de aliento, creyeron en mi aun cuando yo no lo hacía. Gracias por ser incondicionales, por ayudarme y motivarme, son esa amistad que se ha convertido en familia.

A Emmanuel Morales, por el apoyo brindado durante las actividades realizadas en campo.

## DEDICATORIA

A mi madre

Por ser el pilar de mi vida, por su apoyo incondicional, su amor y sacrificio, por enseñarme a nunca rendirme ante los obstáculos de la vida, por acompañarme con una taza de café durante mis noches de desvelo, por la vida que me dio y el hogar maravilloso en el que crecí. Gracias por nunca perder su fe en mí y en que podría lograrlo, de ahora en adelante la responsabilidad, es mía.

A mi hermana

Sembraste en mí, las bases de la responsabilidad y deseos de superación. Gracias no solo por ser parte fundamental de este logro, sino también por todos los momentos que hemos compartido desde que soy tu hermana. En ti tengo el espejo en el cual me quiero reflejar por siempre.

A mi padre

Sé que estuviste conmigo durante todo este proceso, te extraño profundamente, mi corazón aún llora por tu ausencia, pero sé que estás orgulloso de mí desde donde estás.

# ÍNDICE GENERAL

|  |    |
|--|----|
| <b>1.INTRODUCCIÓN</b> .....  | 8  |
| <b>2.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....  | 10 |
| <b>3.JUSTIFICACIÓN</b> .....   | 12 |
| <b>4.OBJETIVOS</b> .....   | 14 |
| 4.1. General.....  | 14 |
| 4.2. Específicos.....  | 14 |
| <b>5.HIPÓTESIS</b> .....   | 14 |
| <b>6.MARCO TEÓRICO</b> .....   | 15 |
| 6.1. Aguas superficiales .....   | 15 |
| 6.2. Principales contaminantes.....  | 16 |
| 6.3. Calidad del agua .....  | 17 |
| 6.4.Parámetros fisicoquímicos .....  | 17 |
| 6.5.Parámetros físicos.....  | 18 |
| 6.6.Parámetros químicos.....   | 18 |
| 6.7.Parametros biológicos.....   | 20 |
| 6.8.Bioensayo de toxicidad .....   | 20 |
| 6.9.Proceso de germinación .....   | 21 |
| 6.10.Factores físicos importantes en la germinación.....   | 22 |
| 6.11. Cálculo del porcentaje de germinación.....   | 23 |
| 6.12. Cálculo del porcentaje de la inhibición del alargamiento radicular (IAR%) y de la inhibición del crecimiento del hipocótilo (ICH%) ..... | 23 |
| 6.13. Cálculo del índice de germinación.....   | 24 |
| <b>7. ANTECEDENTES</b> .....   | 26 |
| <b>8. METODOLOGÍA</b> .....  | 28 |
| 8.1. Descripción del sitio de estudio .....  | 28 |
| 8.2. Muestreo .....  | 31 |
| 8.3. Prueba de viabilidad.....   | 34 |
| 8.4. Bioensayo en inhibición de la germinación.....  | 35 |
| <b>9. RESULTADOS</b> .....   | 37 |
| 9.1. Parámetros fisicoquímicos .....   | 37 |
| 9.2. Bioensayo de germinación .....  | 43 |

10. DISCUSIÓN..... 49

11. CONCLUSIONES..... 54

12. REFERENCIAS..... 55

13. ANEXOS ..... 60

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Figura 1.</b>  | Esquema de la plántula de <i>Lactuca sativa</i> al finalizar el periodo de exposición. ....   | 24 |
| <b>Figura 2.</b>  | Mapa de localización de puntos de muestreo. ....  | 32 |
| <b>Figura 3.</b>  | Conteo y selección de las semillas y prueba de viabilidad .....                               | 34 |
| <b>Figura 4.</b>  | Prueba de viabilidad 24 horas después de las semillas de lechuga.....                         | 34 |
| <b>Figura 5.</b>  | Cajas de Petri etiquetadas para cada una de las muestras y controles.....                     | 36 |
| <b>Figura 6.</b>  | Valores de unidades de pH en agua superficial del río Los Perros. ....                        | 37 |
| <b>Figura 7.</b>  | Valores de oxígeno disuelto en agua superficial del río Los Perros. ....                      | 38 |
| <b>Figura 8.</b>  | Valores de temperatura en aguas superficiales del río Los Perros.....                         | 39 |
| <b>Figura 9.</b>  | Valores de conductividad en agua superficial del río Los Perros. ....                         | 39 |
| <b>Figura 10.</b> | Valores de especies nitrogenadas en agua superficial del río Los Perros .....                 | 40 |
| <b>Figura 11.</b> | Valores de cloruros en agua superficial del río Los Perros.....                               | 41 |
| <b>Figura 12.</b> | Valores de fósforo total en agua superficial del río Los Perros. ....                         | 42 |
| <b>Figura 13.</b> | Germinación en semillas de lechuga por exposición de agua superficial del río Los Perros. ... | 43 |
| <b>Figura 14.</b> | Respuesta biológica en semillas de lechuga por sitio de colecta. ....                         | 45 |
| <b>Figura 15.</b> | Porcentaje de IAR e ICH en lechuga expuestas a agua superficial del río Los Perros.....       | 46 |
| <b>Figura 16.</b> | IGN en semillas de lechuga expuesta a agua superficial del río Los Perros. ....               | 47 |
| <b>Figura 17.</b> | IER en semillas de lechuga expuesta a agua superficial del río Los Perros.....                | 48 |
| <b>Figura 18.</b> | Colecta de muestras en el sitio Santo Domingo Chihuitán. ....                                 | 67 |
| <b>Figura 19.</b> | Vista previa del sitio de estudio Santo Domingo Chihuitán.....                                | 67 |
| <b>Figura 20.</b> | Colecta de muestra en el sitio Ciudad Ixtepec.....  | 68 |
| <b>Figura 21.</b> | Vista previa del sitio de estudio Ciudad Ixtepec.....   | 68 |
| <b>Figura 22.</b> | Registro de los datos de campo en el sitio Asunción Ixtaltepec.....                           | 69 |
| <b>Figura 23.</b> | Vista previa del sitio de estudio Asunción Ixtaltepec.....                                    | 69 |
| <b>Figura 24.</b> | Registro de los datos de campo en el sitio El Espinal. ....                                   | 70 |
| <b>Figura 25.</b> | Vista previa del sitio de estudio El Espinal.....   | 70 |
| <b>Figura 26.</b> | Registro de los datos de campo en el sitio Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza. ....       | 71 |
| <b>Figura 27.</b> | Vista previa del sitio de estudio Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza.....                 | 71 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tabla 1.</b>  | Localización de los puntos de muestreo.....  | 31 |
| <b>Tabla 2.</b>  | Métodos de análisis para la medición fisicoquímicos en agua.....                   | 33 |
| <b>Tabla 3.</b>  | Valores promedio de longitud radicular por sitio de estudio y valores del IER..... | 48 |
| <b>Tabla 4.</b>  | Resultados obtenidos de pH. ....   | 60 |
| <b>Tabla 5.</b>  | Resultados obtenidos del Oxígeno disuelto.....                                     | 60 |
| <b>Tabla 6.</b>  | Resultados obtenidos de la Temperatura. ....                                       | 60 |
| <b>Tabla 7.</b>  | Resultados obtenidos de la Conductividad.....                                      | 61 |
| <b>Tabla 8.</b>  | Resultados del análisis de DQO. ....   | 61 |
| <b>Tabla 9.</b>  | Resultados del análisis del Nitrógeno amoniacal.....                               | 61 |
| <b>Tabla 10.</b> | Resultados del análisis del Nitrógeno total de Kjeldahl. ....                      | 62 |
| <b>Tabla 11.</b> | Resultados del análisis de Cloruros. ....  | 62 |
| <b>Tabla 12.</b> | Resultados del análisis de Nitratos. ....  | 62 |
| <b>Tabla 13.</b> | Resultados del análisis de Nitritos. ....  | 63 |
| <b>Tabla 14.</b> | Resultados del análisis del Fósforo total.....                                     | 63 |
| <b>Tabla 15.</b> | Parámetros fisicoquímicos registrados en el Diagnóstico IMTA. ....                 | 63 |
| <b>Tabla 16.</b> | Registro de germinación de lechuga por día. ....                                   | 64 |

## 1.INTRODUCCIÓN

El agua constituye un elemento natural indispensable para el desarrollo de la vida y de las actividades humanas. En México, el 60% del agua potable proviene de los cuerpos de agua superficiales (lagos, ríos). De los principales ríos, siete representan 71% del agua superficial del país, distribuidos en la zona centro y sur del territorio, mientras que sólo el 29% del agua superficial se ubica en la zona norte. El principal problema de las aguas superficiales es la contaminación, en particular por las aguas residuales, ya sean domésticas, industriales, agrícolas o ganaderas, que en la mayoría de los casos son vertidas sin tratamiento previo y que contienen elementos y sustancias contaminantes disueltas [26].

Moraima [2], plantea que la contaminación del agua puede ser considerada como la modificación de sus propiedades físico-químicas y biológicas, que restringe su uso y aplicaciones donde habitualmente es utilizada. Se entiende entonces que el agua contaminada es aquella afectada por la acción del hombre en una magnitud por encima de sus variaciones naturales, que sobrepasa los valores permisibles máximos de las concentraciones establecidas por los estándares para el agua potable, de uso industrial o de uso agrícola [1].

La valoración de la calidad del agua puede entenderse como la evaluación de su naturaleza química, física y biológica en relación con su calidad natural, los efectos humanos y usos posibles. En la naturaleza la calidad del agua afecta la condición de los ecosistemas alterando la existencia de los seres vivos. Toda gestión de los recursos hídricos involucra el control y la calidad del agua; esta última se determina a partir del conjunto de características físicas, químicas y biológicas que hacen que el agua sea apropiada para un uso determinado [1].

Esto afecta la calidad del agua, la cual, se evalúa en México a partir de la medición de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos (ejemplos: NOM-127-SSA1-2021, NOM-001-SEMARNAT-2021). Además de este tipo de caracterización, algunos estudios han aplicado los bioensayos de toxicidad aguda en semillas como bioindicadores de la calidad, los cuales se basan en la evaluación de la toxicidad de diversos agentes contaminantes en aguas superficiales, aguas subterráneas, agua para consumo humano y aguas residuales domésticas e industriales. Además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas [4].

Algunos ensayos de toxicidad están basados en la germinación de semillas y la elongación radical, pueden realizarse con diversas especies que incluyen plantas de importancia económica, que son de fácil acceso, y que crecen rápidamente. La aplicación de la prueba se suele realizar como ensayo único de toxicidad o a través de una batería de pruebas con otros bioindicadores. Es importante destacar que, durante el período de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula, ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir en la supervivencia y el desarrollo normal de la planta. Por esta razón, la germinación es una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos [3] y la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales.

El propósito de este proyecto consistió en evaluar la calidad y la toxicidad del agua superficial en cinco puntos de muestreo, pertenecientes a cinco municipios de la cuenca del río Los Perros en el estado de Oaxaca, utilizando parámetros fisicoquímicos y bioensayos de germinación, elongación radicular e inhibición del crecimiento del hipocótilo en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) para conocer si existe un efecto fitotóxico y diferencias acordes a los parámetros fisicoquímicos medidos en cada sitio.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, en los países emergentes, menos del 10 % del agua utilizada es tratada, situación no muy diferente a la de México donde los porcentajes están cerca del 20 % para el agua utilizada en servicios urbanos o industriales [6]. Esto significa que la mayor parte del líquido se vierte a ríos, lagos o mares sin ningún tratamiento previo, ocasionando la contaminación de éstos y, en consecuencia, la reducción del agua disponible para el consumo humano [8].

Más del 80% de las aguas residuales resultantes de actividades humanas se vierten en los ríos o en el mar sin ningún tratamiento, lo que provoca su contaminación. Aproximadamente el 70% de todas las aguas extraídas de los ríos, lagos y acuíferos se utilizan para el riego. Asimismo, la contaminación del agua que va en aumento como consecuencia directa de las aguas residuales, las prácticas agrícolas y la inadecuada eliminación de desechos humanos muestra otro frente de la crisis hídrica mundial. De acuerdo con el Banco Mundial la mala calidad del agua disminuye en un tercio el potencial del crecimiento económico en zonas altamente contaminadas y poniendo en peligro al ambiente y las poblaciones humanas [35].

En las últimas décadas, en México, como en la mayoría de los países del planeta, el agua es un tema central en las perspectivas del desarrollo. Pérez-López [5], menciona que la problemática del agua es de una magnitud equivalente al tamaño del país, y que los arreglos institucionales vigentes no han sido lo suficientemente apropiados para detener y revertir la situación de escasez y contaminación.

En todo el territorio mexicano la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) realiza 135 muestreos para análisis de la calidad del agua [6]. En el año 2012, de los 2,601 sitios de monitoreo a nivel nacional, 26.2% se clasificó dentro de la categoría de “contaminado” con valores superiores a los 40 mg/L de DBO<sub>5</sub> que sugieren la presencia de descargas de aguas residuales sin tratamiento y 5.5% en la categoría de “fuertemente contaminado” con valores promedio superiores a los 200 mg/L de DBO<sub>5</sub> [7].

Actualmente gran parte de los cuerpos de agua del país presentan deterioro de la calidad del agua lo que afecta el abastecimiento de agua público y afectación en las actividades agrícolas, así como la afectación de flora y fauna asociada a los cuerpos de agua, además de la afectación en salud de las poblaciones humanas a partir de las enfermedades asociadas a la contaminación microbiológica y fisicoquímica del agua. Un ejemplo de ello es el río Atoyac que nace en la sierra del estado de Puebla y se extiende al estado de Tlaxcala para luego regresar a Puebla y el río Zahuapan, en donde se ha demostrado un grado de

contaminación con importantes niveles de toxicidad demostrada mediante la aplicación de bioensayos con organismos como *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri* [54].

En nuestro país existen cinco cuencas (4% del territorio nacional) que presentan tanto una alteración de la dinámica funcional, muy alta a extrema y niveles de presión altos. Estas son: estero La Inicial (Sinaloa), río Santiago (Jalisco, Nayarit, Aguascalientes, Durango y Zacatecas), río Los Perros (Oaxaca), río Jamapa (Veracruz), lago Santa Ana (Zacatecas y San Luis Potosí) [9].

La problemática del Río de Los Perros en Oaxaca, se basa en la disminución de la calidad del agua en la cuenca, la degradación de los recursos de agua, bosque, suelo y aire, conflictos sociales y falta de cultura ambiental, así como tres elementos principales causantes del deterioro del río que son las aguas residuales, los residuos sólidos urbanos (RSU) y sustancias tóxicas (agroquímicos, pesticidas y aceite) [10].

De acuerdo con el informe de diagnóstico elaborado por la SEMARNAT y el IMTA para el Plan Estratégico para el Saneamiento de la cuenca implementado en el año 2021, se indica que el problema de la contaminación del río Los Perros se debe principalmente a la descarga de las aguas residuales efectuada directamente al cauce y a la insuficiente e ineficiente infraestructura de tratamiento que existe, es decir, existen pocas PTAR y éstas no funcionan o están inconclusas. Además, la red de drenaje instalada rebasa la edad de la vida útil del material, la mayoría de las tuberías no trabaja por gravedad debido a los constantes movimientos telúricos, la falta de mantenimiento a la infraestructura de drenaje ha ocasionado que las tuberías estén rotas y azolvadas, lo que impide alimentar de aguas residuales a las PTAR. Por otro lado, el uso de agroquímicos en la agricultura sin un control establecido incrementa el problema de calidad de agua, así como la degradación de suelos y bosques. Por último, se considera que el incremento de los asentamientos urbanos y el inadecuado manejo de los RSU que generan lixiviados no controlados son aspectos que contribuyen a la problemática [37].

### 3.JUSTIFICACIÓN

“El agua, como recurso estratégico, depende del manejo sostenible de los ecosistemas, que por esta razón debería constituir una prioridad nacional. Ante el incremento de la incertidumbre derivada de procesos como el cambio climático, requerimos una mayor información que nos permita establecer una gestión flexible y adaptativa [9]”.

Tomando en cuenta lo anterior, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) indica que, en México, las descargas de aguas residuales domésticas, industriales, agrícolas y pecuarias sin tratamientos desembocan en cuerpos de agua receptores lo que provoca que se deteriore la calidad del agua (superficiales y subterráneas), lo que pone en riesgo la salud de la población y la integridad de los ecosistemas. Oaxaca pertenece a la V Región Pacífico Sur en donde el 26.7 % de la distribución porcentual de los cuerpos de agua superficial monitoreados se encuentran catalogados como contaminados por coliformes fecales y el 16.6 % como fuertemente contaminados [11].

Para el caso del río “Los Perros” se ha proyectado un “Muy alto” grado de alteración de la dinámica funcional (en la que se incluyen el índice de transformación humana de los ecosistemas, degradación de suelos, fragmentación de ríos, deterioro de zonas riparias, presión hídrica y contaminación potencial difusa [38]) y un nivel de presión esperada para los próximos años de 1804 km<sup>2</sup>. Como se indicó anteriormente existen diversas actividades que contribuyen en la contaminación de la cuenca desde el vertimiento de cantidades de basura y escombros, como por descargas domiciliarias de aguas residuales crudas provenientes de los centros urbanos de la cuenca, lo que genera malos olores y la proliferación de fauna nociva que representa un alto riesgo para la salud pública [10].

Atendiendo el desarrollo de acciones a partir del Plan Estratégico para el Saneamiento de la cuenca del Río Los Perros, es necesario contar con información que aporte sobre el seguimiento o vigilancia de la calidad del agua de forma paulatina o permanente, a favor de la evaluación de los cambios que puedan presentarse a lo largo del río a partir de las medidas de mitigación que sean implementadas. No solo en el aspecto de evaluación de determinados parámetros fisicoquímicos, sino también a partir de la aplicación de otras mediciones que puedan brindar información sobre los efectos, como son los bioensayos de toxicidad que son considerados cada vez más en la legislación y normatividad para el análisis y control de la contaminación, debido a que no solo muestran la presencia del contaminante, sino que también indican su biodisponibilidad, es decir que pueden incorporarse a los procesos metabólicos de los organismos vivos. En diversos estudios se ha comprobado que son indicadores sensibles para la identificación de

efectos adversos (cambios en la reproducción, desarrollo, comportamiento o supervivencia) por la exposición a diversos contaminantes presentes en los ecosistemas, además de considerar estos ensayos de bajo costo y la existencia de diversos organismos que corresponden a diferentes niveles tróficos.

Aplicando estos bioensayos de toxicidad, pueden mostrar diferentes efectos en distintos tipos de semillas u organismos como por ejemplo la especie vegetal *Allium cepa* L, misma que se ha utilizado para la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla [41]; las especies del género *Daphnia magna* son una de las más utilizadas como organismos de prueba o referencia en pruebas de toxicidad, por lo cual existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de temperatura, luz y nutrientes, así como su respuesta a muchos tóxicos [42]; ensayos de toxicidad con *Hydra attenuata* permiten determinar subletalidad y letalidad potencial de sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable y agua de poro de sedimentos entre otros [43].

En este sentido el uso de la especie *Lactuca sativa* como indicador en los bioensayos de toxicidad es amplio tanto para la evaluación de la germinación de semillas, como en su aplicación para las pruebas de crecimiento radicular y de hipocótilo. El ensayo de toxicidad se considera una prueba estática de toxicidad aguda, para evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas de éstos, en el proceso de germinación de semillas y en el desarrollo de plántulas durante los primeros días de crecimiento [3].

## 4.OBJETIVOS

### 4.1. General

Evaluar la calidad y toxicidad del agua superficial del río “Los perros” perteneciente al estado de Oaxaca, mediante la aplicación de un bioensayo de germinación utilizando semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*).

### 4.2. Específicos

- Analizar los parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad en muestras de agua colectadas durante la temporada de estiaje en los puntos seleccionados a lo largo del río.
- Determinar el efecto fitotóxico a partir de la exposición de semillas de lechuga y la determinación de los porcentajes de inhibición de radícula e hipocótilo.
- Determinar el índice de germinación para establecer si las muestras de agua favorecen o inhiben el crecimiento radicular.

## 5.HIPÓTESIS

Los índices de germinación y elongación radical en las semillas de *Lactuca sativa* indican un efecto tóxico en relación a la calidad del agua superficial en cada punto de muestreo, es decir, a mayor nivel de medición los parámetros fisicoquímicos que son indicadores de contaminación, se tendrá un mayor efecto fitotóxico.



## 6.MARCO TEÓRICO

### 6.1. Aguas superficiales

El agua superficial proviene de las precipitaciones, no se infiltra ni regresa a la atmósfera por evaporación o es también la que proviene de manantiales o nacimientos que se originan de las aguas subterráneas. Se encuentra circulando o en reposo sobre la superficie de la tierra. Estas masas de agua sobre la superficie de la tierra, forman ríos, lagos, lagunas, pantanos, charcas, humedales, y otros similares, sean naturales o artificiales [12].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que el agua está contaminada cuando su composición o estado natural se ven modificados de tal modo que pierde las condiciones aptas para los usos a los que estaba destinada. El agua contaminada presenta alteraciones físicas, químicas o biológicas, por lo que no puede cumplir sus funciones ecológicas. La contaminación de las aguas puede tener un origen natural o un origen antrópico. Este último se produce a causa de las diversas actividades desarrolladas por el ser humano, las cuales son la principal fuente de contaminación de las aguas, ya que el desarrollo y la industrialización conlleva un mayor uso del agua y una gran generación de residuos muchos de los cuales van a parar a ésta [13].

Por lo general, las fuentes de contaminación de origen natural son muy dispersas y no provocan altas concentraciones de contaminantes, excepto en lugares muy concretos relacionados con yacimientos minerales específicos[13].

Las principales fuentes de contaminación de origen antrópico son:

- Los vertidos de aguas residuales urbanas, como son las domiciliarias, las negras y las de limpieza, fundamentalmente.
- Los vertidos de explotaciones ganaderas. aportan estiércol y orines con contaminantes como microorganismos patógenos, sólidos en suspensión, materia orgánica, nitrógeno y fósforo.
- Los vertidos de aguas residuales agrícolas. Incluyen fertilizantes inorgánicos, estiércol, orina y otros abonos, plaguicidas diversos, herbicidas, sales del agua de riego, etc.
- Los vertidos industriales. Las industrias utilizan el agua para varios fines ya sea procesado, refrigeración, transporte, disolvente, etc.

Tanto para el origen natural como antrópico de contaminación de aguas, se puede establecer que cuando la contaminación se produce en lugares muy concretos, las fuentes que la provocan son puntuales. Por el contrario, si, la descarga de contaminantes se realiza en áreas muy extensas, se habla de fuentes dispersas [13].

## 6.2. Principales contaminantes

Debido a la gran variedad de agentes que provocan la contaminación de las aguas, se pueden clasificar según criterios muy diversos [13].

- Microorganismos patógenos.

Son los diferentes tipos de bacterias, virus, protozoos y otros tipos de microorganismos que transmiten enfermedades como el cólera, tifus, hepatitis, etc.

- Desechos orgánicos.

Son el conjunto de residuos orgánicos producidos por los seres humanos, ganado, etc. Incluyen heces y otros materiales que pueden ser descompuestos por bacterias aeróbicas, es decir, en procesos de consumo de oxígeno.

- Sustancias químicas inorgánicas.

En este grupo están incluidos ácidos, sales y metales tóxicos, como el mercurio y el plomo. Si están en cantidades altas pueden causar graves daños a los seres vivos, disminuir los rendimientos agrícolas y corroer los equipos que se usan para trabajar con el agua.

- Nutrientes vegetales inorgánicos.

Nitratos y fosfatos son sustancias solubles en agua que las plantas necesitan para su desarrollo, pero si se encuentran en cantidades excesivas, inducen el crecimiento desmesurado de algas y otros organismos, provocando la eutrofización de las aguas.

- Compuestos orgánicos.

Muchas moléculas orgánicas, como el petróleo, los plásticos, los plaguicidas, los disolventes, los detergentes, etc., acaban en el agua y permanecen, en algunos casos, largos períodos de tiempo, ya que se presentan estructuras moleculares complejas, difíciles de degradar por los microorganismos.

- Sedimentos y materiales en suspensión.

Partículas arrancadas y arrastradas junto con otros materiales que hay en suspensión, en las aguas, son, en términos de masa total, la mayor fuente de contaminación del agua.

- Sustancias radioactivas.

Isótopos radiactivos solubles pueden estar presentes en el agua, y, a veces, se pueden ir acumulando a lo largo de las cadenas tróficas, hasta alcanzar concentraciones más altas en algunos tejidos vivos que las que tenían el agua [13].

### **6.3. Calidad del agua**

La calidad del agua se refiere a las características físicas, químicas y biológicas de los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, que cumplan con ciertas condiciones es de seguridad. Para conocer esta información se requieren datos puntuales como la determinación de ciertos parámetros fisicoquímicos relacionados con la presencia de materia orgánica como la Demanda Química de Oxígeno y Demanda Bioquímica de Oxígeno; presencia de nutrientes por medio de Nitrógeno y Fósforo Total; y otros parámetros de interés como son: la Alcalinidad, el pH, la Temperatura, la Conductividad Eléctrica, los Sólidos Suspendidos, el Oxígeno Disuelto, entre otros [14].

Por lo general, la calidad del agua se determina comparando las características físicas, químicas y bacteriológicas del agua con directrices de calidad del agua o estándares. Para ello, se mide la concentración de sus componentes y los efectos o propiedades causadas por la presencia de estas sustancias. El riesgo más grave para la salud humana relacionada con la calidad del agua de beber es el que deriva de la contaminación microbiológica, particularmente la fecal. Por lo que la protección de la salud exige que las fuentes de contaminación microbiológicas estén situadas lo bastante lejos de las fuentes de agua potable para eliminar o reducir el riesgo que representan [15].

### **6.4. Parámetros fisicoquímicos**

El agua contiene diversas sustancias químicas y biológicas disueltas o suspendidas y una serie de organismos vivos que reaccionan con sus elementos físicos y químicos. Por estas razones es necesario tratarla para hacerla adecuada para su uso como abastecimiento a la población según el uso que se le vaya a dar al agua se aplicarán los requisitos de calidad. La calidad se califica como “el grado en el cual se ajusta a los estándares físicos, químicos y biológicos fijados por normas nacionales e internacionales”. Es importante conocer los requisitos de calidad para cada uso, a fin de determinar si se requiere tratamiento

y qué proceso se debe aplicar para alcanzar la calidad deseada; asimismo, los estándares de calidad también se usan para vigilar los procesos de tratamiento y corregirlos si es necesario [16].

### **6.5. Parámetros físicos**

En cuanto al abastecimiento de agua se deben considerar los sabores, los olores, los colores y la turbidez del agua, porque dan mal aspecto y mal sabor, pero también a causa de su uso en la elaboración de bebidas, en la preparación de alimentos y en la fabricación de textiles [16].

- Color.

El color se debe a la presencia de sustancias en solución (color verdadero o real), sustancias en suspensión (color aparente) y materia coloidal, como los minerales de hierro y manganeso, la materia orgánica y los residuos coloridos de las industrias.

- Turbiedad.

La turbiedad es un parámetro importante en la calidad de agua, debido a que es la representación estética del agua, se debe a la presencia de partículas suspendidas coloidales y disueltas: materia en suspensión como la arcilla o el cieno, o materia orgánica e inorgánica, así como compuestos solubles coloridos y plancton; también puede contener microorganismos adheridos a las partículas en suspensión.

- Temperatura.

La temperatura ideal para el consumo es de entre 8 y 15 °C, e influye en reacciones químicas y biológicas.

### **6.6. Parámetros químicos.**

Los compuestos químicos disueltos en el agua pueden ser de origen natural o industrial, y serán benéficos o dañinos según su composición y concentración [16].

- pH.

El pH es la medida de la intensidad ácida o básica de una solución, y se mide con los parámetros de esta ecuación:  $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$ , es decir, representa la alcalinidad y acidez, la capacidad amortiguadora de un agua y la contribución de  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{HCO}_3^-$ , pero normalmente la mayor parte se debe al sistema carbónico-carbonato.

- Alcalinidad.

La alcalinidad es una medida de la capacidad para neutralizar ácidos, viene favorecida por la presencia de los iones bicarbonato ( $\text{CO}_3\text{H}^-$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{=}$ ) y oxhidrilo ( $\text{OH}^-$ ), asimismo por los fosfatos y los ácidos de carácter débil.

- Nitrógeno.

El nitrógeno orgánico está asociado a la materia orgánica: proteínas, urea, ácidos nucleicos, etc.

- Fosfato.

El ion fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) forma sales muy poco solubles y precipita fácilmente como fosfato cálcico, como proviene de un ácido débil contribuye a la alcalinidad del agua y no hay más de 1 mg/L en el agua, salvo en los casos de contaminación por fertilizantes fosfatados.

- Demanda química de oxígeno (DQO).

La demanda química de oxígeno es un parámetro que se utiliza para estimar la contaminación orgánica del agua. Se mide a partir de la cantidad de oxígeno disuelto necesario para la degradación química de los contaminantes orgánicos que contiene; es decir, es la estimación de la materia oxidable, en términos de oxígeno equivalente presente en el agua, independientemente de su origen orgánico o mineral. Las aguas no contaminadas tienen valores de DQO de 1 a 5 ppm. Las aguas residuales domésticas contienen entre 260 y 600 ppm. Hay un índice que indica qué tipo de aguas se están analizando y se obtiene con la relación de DBO/DQO; si es menor de 0.2, el vertido será de tipo inorgánico y, si es mayor de 0.6, se interpretará como un vertido orgánico.

- Oxígeno disuelto (OD).

El oxígeno disuelto es un indicador de la contaminación y de la capacidad de dar soporte a la vida vegetal y animal; generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si hay un valor de OD en un intervalo de 0-4 mg/L, la calidad del agua es mala –algunas poblaciones de peces y macroinvertebrados empezaran a bajar–; si el OD es de 4.1-7.9 mg/L, la calidad del agua es aceptable, y para valores de OD de 8-12 mg/L, la calidad del agua es buena [16].

## **6.7. Parámetros biológicos.**

Los parámetros biológicos son indicativos de la contaminación orgánica y biológica –actividad natural, como la humana–, contribuyen a la contaminación orgánica de las aguas: la descomposición animal y vegetal, los residuos domésticos, los detergentes y otros [16].

- Demanda biológica de oxígeno (DBO).

Es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua durante un periodo de cinco días; es decir, es un parámetro que expresa la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación bioquímica de los compuestos orgánicos degradables existentes en el líquido residual, fijando condiciones de tiempo y temperatura.

## **6.8. Bioensayo de toxicidad**

La toxicidad se basa en dos tipos que son:

- Toxicidad aguda.

Es un efecto adverso (letal o subletal) inducido sobre los organismos de ensayo en prueba durante un periodo de exposición del material de ensayo, usualmente de pocos días.

- Toxicidad crónica.

Son efectos tóxicos a largo plazo relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia.

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos [4].

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres. Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones concentración-respuesta bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio [17].

Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico [4].

Al implementar bioensayos y pruebas de toxicidad es necesario efectuar su estandarización, que consiste en establecer la sensibilidad de las especies y la reproducibilidad del experimento frente a un tóxico de referencia. Lo anterior es útil para asegurarse que la respuesta de la población expuesta a cierto agente tóxico se deba al efecto de éste y no a variaciones de la sensibilidad de los organismos [17].

La fitotoxicidad se refiere al grado de efecto tóxico que es producido por un compuesto y afectan el crecimiento de la planta [4].

### **6.9. Proceso de germinación**

La germinación se inicia con la entrada de agua en la semilla (imbibición) y finaliza con el comienzo de la elongación de la radícula. En condiciones de laboratorio, la posterior rotura de las cubiertas seminales por la radícula es el hecho que se utiliza para considerar que la germinación ha tenido lugar (criterio fisiológico). Sin embargo, en condiciones de campo se considera que la germinación ha finalizado hasta que se produce la emergencia y desarrollo de una plántula normal (criterio agronómico) [8].

- **Inhibición.**

La primera etapa de la germinación se inicia con la entrada de agua en la semilla desde el medio exterior (imbibición). La hidratación de los tejidos de la semilla es un proceso físico con una duración variable según la especie considerada [8].

- **Germinación.**

Una vez que la semilla se ha hidratado adecuadamente, se entra en una segunda etapa del proceso de germinación, la denominada fase de germinación "*sensu stricto*" (en sentido estricto), y que se caracteriza, entre otros hechos, porque se produce una disminución en la absorción de agua por las semillas. Durante esta etapa tiene lugar una activación generalizada del metabolismo de la semilla, lo

cual es esencial para que se desarrolle la última fase del proceso de germinación, la fase de crecimiento [8].

- Fase de crecimiento.

En esta última fase de la germinación, paralelamente al incremento de la actividad metabólica, se produce el crecimiento y emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales. Las semillas que han alcanzado la fase de crecimiento no pueden volver a etapas anteriores y en el caso de que las condiciones del medio no permitan que esta fase pueda seguir adelante, la semilla morirá [8].

### **6.10. Factores físicos importantes en la germinación**

- Agua.

La entrada de agua a las semillas es un proceso físico que se produce por capilaridad a través de las cubiertas seminales. Para ello el agua debe encontrarse disponible en el suelo, siendo poco relevante la cantidad de agua que la semilla pueda captar de la atmósfera circundante [18].

- Oxígeno.

El oxígeno llega al embrión disuelto en el agua de imbibición, siendo imprescindible para que la germinación pueda tener lugar. Sólo, excepcionalmente, las semillas de algunas especies, sobre todo de plantas acuáticas, pueden llegar a germinar en ausencia o con bajas concentraciones de oxígeno.

- Temperatura.

Para cada especie existe un rango de temperaturas dentro del cual puede tener lugar la germinación de sus semillas. Este rango queda definido por una temperatura máxima y una temperatura mínima para la germinación; considerándose como temperatura óptima de germinación, la temperatura, dentro del intervalo, más idónea para obtener el mayor porcentaje de semillas germinadas en el menor tiempo posible [18].

- Iluminación.

El efecto que las condiciones de iluminación tienen sobre las semillas permite clasificar a éstas en tres categorías:

- a) Semillas con fotosensibilidad positiva: son semillas que germinan preferentemente bajo iluminación.



- b) Semillas con fotosensibilidad negativa: son semillas que germinan preferentemente en oscuridad, mientras que la iluminación inhibe su germinación.
- c) Semillas no fotosensibles: son semillas que germinan independientemente de las condiciones de iluminación [18].

### 6.11. Cálculo del porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación (%G), o el porcentaje real de todas las semillas de la muestra que han germinado durante las pruebas, es útil para comparar la calidad de las colecciones de semillas en los programas de ensayo y en la investigación [44]. Se expresa de la siguiente manera **(Ver ecuación 1)**:

$$\%G = \frac{\text{No de semillas germinadas}}{\text{No de semillas totales}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

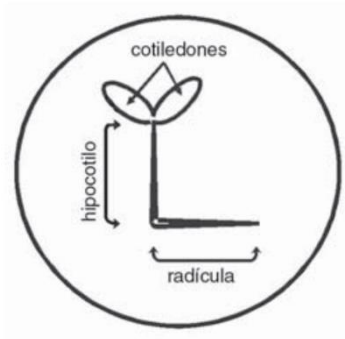
### 6.12. Cálculo del porcentaje de la inhibición del alargamiento radicular (IAR%) y de la inhibición del crecimiento del hipocótilo (ICH%)

El IAR% representa los datos obtenidos de las mediciones realizadas en la radícula de cada semilla germinada **(Ver ecuación 2)**. Para obtener la medida de la radícula se considera desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular [25] **(Ver imagen 1)**.

$$IAR\% = \frac{\text{dilución} - \text{testigo}}{\text{testigo}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

El ICH% representa los datos obtenidos de las mediciones realizadas en el hipocótilo de cada semilla germinada **(Ver ecuación 3)**. La medida del hipocótilo se considera desde el nudo hasta el sitio de inserción de los dos cotiledones [25].

$$ICH\% = \frac{\text{dilución} - \text{testigo}}{\text{testigo}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$



**Figura 1.** Esquema de la plántula de *Lactuca sativa* al finalizar el periodo de exposición.  
Fuente: Sobrero & Ronco [25].

### 6.13. Cálculo del índice de germinación

El índice de germinación (IG) representa el producto de la germinación relativa de las semillas por el crecimiento relativo de la radícula. Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. Este índice expresa tanto el porcentaje de semillas germinadas como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo[3].

La germinación relativa de semillas (GRS) representa el porcentaje de semillas germinadas en el agua de los diferentes sitios de estudio con respecto a aquellas germinadas en el testigo (CN).

El crecimiento relativo de la radícula (CRR) representa el porcentaje de crecimiento de la radícula de las semillas expuestas a las aguas de los diferentes sitios de estudio con respecto a aquellas del lote testigo [3].

Para poder realizar las comparaciones adecuadas, los resultados que se obtendrán serán expresados como el porcentaje de la germinación relativa de semillas (GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y el índice de germinación (IG) **(Ver ecuación 4, 5 y 6).**

Llevando a cabo lo propuesto por Hoekstra [19] y Walter [20], las siguientes expresiones quedarían de la siguiente manera:

$$GRS\% = \frac{\text{No de semillas germinadas con la muestra de agua problema}}{\text{No de semillas germinadas (testigo)}} \times 100$$

*Ecuación 4*

$$CRR\% = \frac{\text{Longitud promedio de la radícula con la muestra}}{\text{Longitud promedio de la radícula (testigo)}} \times 100$$

*Ecuación 5*

$$IG\% = \frac{GRS \times CRR}{100}$$

*Ecuación 6*

Adicionalmente, se calcularon los índices del porcentaje de germinación residual normalizado (IGN) y de elongación radical residual normalizado (IER), de acuerdo con Bagur-González [36] (**Ver ecuación 7 y 8**).

$$IGN = \frac{\text{Germ}_x - \text{Germ}_{\text{Testigo}}}{\text{Germ}_{\text{Testigo}}}$$

*Ecuación 7*

Donde  $\text{Germ}_x$  es el porcentaje promedio de semillas germinadas en el agua de cada sitio de estudio y  $\text{Germ}_{\text{Testigo}}$  es el porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

$$IER = \frac{\text{Elong}_x - \text{Elong}_{\text{Testigo}}}{\text{Elong}_{\text{Testigo}}}$$

*Ecuación 8*

Donde  $\text{Elong}_x$  es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en cada sitio de estudio y cada dilución, y  $\text{Elong}_{\text{Testigo}}$  es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo.

Ambos índices IGN e IER establecen valores de toxicidad desde  $-1$  a  $> 0$  bajo las siguientes categorías: índice de  $0$  a  $-0.25$  baja toxicidad, de  $-0.25$  a  $-0.5$  toxicidad moderada, de  $-0.5$  a  $-0.75$  muy tóxico y de  $-0.75$  a  $-1.0$ , toxicidad muy alta; valores del índice  $> 0$  indican crecimiento de la radícula u hormesis [36].

## 7. ANTECEDENTES

En 2008 Lallana et al. [21] en el bioensayo de germinación de *Lactuca sativa* (L.): determinación de calidad de agua en represas para riego, la evaluación de la germinación y longitud radicular se realizó a las 96 horas, tiempo menor a las 120 horas sugeridas por el CIID (Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo). Ensayos previos mostraron muy buen desarrollo radicular y de hipocótilo en ese lapso. El porcentaje de germinación promedio de los tratamientos fue de 96,07% y 97,9% en el testigo (control negativo con agua destilada), indicando que no hubo ningún efecto de toxicidad del agua sobre la germinación.

Tanto la longitud radicular como el IG presentaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,0001$ ) con respecto al testigo, con un  $R^2$  de 0,81 y 0,73 y coeficientes de variación de 17,3 y 11,6, respectivamente.

En general los demás parámetros se encontraron dentro de la normalidad, con excepción del muy bajo valor de OD (2 mg/l) en la muestra de agua 26.0, que podría indicar una alta carga de material orgánico, que al ser degradado por los microorganismos y elevar éstos el consumo de oxígeno disminuiría el contenido en el agua, especialmente en esta represa que se encontraba en situación de aguas bajas, por falta de lluvias, y con abundante vegetación acuática palustre y terrestre.

El porcentaje de germinación promedio de los tratamientos y del testigo fue cercano al 97% indicando que no presentaron toxicidad alguna que pudiera inhibir el proceso de germinación. Las aguas de las presas analizadas en los bioensayos con *Lactuca sativa* L. variedad mantecosa presentaron altos valores del índice de germinación, lo cual indicaría que no son fitotóxicas y resultan de buena calidad para ser utilizadas con fines de riego.

En 2014 Joseph et al. [3] determinaron el índice de germinación y elongación de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma, se obtuvo un total de varianza explicada acumulada en 4 componentes de 97.29%, esto correspondiente a los factores ambientales. En el índice de germinación se presentó que el IG más bajo fue de 47.95, mientras que los demás sitios obtuvieron valores superiores a 70. En el crecimiento relativo de la radícula, a pesar de que no se detectaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), los valores de CRR de los sitios E1, E2, E3 y E6 mostraron crecimiento superior al testigo, mientras que las plántulas expuestas a las aguas de los sitios E4 y E5 presentaron un crecimiento de la radícula inferior al testigo. Las aguas de los sitios E1, E2, E3 y E6 se caracterizaron por altas concentraciones de nutrientes, lo que podría promover el crecimiento de la radícula. En los índices de

elongación radical los valores obtenidos mostraron que los sitios E1, E2 y E3, compartieron valores positivos en el siguiente orden: E2 (0.39) > E3 (0.35) > E1 (0.19), lo que indica una respuesta estimulante del crecimiento de la radícula u hormesis. Por otro lado, los sitios E4, E5 y E6, presentaron los siguientes valores negativos: E4 (-0.32) > E5 (-0.28) y E6 (-0.048). Los sitios E4 y E5 se consideran con una toxicidad moderada.

En 2006 Torres et al. [22] realizaron la prueba de toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con *Lactuca sativa* L. De los cuatro lixiviados analizados sólo uno resultó tóxico. Se expresa que la muestra pura produjo un 87% de inhibición de la prolongación de la raíz del vegetal (efecto), mientras que el 50% de la inhibición es producido por el 24% de la muestra. Por debajo del 6% no hay efecto. Los valores del porcentaje de inhibición resultaron negativos en todas las dosis probadas. Al analizar los posibles contaminantes de las muestras se pudo comprobar que contenían una alta concentración de cloruros por lo que nos dimos a la tarea de realizar un ensayo paralelo con el objetivo de identificar la interferencia de los mismos en los resultados de las muestras. Se ensayó con un control positivo de cloruros a la misma concentración reportada para la muestra en la que fueron detectados (por debajo del 0,19%). No se halló influencia de los mismos en la prolongación de la raíz de las semillas.

En 2019, Míguez et al. [23], realizaron un test estático agudo de 5 días, con semillas de *Lactuca sativa* variedad *Buttercrunch*. En este estudio se comparó el crecimiento radicular de las semillas de lechuga expuestas a un tratamiento al 100% de la muestra y a un control negativo que consiste en agua dura reconstituida. Se observó bioestimulación leve en el ensayo de *Lactuca sativa* y se detectaron niveles de toxicidad leve en todos los puntos del muestreo. Su estudio preliminar de ecotoxicidad y contaminación no puntual por nitrógeno y fósforo presenta rangos de 0,028 - 4,05 mg/L en el caso del fósforo mientras que en el caso del nitrógeno valores que fluctúan de 1.17 - 4.13 mg/L ambos no se encuentran en el decreto 253/79 de Uruguay.

La significación de las diferencias de crecimiento encontradas se realizó mediante la aplicación de un análisis de varianza ANOVA a dos vías y la realización de su correspondiente post-test obtuvieron resultados con *Lactuca sativa*.

## 8. METODOLOGÍA

### 8.1. Descripción del sitio de estudio

El río Los Perros o Las Nutrias, se encuentra en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca y forma parte de la región Pacífico Sur, nace cerca de Guevea de Humboldt y desemboca en la laguna Superior, pertenece a la región hidrológica Tehuantepec RH22-Laguna Superior e Inferior. Este río cuenta con una longitud de 98.7 km [10]. Se presenta la concurrencia de 14 municipios de los cuales 2 concurren totalmente (Santiago La Ollaga y Santo Domingo Chihuitán) y 2 mayoritariamente (Santa María Guienagati y Ciudad Ixtepec) con sus actividades económicas y productivas, distribuidas en 8 localidades urbanas y 103 rurales.

Durante su recorrido se le incorporan diferentes cauces: río Santa María, arroyo Guichixú, río Guigovidxi, río El Zapote, río Brinca León, arroyo Agua Blanca, arroyo el Riito y otros arroyos de menor caudal; toma el nombre de Río Los Perros a partir de CD Ixtepec [37].

- Precipitación.

El periodo de lluvias de la región es de julio a noviembre. Para conocer la precipitación de la zona se han identificado 46 estaciones climatológicas, considerando un buffer de 30 kilómetros a la redonda de la subcuenca del río de Los Perros, sin embargo, es importante mencionar que no todas tienen influencia sobre el área de estudio [37].

- Temperatura.

En cuanto a la temperatura, las estaciones climatológicas registran una temperatura ambiental promedio de 23.4 grados centígrados en la cuenca [37].

- Uso de suelo.

La selva baja caducifolia es la que ocupa una mayor área en la cuenca (30%), siendo comunidades vegetales dominadas por árboles pequeños que pierden sus hojas durante la época seca del año. El segundo uso del suelo es la agricultura de temporal, complementando la vegetación de selva baja caducifolia se encuentra la vegetación secundaria arbustiva y arbórea [37].

- Edafología.

El tipo de suelo que presenta la cuenca en mayor cantidad es el Leptosol y el Cambisol, el primero corresponde a un material de espesor reducido, el material original puede ser rocas o materiales no consolidados con medos del 10% de tierra fina, siendo suelos poco atractivos para cultivos, suelen mantenerse bajo bosque. El segundo se refiere a materiales de alteración procedentes de un amplio abanico de rocas, entre ellos destacan los depósitos de carácter eólico, aluvial o coluvial y permite un amplio rango de posibles usos agrícolas. En la parte baja de la cuenca existe presencia de Vetisoles, material constituido por sedimentos con una elevada proporción de arcillas esmécticas, o productos de alteración de rocas que las generen, este tipo de suelo se vuelve muy duro en la estación seca y muy plástico en la húmeda. El labrado es muy difícil excepto en los cortos periodos de transición entre ambas estaciones [37].

- Flora.

La cuenca del río de los Perros posee características variadas que permiten la existencia de especies de diferentes tipos, marcando un cambio significativo de las que se encuentran en la parte alta de la cuenca con la que está en la parte baja. La vegetación principal es la correspondiente a la de selva baja caducifolia, la cual se caracteriza por que la mayoría de las especies que la componen pierdan sus hojas durante la época seca, es decir entre 5 y 8 meses del año. Presenta un sólo estrato con una altura menor a los 15 m. Entre las especies dominantes se encuentran: siricote (*Cordia dodecandra*), palo de agua o chijol (*Piscidia piscipula*), tecomate (*Crescentia alata*), Guayacán amarillo (*Tabebuia Chrysantha*), *Tabebuia rosea*, Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), Acacia cornígera, huizache (*Acacia farnesiana*), nopal de cruz (*Acanthocereus pentagonus*), arbusto (*Aeschynomene compacta*), Agaves, mezquite (*Prosopis Juliflora*) siendo útil como forraje y palo verde (*Cercidium plurifolio latum*) siendo su uso especialmente para leña.

También existe en la zona: tulipanes, granadillo, gulavere, palo mulato, cascalote, palo de sangre, tepehuaje, pochote, roble, ceiba, guirisiña, guamúchil, pastizales nativos y árboles frutales propios del clima como el aguacate, limones, chicozapote, ciruelos y el mango [37].

- Fauna.

Derivado del clima de la región, existen en la zona una variedad de especies silvestres como: armadillo, pecarí, conejo, gato montés, venado, liebre, zorra gris, coyote, rata de campo, cacomiztle, oso hormiguero, tlacuache, en algunas zonas jabalí, tejón, mapache, zorrillo; aves de diferentes especies como son;

chachalaca, zopilote, tórtola, codorniz, paloma, urraca, cenizote, quebrantahuesos, calandria, zanate, gorrión, gavilán, faisán, loro, cotorra, ruiseñor, pájaro carpintero y garzas en la orilla de los ríos y canales; algunos reptiles como: iguana, culebras, víbora sorda y víbora cascabel, peces y anfibios; que de alguna manera complementan la dieta de los nativos; algunas especies están en peligro de extinción como: el venado y la iguana [37].



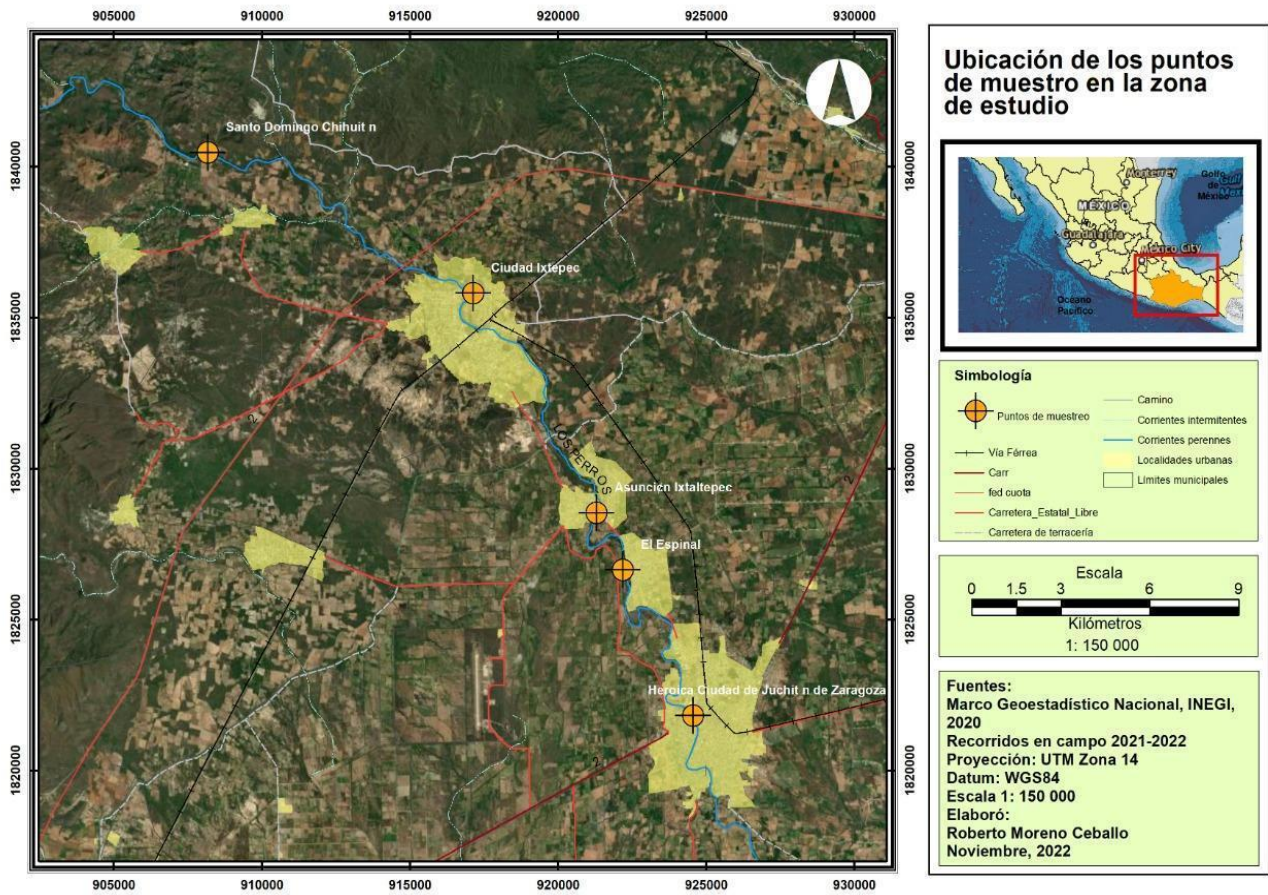
## 8.2. Muestreo

Se seleccionaron cinco puntos de muestreo (**Ver Tabla 1**) y las muestras se recolectaron entre los municipios con los que colinda (**Ver Figura 2**). Las muestras se colectaron en el mes de Noviembre del año 2022, durante la temporada de estiaje.

**Tabla 1.** Localización de los puntos de muestreo.

| Punto de colecta | Lugar                                  | Datos demográficos   | Coordenadas geográficas            |
|------------------|--|--|------------------------------------|
| LP-CH            | Santo Domingo Chihuitán                | Santo Domingo Chihuitán cuenta con una población de 1,618 habitantes (49% hombres y 51% mujeres). En comparación a 2010, la población en Santo Domingo Chihuitán creció un 6.38%. [28] | 16°36'40.8" N<br>-095°10'31.7"W    |
| LP-IX            | Ciudad Ixtepec                         | La población en Ciudad Ixtepec es de 28,082 habitantes (47.4% hombres y 52.6% mujeres). En comparación a 2010, la población en Ciudad Ixtepec creció un 6.17%. [29]                    | 16°34'03.7" N<br>-095°05'33.0" W   |
| LP-IXTAL         | Asunción Ixtaltepec                    | Asunción Ixtaltepec cuenta con 15,261 habitantes (49.5% hombres y 50.5% mujeres). En comparación a 2010, la población en Asunción Ixtaltepec creció un 3.46%. [30]                     | 16°30' 05.0" N<br>-095°03' 17.5"W  |
| LP-ES            | El Espinal                             | La población en El Espinal es de 8,730 habitantes (48.6% hombres y 51.4% mujeres). En comparación a 2010, la población en El Espinal creció un 5.05%. [31]                             | 16°29' 03.0" N<br>-095°02' 48.7" W |
| LP-JUCH          | Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza | Juchitán de Zaragoza cuenta con 113,570 habitantes (48.1% hombres y 51.9% mujeres). En comparación a 2010, la población en Juchitán de Zaragoza creció un 22.1%. [32]                  | 16°26' 24.8" N<br>-095°01' 32.0" W |

Figura 2. Mapa de localización de puntos de muestreo.



Elaboró: Roberto Moreno Ceballo, 2022.

Para la colecta de muestras, previamente se rotularon recipientes de plástico de 250 mL con tapa hermética y tapa de rosca para evitar derrames o contaminación. Para la identificación de la muestra se consideró el nombre del asentamiento más cercano al punto de colecta, se indicó la fecha y hora exacta para la toma de cada muestra. El muestreo se consideró la zona central del río o de una zona donde fluyera el agua, la suficiente cantidad como para llenar los frascos. Cada frasco se enjuagó tres veces con el agua de cada punto evitando movilizar el sedimento antes de la colecta final [24]. Las muestras que serían analizadas exclusivamente para Nitrógeno total, se acidificaron con ácido sulfúrico para su preservación, todas las muestras se almacenaron en una hielera acondicionada con temperatura de 4° C para su transporte hasta el laboratorio. En campo se midieron los parámetros de temperatura, conductividad eléctrica, pH y oxígeno disuelto con sondas de uso rudo conectadas a un equipo multiparamétrico marca HACH HQ40d. El resto de los parámetros se analizaron en los Laboratorios Institucionales del Centro público de investigación el Colegio de la Frontera Sur, Unidad San Cristóbal de las Casas. En la Tabla 2 se muestra los métodos de análisis.

**Tabla 2.** Métodos de análisis para la medición fisicoquímicos en agua.

| <b>PARÁMETRO</b>                 | <b>UNIDAD</b>   | <b>FUNDAMENTO</b>   |
|----------------------------------|-----------------|---|
| pH                               | unidades        | NMX-AA-008-SCFI-2001  |
| Cloruros                         | mg/L            | NMX-AA-073-SCFI-2001  |
| Oxígeno disuelto                 | mg/L            | NMX-AA-012-SCFI-2001  |
| Demanda química de oxígeno (DQO) | mg/L            | NMX-AA-030/2-SCFI-2011                                      |
| Conductividad                    | µs/cm           | NMX-AA-093-SCFI-2000  |
| Nitritos                         | mg/L            | NMX-AA-026-SCFI-2010  |
| Nitratos                         | mg/L            | NMX-AA-026-SCFI-2010  |
| Nitrógeno amoniacal              | mg/L            | NMX-AA-026-SCFI-2010  |
| Nitrógeno total                  | mg/L N-Kjeldahl | NMX-AA-026-SCFI-2010  |
| Fósforo total                    | mg/L PT         | Método HACH 8190 (Ácido ascórbico/Digestión con persulfato) |

Elaboración propia.

### 8.3. Prueba de viabilidad

La viabilidad representa la cantidad de semillas de un lote capaces de germinar y llegar a un estado reproductivo en condiciones de campo. El porcentaje de viabilidad permite saber la cantidad de semillas que deben ser sembradas para obtener un número específico de plántulas [27].

La prueba de viabilidad comienza realizando el conteo de las semillas, seleccionando las del mismo tamaño y forma (**Ver Figura 3**). Se utilizaron 100 semillas de lechuga *Lactuca sativa*, variedad mantecosa. Las semillas se colocaron en un vaso de precipitado de 1000 mL, se agregaron 250 mL de agua destilada para cubrir la totalidad de las semillas, se dejaron en imbibición durante 24 horas. Después de este periodo de tiempo se observaron las semillas y se contabilizaron las semillas que permanecieron en el fondo del recipiente (semillas viables) (**Ver Figura 4**). En este caso no se contabilizaron semillas flotantes (semillas vanas o inviables) [34]. Posteriormente se obtuvo el porcentaje de viabilidad (**Ver ecuación 9**).



**Figura 3.** Conteo y selección de las semillas y prueba de viabilidad (Castillejos Escobar A., 2022).



**Figura 4.** Prueba de viabilidad 24 horas después de las semillas de lechuga (Castillejos Escobar A., 2022).

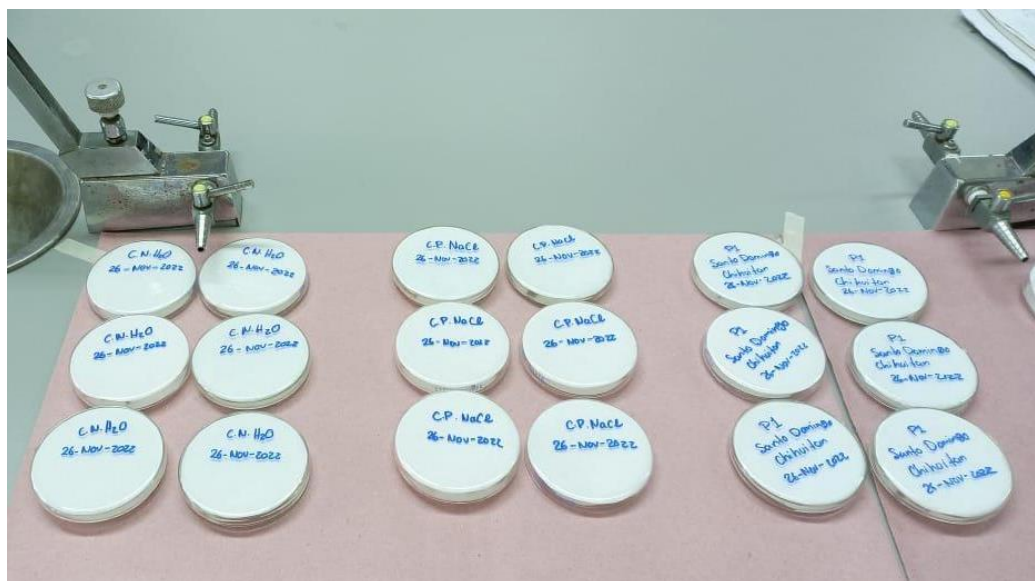
$$\% \text{Cálculo de viabilidad} = \frac{(\text{No total de semillas} - \text{No total de semillas flotantes})}{\text{No total de semillas (N)}} \times 100$$

*Ecuación 9*

Para este caso se obtuvo una viabilidad del 100% de todas las semillas.

#### **8.4. Bioensayo en inhibición de la germinación**

En este ensayo se requirieron 420 semillas de lechuga de la especie *Lactuca sativa*, variedad mantecosa. Se trabajaron 60 semillas por muestra problema y para cada control, para ello se colocaron 10 semillas en cada caja de Petri de vidrio de 9 mm de diámetro, previamente etiquetadas y acondicionadas con papel filtro marca Whatman No. 1, tanto en la base y como en la tapa (**Ver Figura 5**). Para el control positivo, se utilizó una solución de cloruro de sodio al 99,9%, para su preparación se pesaron 2.0 g de NaCl en una balanza analítica marca AND Super Hybrid Sensor modelo HR-250A. Posteriormente se agregaron 200 ml de agua destilada, se mezclaron en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con agitación constante hasta su disolución. Posteriormente esta solución se colocó en un matraz volumétrico de 250 ml para su aforo con agua destilada, se almacenó en el refrigerador a una temperatura de 4° C. Para el control negativo se utilizó agua destilada. Posteriormente se colocaron dentro de cada caja 5 mL de la muestra problema, asegurando que todas las semillas estuvieran en contacto con la muestra, de igual forma se colocó el mismo volumen de control negativo y control positivo, en las cajas correspondientes. Enseguida se cubrieron las cajas con su tapa y se llevaron a una incubadora marca VELP SCIENTIFICA modelo FOC 225E, a una temperatura controlada de  $22 \pm 2^\circ \text{C}$  y en condiciones de oscuridad, el ensayo de germinación se realizó durante 120 h, verificando diariamente el contenido de cada una de las cajas para registrar la existencia de brotes de germinación.



**Figura 5.** Cajas de Petri etiquetadas para cada una de las muestras y controles.  
Imagen propia.

Concluidas las 120 h de exposición, se tomaron con cuidado cada una de los germinados de lechuga, para colocarlas en una superficie plana para poder extenderlas, procurando no romper las estructuras, se realizó la medición de la radícula y el hipocótilo con el apoyo de un Vernier.

Los datos obtenidos fueron registrados y posteriormente se realizaron los cálculos para obtener los porcentajes de germinación, germinación relativa, crecimiento relativo de la radícula, índice de germinación, índice del porcentaje de germinación residual normalizado e índice de elongación relativa (Ver ecuación 1, 4, 5, 6, 7 y 8).

Así mismo con los promedios obtenidos de las mediciones se realizan cálculos correspondientes a inhibición del alargamiento de la radícula (IAR) y de la inhibición del crecimiento del hipocótilo (ICH). (Ver ecuación 2 y 3).

## 9. RESULTADOS

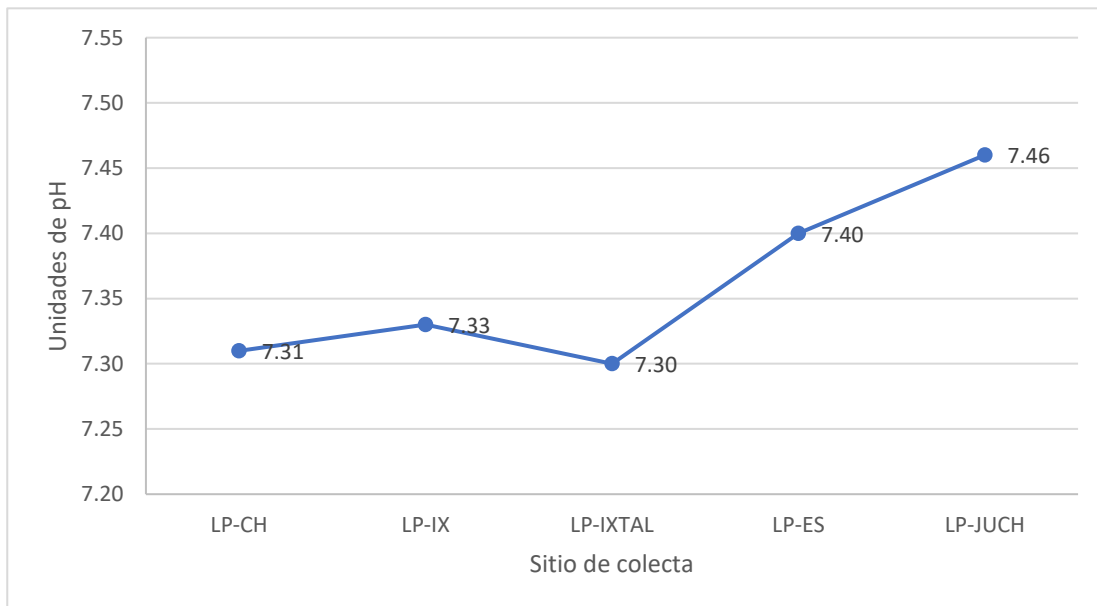
Se otorgó un folio de identificación para cada punto o sitio de colecta, quedando de la siguiente forma:

- **LP-CH:** Santo Domingo Chihuitán
- **LP-IX:** Ciudad Ixtepec
- **LP-IXTAL:** Asunción Ixtaltepec
- **LP-ES:** El Espinal
- **LP-JUCH:** Heroica ciudad de Juchitán de Zaragoza

### 9.1. Parámetros fisicoquímicos

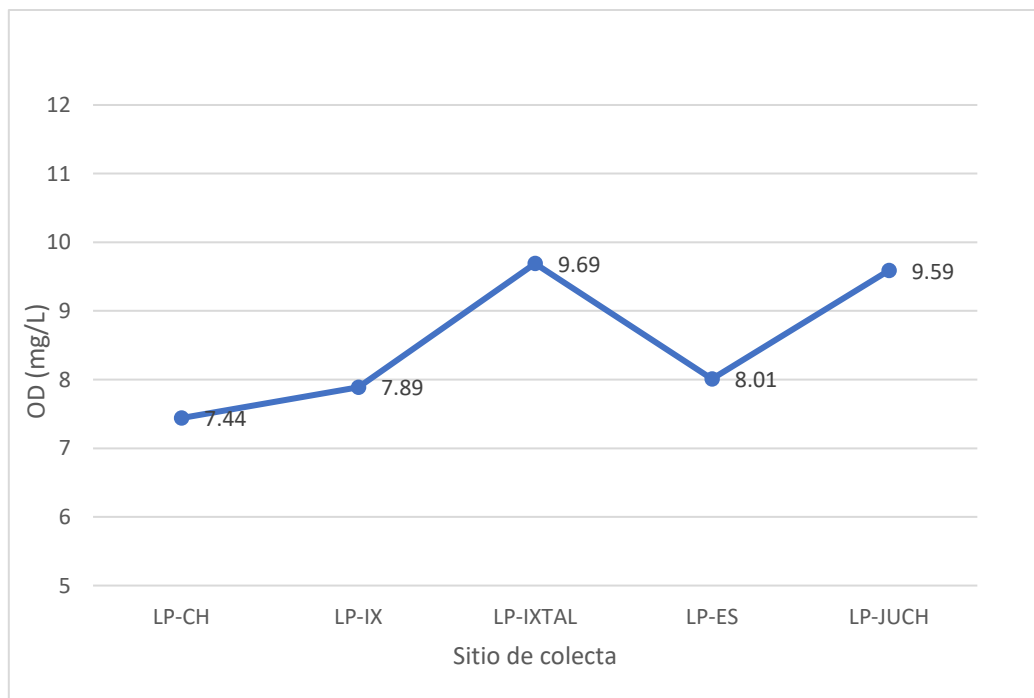
Los valores medidos de potencial de hidrógeno (pH) en campo se comportaron de forma similar en todos los sitios, con un valor cercano a la neutralidad en la escala, con un rango de 7.3 a 7.4 (**Ver Tabla 4 en Anexos**), en la Figura 6, se muestra el comportamiento de los valores en cada punto de colecta. En la NOM-127-SSA1-2021 en las especificaciones sanitarias físicas se indica un rango en unidades de pH entre 6.5 a 8.5.

**Figura 6.** Valores de unidades de pH en agua superficial del río Los Perros.



Los valores de oxígeno disuelto se encontraron en el rango de 7.4 a 9.59 mg/L, obteniendo los valores mínimos para los puntos de Santo Domingo Chihuitán y Ciudad Ixtepec, los de mayor magnitud se encontraron en los puntos de Asunción Ixtaltepec y Juchitán de Zaragoza. **(Ver Tabla 5 en Anexos) (Ver Figura 7)**. Sin embargo, considerando que los niveles de OD en el agua al bajar de 5.0 mg/l, pone bajo presión la vida acuática y con niveles de oxígeno por debajo de 1-2 mg/l pueden resultar en graves consecuencias para la vida acuática [37]. Los valores de todos los sitios se encuentran fuera de los niveles de afectación de la vida acuática.

**Figura 7.** Valores de oxígeno disuelto en agua superficial del río Los Perros.



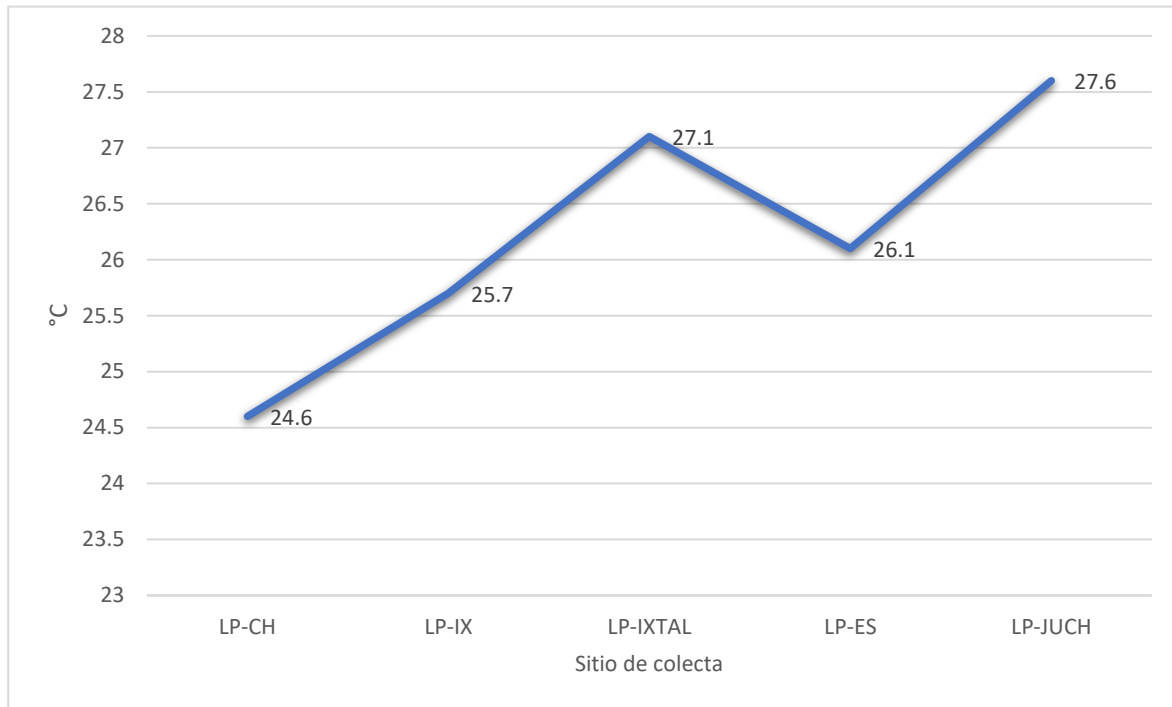
Los resultados obtenidos en los valores de temperatura se muestran en la Figura 8, dónde se puede observar el valor mínimo de 24.6 °C para el punto de Santo Domingo Chihuitán y el valor máximo de 27.6 °C para Juchitán de Zaragoza. Tomando en cuenta el valor instantáneo como límite permisible de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-2021 para aguas superficiales de 35° C, ninguno de los sitios se encuentra por encima de este valor **(Ver Tabla 6 en Anexos)**.

Para el caso de la conductividad eléctrica en las aguas superficiales, suele encontrarse en el intervalo entre 200 y 1,000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  [37], el valor máximo obtenido fue de 500.8  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para el punto de Juchitán de

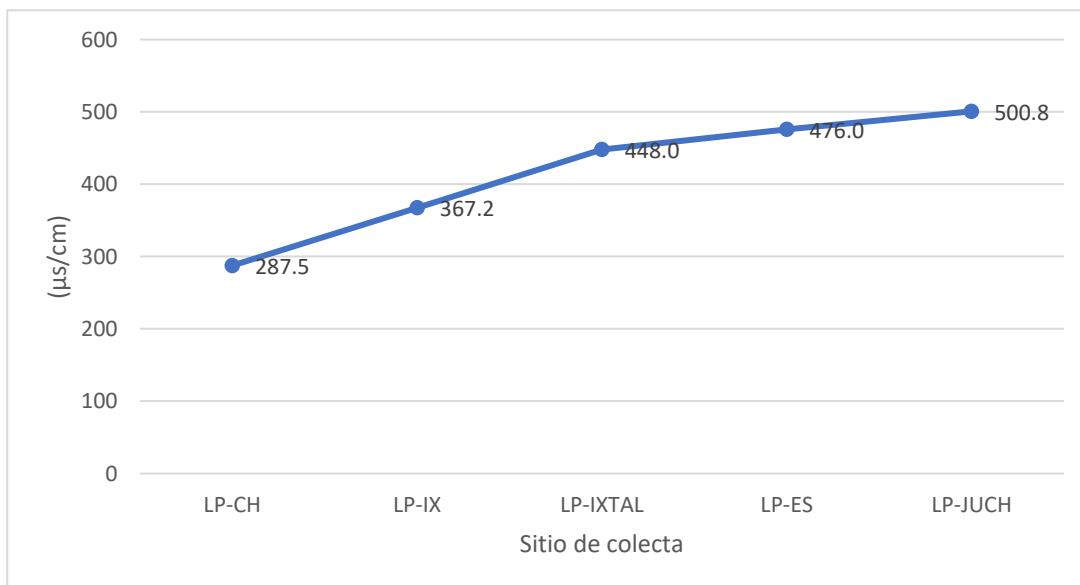


Zaragoza, encontrándose todos los valores de los puntos de colecta por debajo de este último valor. (Ver Tabla 7 en Anexos) (Ver Figura 9).

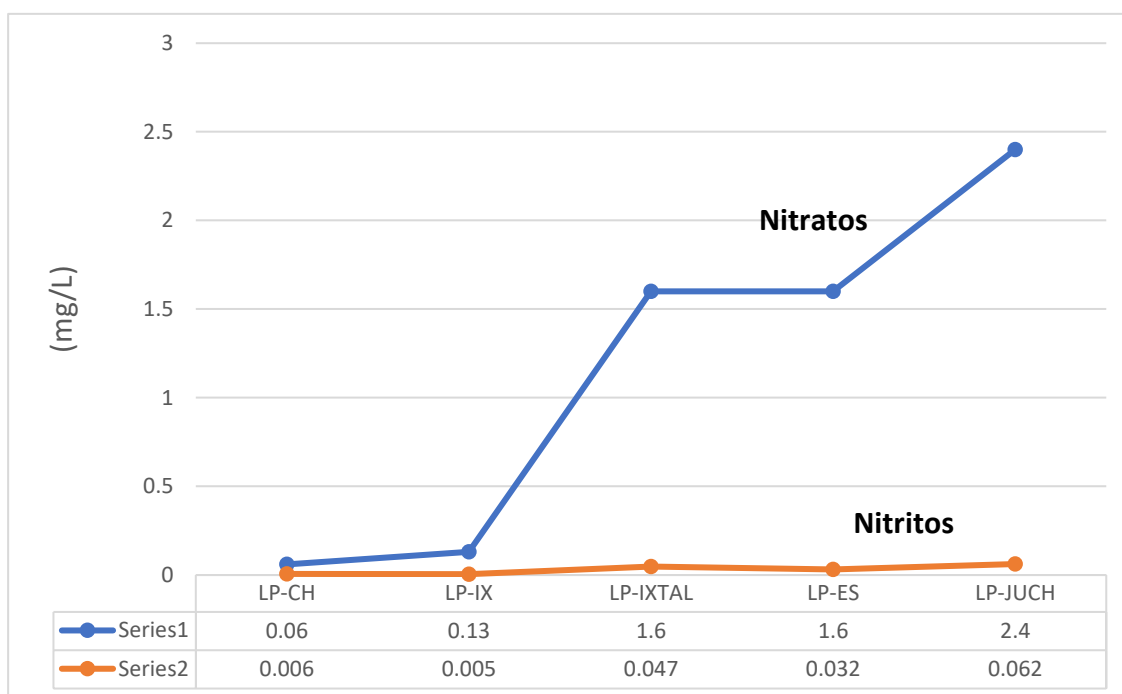
**Figura 8.** Valores de temperatura en aguas superficiales del río Los Perros.



**Figura 9.** Valores de conductividad en agua superficial del río Los Perros.



**Figura 10.** Valores de especies nitrogenadas en agua superficial del río Los Perros

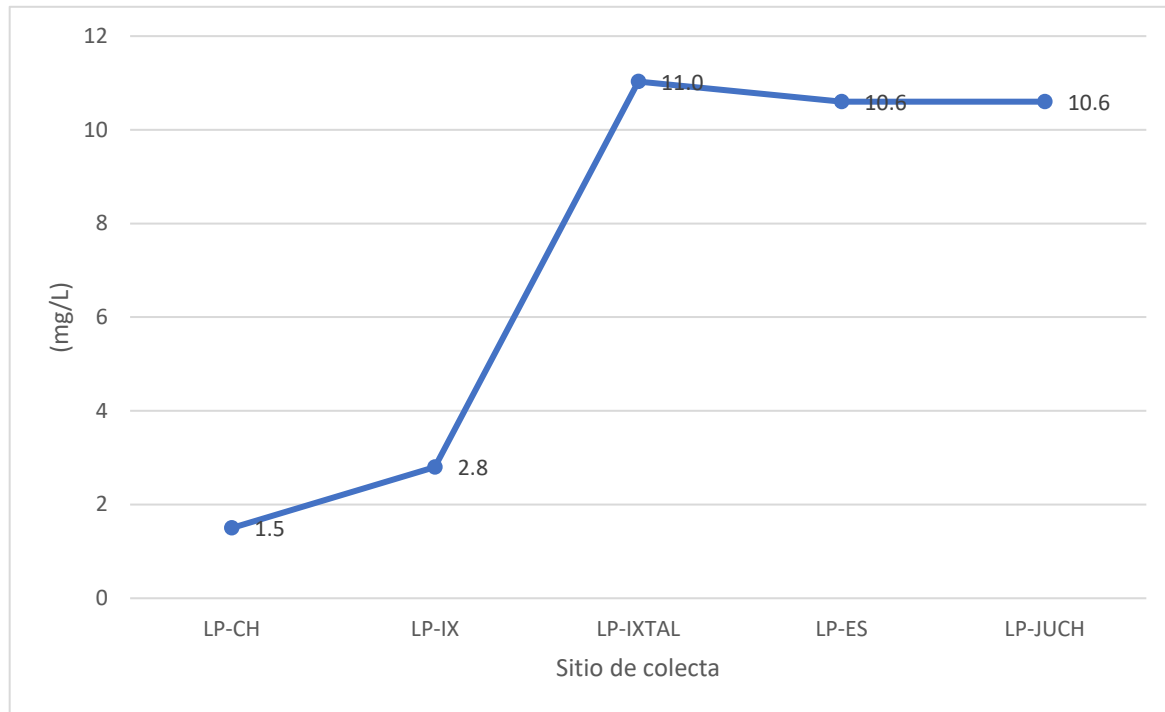


En la Figura 10, se representan gráficamente los valores obtenidos para la concentración de nitratos y nitritos en las muestras de todos los puntos de colecta. En el caso de los nitratos puede observarse un incremento gradual a partir del punto de Ciudad Ixtepec (aguas arriba), presentándose el valor más alto en Juchitán de Zaragoza (aguas abajo), el valor límite establecido en la normativa es de 11.0 mg/L por lo tanto ninguno de los puntos sobrepasa este valor. Para los nitritos, las concentraciones se mantienen cercanos a cero, sin embargo, también puede observarse un incremento gradual con respecto a la localización de los puntos y la dirección aguas abajo del río. Estas concentraciones son acordes a los altos valores de oxigenación obtenido en el cuerpo de agua, ninguno de los valores sobrepasa el valor límite de 0.90 mg/L **(Ver Tabla 12 y 13 en Anexos)**.

En el caso de nitrógeno amoniacal las concentraciones fueron  $\leq$  a 0.42 mg/L ninguno por encima de la concentración límite permisible de 0.50 mg/L **(Ver Tabla 9 en Anexos)**. Mismo caso para los valores de nitrógeno total, excepto para el punto de Juchitán de Zaragoza para el cual se reporta un valor de 1.68 mg/L (Nt Kjeldahl). Para este parámetro no existe una norma que especifique la calidad para un cuerpo de agua superficial, sin embargo, tomando como referencia la NOM-001-SEMARNAT-2021, en todos los puntos, los valores se encuentran por debajo del valor instantáneo de 35 mg/L.

Los valores de la demanda química de oxígeno (DQO) en la totalidad de los puntos se encuentran con valores menores a 1 mg/L (**Ver Tabla 8 en Anexos**). El valor instantáneo indicado como límite permisible para este parámetro en agua de río es de 210 mg/L.

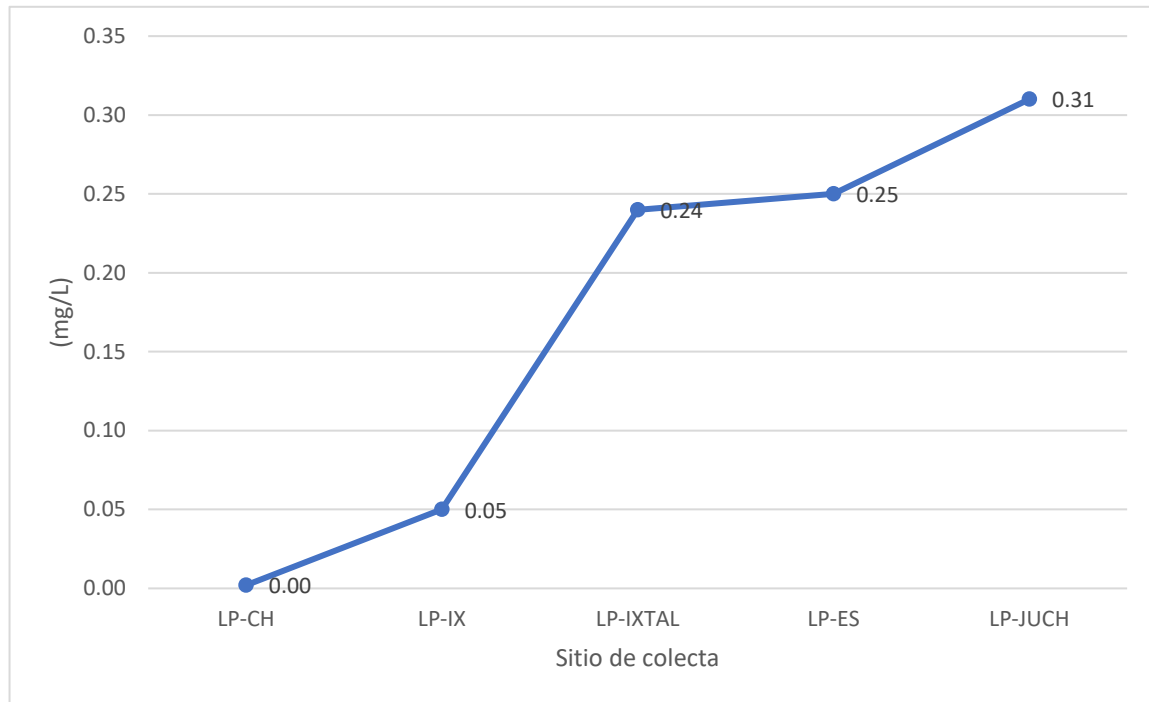
**Figura 11.** Valores de cloruros en agua superficial del río Los Perros.



La concentración de cloruros se presenta en la Figura 11, como puede observarse existe un valor máximo de 11 mg/L para el punto de Asunción Ixtaltepec con valores cercanos para los puntos de El Espinal y Juchitán de Zaragoza. Según la guía de la Organización Mundial de la Salud para agua de consumo, indica un valor máximo de 10 mg/L y en agua que se ha sometido a procesos de cloración se ha reportado resultados de 40 a 63 mg/L [39]. Sin embargo, para este caso no hay que perder de vista que las muestras analizadas corresponden a agua superficial. La NMX-AA-073-SCFI-2001 indica que en algunas aguas conteniendo 25 mg Cl<sup>-</sup>/L se puede detectar el sabor salado si el catión es sodio (**Ver Tabla 11 en Anexos**).

Los resultados relacionados a la concentración de fósforo total se muestran en la Figura 12, en la que puede observarse un incremento en los tres últimos puntos que corresponden a Asunción Ixtaltepec, El Espinal y Juchitán de Zaragoza (Ver Tabla 14 en Anexos).

**Figura 12.** Valores de fósforo total en agua superficial del río Los Perros.

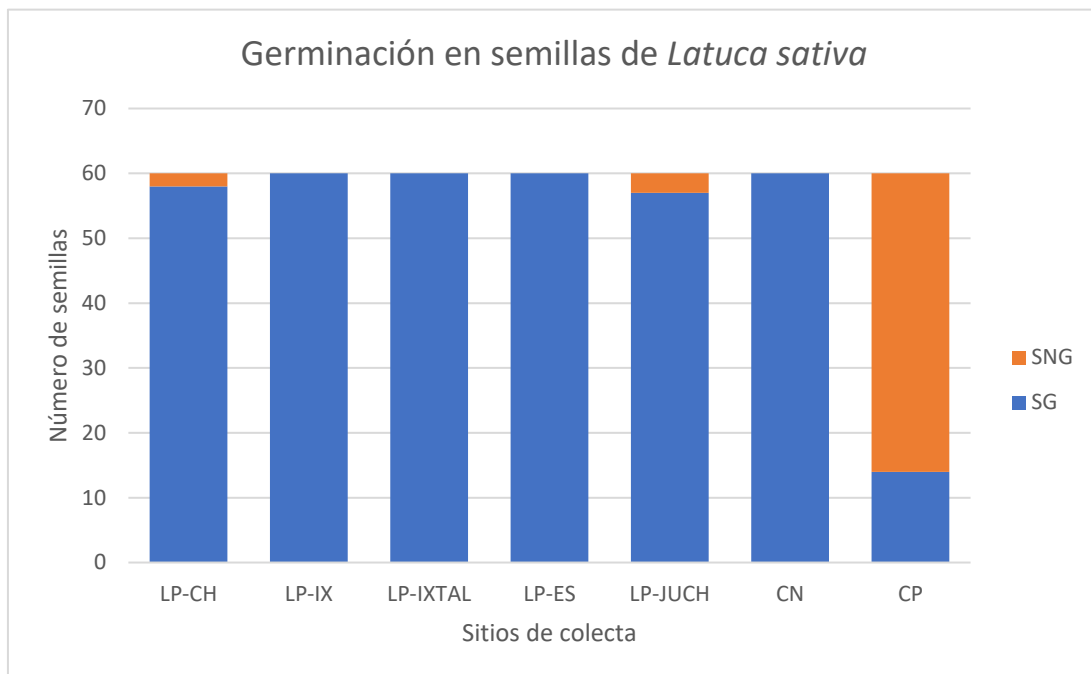


De acuerdo con los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89. Los valores de niveles máximos para cloruros (como Cl) en agua dulce es de 250 mg/L, para nitrógeno amoniacal es de 0.60 mg/L, Nitritos (como N) considera 0.3 mg/L, Nitratos 90 mg/L. Para fósforo total con fines acuícolas indica 5.0 mg/L, y considera “Los fosfatos totales, medidos como fósforo, no deberán exceder de 0.05 mg/L en influentes a lagos o embalses ni de 0.025 mg/L dentro del lago o embalse, para prevenir el desarrollo de especies biológicas indeseables y para controlar la eutroficación acelerada [40]”.

## 9.2. Bioensayo de germinación

Los resultados obtenidos en este bioensayo muestran que las semillas de lechuga *Lactuca sativa* variedad mantecosa, expuestas a agua destilada (control negativo) y a las muestras de agua problema de tres de los sitios (Ciudad Ixtepec, Asunción Ixtaltepec y El Espinal), presentaron una germinación del 100% (60 semillas dentro del periodo de 120 h). Las semillas expuestas a las muestras de agua de Santo Domingo Chihuitán presentaron un 96.6% de germinación (58 semillas) y para la Heroica Ciudad de Juchitán un 95% (57 semillas). El control positivo, presentó un comportamiento esperado con un menor porcentaje de germinación del 23,3% (14 semillas) (Ver Figura 13 y Anexo - Tabla 16).

**Figura 13.** Germinación en semillas de lechuga por exposición de agua superficial del río Los Perros.



\* SG: Semillas germinadas.; SNG: Semillas no germinadas; CN: Control negativo; CP: Control positivo.

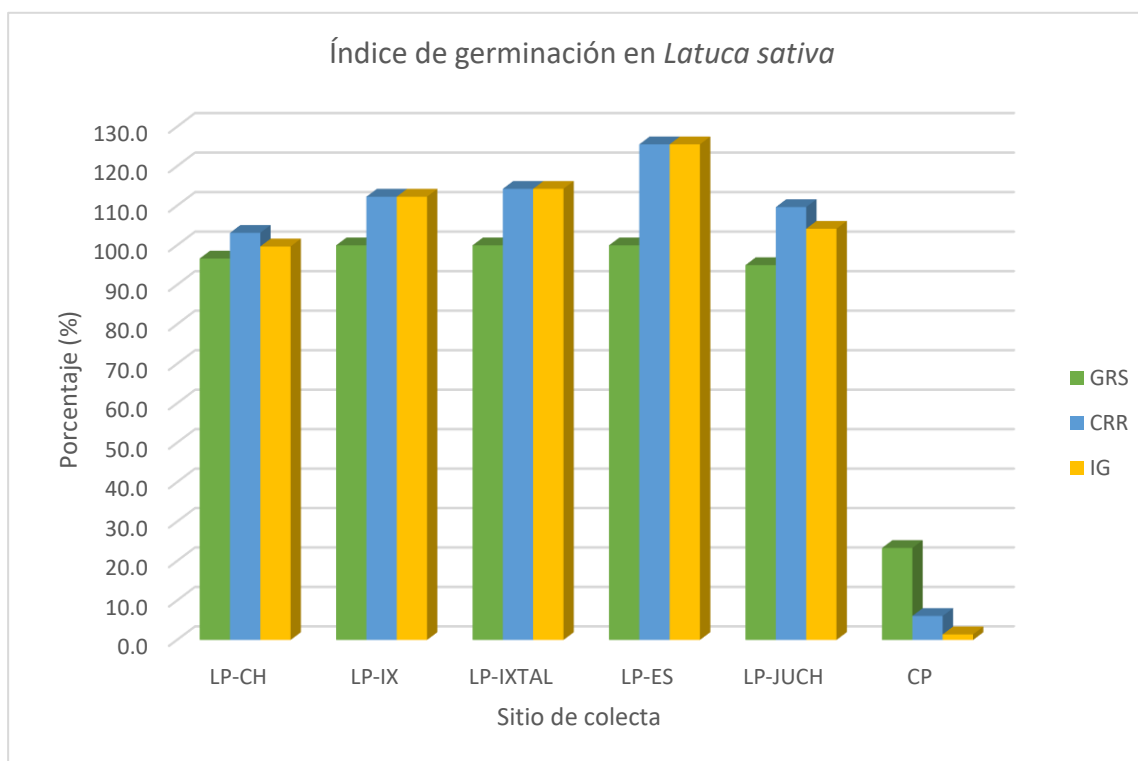
En la Figura 14, el porcentaje de Germinación Relativa de Semillas (GRS) representa el porcentaje de semillas germinadas en el agua de los diferentes sitios de estudio con respecto a aquellas germinadas en el testigo. El Crecimiento Relativo de la Radícula (CRR) representa el porcentaje de crecimiento de la radícula de las semillas expuestas a las aguas de los diferentes sitios de estudio con respecto a aquellas del lote testigo y por último el Índice de Germinación (IG) representa el producto de la germinación relativa de las semillas por el crecimiento relativo de la radícula. Constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. Este índice expresa tanto el porcentaje de semillas germinadas como el porcentaje de crecimiento que alcanza la radícula durante el bioensayo [3].

Puede observarse que para las muestras provenientes de Santo Domingo Chihuitán y de H. Cd. Juchitán de Zaragoza tanto la cantidad de semillas germinadas, como el valor de la GRS que está en estrecha relación con la respuesta del control negativo (agua destilada), fueron menores en comparación con el resto de los sitios que presentaron porcentajes  $\geq$  al 100%. El control positivo presentó el efecto esperado con el menor IG por efecto de la concentración de sales de NaCl.

Todos los sitios de estudio presentaron valores de crecimiento relativo de la radícula (CRR) superiores al 100%, que posiblemente demuestra que no existe afectación con la respuesta asociada a la elongación radicular posterior a la germinación. Sin embargo, para el sitio de Santo Domingo Chihuitán el valor fue el más bajo de todos y por ende también el valor del IG.

En este sentido retomando la explicación inicial, estos resultados son indicadores de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación. En la germinación de las semillas existen diversos parámetros importantes como son: luz, salinidad, humedad, temperatura, micronutrientes, la estacionalidad, entre otros. Estos promueven o afectan el proceso de germinación, dependiendo de las necesidades o condiciones propicias requeridas por cada especie vegetal para su desarrollo [33].

**Figura 14.** Respuesta biológica en semillas de lechuga por sitio de colecta.

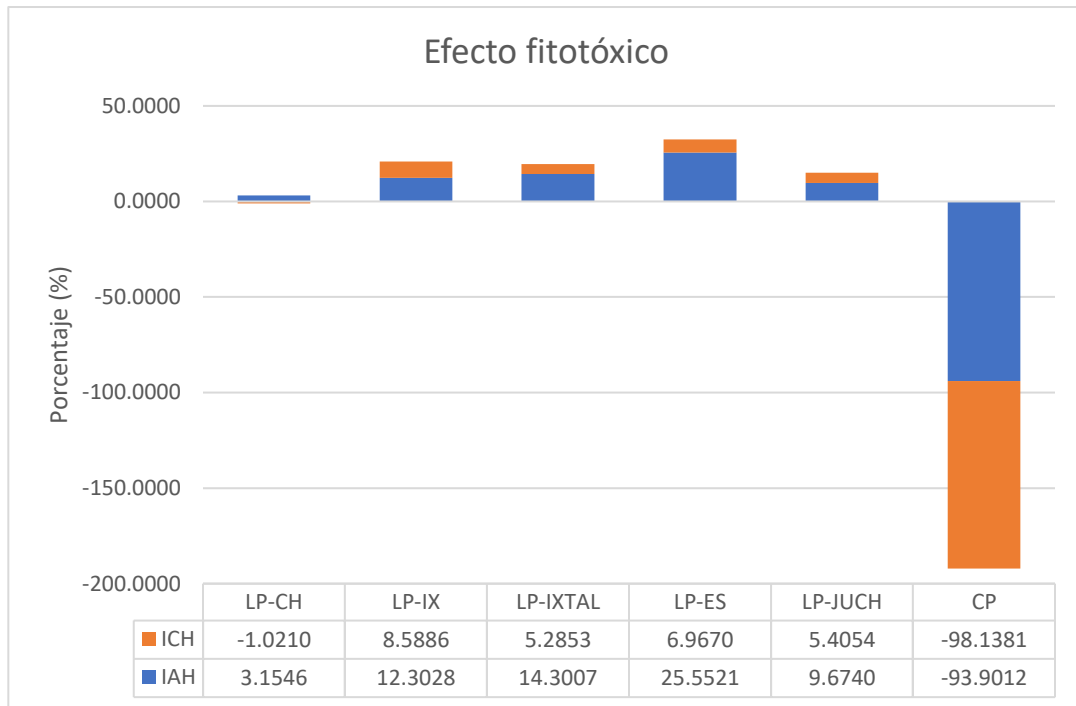


\*GRS: Germinación relativa de semillas; CRR: Crecimiento relativo de radícula; IG: Índice de germinación; CN: Control negativo; CP: Control positivo.

Para verificar el efecto se emplearon dos tipos de metodologías, en la primera se calcularon los porcentajes de Inhibición de alargamiento radicular (IAR) y la Inhibición del crecimiento del hipocótilo (ICH) [34]. En un segundo método se calcularon, el Índice de germinación normalizado (IGN) y el Índice de elongación radicular (IER). Con la finalidad de identificar si existen o no diferencias en ambos procedimientos en relación con los resultados obtenidos.

Para el primer caso se presenta la Figura 14, dónde se muestran los porcentajes calculados a partir de los valores promedio de la longitud de la radícula de las muestras problema y el valor promedio del control negativo. De igual forma para los valores promedio de la longitud del hipocótilo de las muestras problema y el valor promedio del control. En la Figura 15, se muestra la respuesta esperada de los porcentajes para el control positivo con un valor negativo de -98.1381 (% ICH) y de -93.9012 (%IAR). En lo que respecta a las muestras problema, únicamente se presentó un valor negativo para el sitio de Santo Domingo Chihuitán de -1.0210 relacionado con un efecto negativo en el crecimiento del hipocótilo (%ICH). En las demás muestras problema los valores de ambos indicadores fueron positivos y mayores al valor de cero.

**Figura 15.** Porcentaje de IAR e ICH en lechuga expuestas a agua superficial del río Los Perros.



En el caso de los valores del IGN (**Ver Figura 16**) indican la presencia de un efecto de baja toxicidad en la parte alta del río, es decir en el primer punto de colecta en dirección aguas arriba que corresponde a Santo Domingo Chihuitán (-0.033 en el sitio LP-CH). De igual forma se presenta un efecto en el rango de baja toxicidad en la parte baja del río que corresponde al punto de H. Cd. De Juchitán de Zaragoza (-0.050 en el sitio LP-JUCH). El valor del control positivo fue de -0.77 el cual se ubica en el rango de muy alta toxicidad [3]. En la figura se muestran los diferentes rangos de valores del IGN asociados con el tipo de efecto; Baja toxicidad (0 a -0.25); Alta toxicidad (-0.25 a -0.75) y Muy alta toxicidad (-0.75 a -1.0).



**Figura 16.** IGN en semillas de lechuga expuesta a agua superficial del río Los Perros.

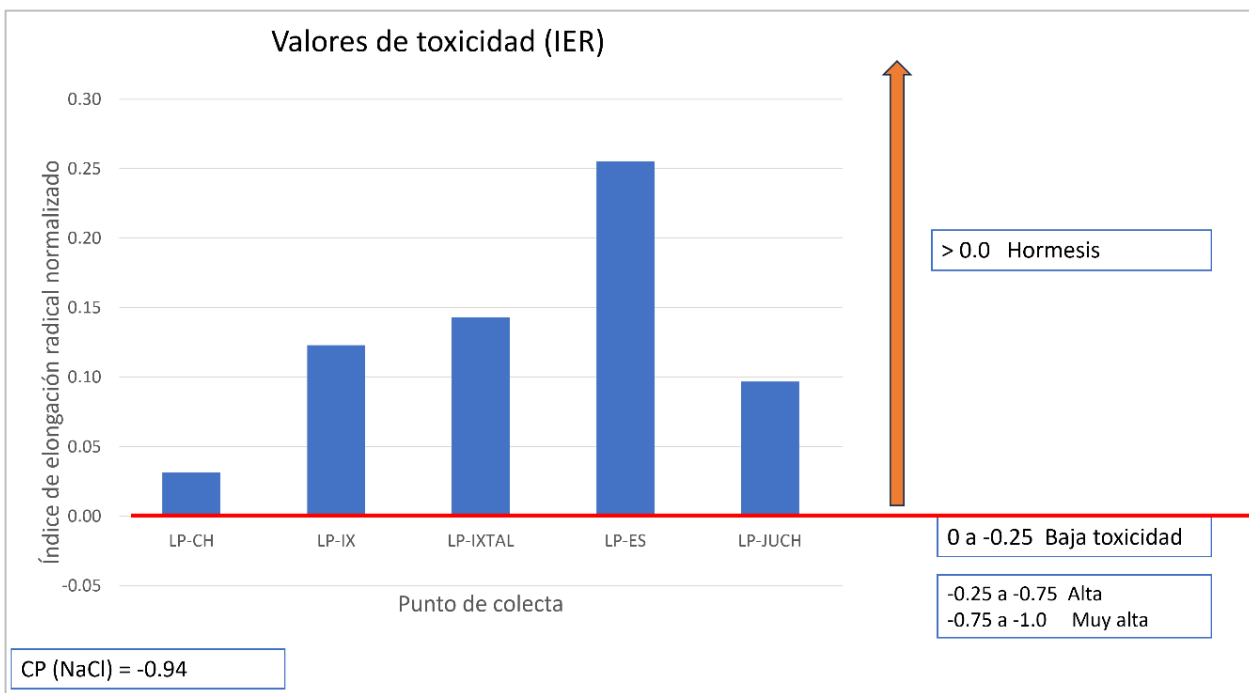


Los valores del IER se observan en la Tabla 3 y la Figura 17, únicamente en el control positivo se presentó un resultado con valor negativo de -94 que se considera dentro del rango de muy alta toxicidad (-0.75 a -1.0). En contraste las muestras de cada uno de los sitios de colecta presentaron valores mayores a cero, sin embargo, se identifica una diferencia con los valores menores, que corresponde a los sitios de Santo Domingo Chihuitán (0.03) y H. Cd. Juchitán de Zaragoza (0.09). Siendo el del valor mayor (0.25) en el punto de El Espinal.

**Tabla 3.** Valores promedio de longitud radicular por sitio de estudio y valores del IER.

| Sitio             | Longitud de radícula (mm)       |            |            | IER          |
|-------------------|---------------------------------|------------|------------|--------------|
|                   | Media $\pm$ D.E.                | Mínima     | Máxima     |              |
| SD. Chihuitán     | 16.35 $\pm$ 1.45                | 14.1       | 17.7       | 0.03         |
| Cd. Ixtepec       | 17.8 $\pm$ 2.71                 | 12.5       | 28.1       | 0.12         |
| A. Ixtaltepec     | 18.12 $\pm$ 1.57                | 16.1       | 20.7       | 0.14         |
| El Espinal        | 19.9 $\pm$ 1.92                 | 17.7       | 22.2       | 0.25         |
| H.Cd. de Juchitán | 17.38 $\pm$ 3.11                | 13.8       | 24.8       | 0.09         |
| <b>CP</b>         | <b>1.0 <math>\pm</math> 2.0</b> | <b>0.0</b> | <b>8.5</b> | <b>-0.94</b> |

**Figura 17.** IER en semillas de lechuga expuesta a agua superficial del río Los Perros.



## 10. DISCUSIÓN

En referencia a los resultados de los parámetros fisicoquímicos obtenidos en este estudio e iniciando con la medición del pH (**Ver Figura 6**), se observa que en todos los sitios los valores son cercanos a 7.0 unidades de pH, indicando que las muestras de agua de los diferentes puntos se encuentran en el rango de la neutralidad. Si comparamos estos resultados con los reportados en el Diagnóstico IMTA [37], donde se reportan valores de parámetros fisicoquímicos determinados en muestras de agua colectadas en puntos similares a los de este estudio, sus valores se reportan mayores a 8.0 unidades de medida de pH, hay que tomar en cuenta que el diagnóstico se realizó en el año 2019 durante la temporada de estiaje teniendo como objetivo futuro la implementación de un Plan estratégico para conservación de la cuenca del río Los Perros, mismo que se implementó en el año 2021, es decir, antes de la realización del muestreo del presente estudio. En la tabla 15 dentro de la sección de anexos se colocan los resultados reportados por punto de colecta. Por otra parte, considerando los valores permisibles para el uso y consumo del agua que establece la NOM-127-SSA1-2021 [45] para nuestro caso los valores se mantienen dentro del rango límite permisible de 6.5 a 8.5 unidades de pH.

Para una buena calidad de agua, se necesita un nivel adecuado de Oxígeno Disuelto (OD). Los niveles de OD en el río Los Perros, se puede observar cómo va aumentando gradualmente su valor conforme se avanza hacia la parte baja, teniendo valores por encima de los 5.0 mg/L en todos los puntos de colecta, lo que indica que esta agua es de buena calidad. Datos registrados en el Diagnóstico IMTA [37], se puede observar cómo al menos en el sitio de Santo Domingo Chihuitán presenta una similitud, mientras que en los demás sitios algunos no fueron registrados (**Ver Tabla 15 en Anexos**) y otros están por debajo de los que se reportaron en esta investigación.

La temperatura del agua varía a escalas de tiempo diarias, estacionales, interanuales, y a lo largo del eje longitudinal del cauce [48]. Dentro del límite permisible de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021 [46] que es de 35°C, esta, se mantiene relativamente estable a lo largo de todo el trayecto del río, las temperaturas son menores a 30°C, con pequeñas diferencias no significativas entre cada uno de los puntos de colecta. Beita-Sandí [49] indica que bajo condiciones naturales la temperatura del agua que fluye varía entre 0°C y 30°C, sin embargo, los valores recomendados para la conservación de la vida acuática dependerán del caso en particular de que se trate, debido a que la temperatura depende entre otros factores: de la hora del día y época del año, condiciones del tiempo, flujo y profundidad de la corriente.

Raffo y Ruiz [53], mencionan que la materia orgánica requiere oxígeno para ser degradada en un curso de agua. El alto contenido orgánico favorece el crecimiento de bacterias y hongos. En este caso, análisis de las medidas de DQO obtenidas en diferentes puntos del río Los Perros, fueron  $<1$  mg/L, caso contrario al Diagnóstico IMTA [37], que registraron valores arriba de este dato, pero  $\leq 10$  mg/L (**Ver Tabla 15 en Anexos**). A pesar de esta diferencia, ambos datos indica una excelente calidad del agua.

Los valores obtenidos en la conductividad, fue incrementando en el río aguas abajo, indican una oscilación del primer sitio al último. A pesar de estar dentro de límite permisible de acuerdo al Diagnóstico IMTA [37], se observa como al menos en el sitio de Santo Domingo Chihuitán, presenta un valor similar al reportado en este trabajo, sin embargo, otros sitios presentan mayores a  $900 \mu\text{S}/\text{cm}$ , en comparación con los obtenidos en este estudio que se encuentran en  $500 \mu\text{S}/\text{cm}$  (**Ver Tabla 15 en Anexos**).

Los niveles de nitratos, nitritos nitrógeno amoniacal y nitrógeno total, son un indicador importante de la calidad del agua. Todos se encuentran relacionados con el ciclo del nitrógeno de suelo y plantas superiores, aunque los nitratos son añadidos por medio de fertilizantes que puede ocasionar que los niveles de estos aumenten.-En el caso del río Los Perros, cada parámetro se encuentran dentro de los límites permisibles de acuerdo a la NOM-127-SSA1-2021 [45] y NOM-001-SEMARNAT-2021 [46], considerando que los nitritos también se forman durante la biodegradación de nitratos, nitrógeno amoniacal u otros compuestos orgánicos nitrogenados y se utiliza como indicador de contaminación [50].

El cloruro, en forma de ion  $\text{Cl}^-$ , es uno de los aniones inorgánicos principales en el agua, su contenido procede de fuentes naturales, aguas residuales y vertidos industriales [51]. Para el caso del río Los Perros, a pesar de no tener valores altos de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021 [46], se tiene que considerar que todos los cloruros aumentan el contenido total de sales en los suelos, por ejemplo, la capacidad de las plantas para absorber el agua disminuye a medida que aumenta el contenido de sales afectando el crecimiento. Algunas sales cuando se acumulan en los suelos resultan tóxicas para los cultivos u ocasionan desequilibrios en la absorción de los nutrientes [52].

Determinando el fósforo total, presentó ligeras variaciones a lo largo del río, pero no detectables en LP-CH, incrementando su concentración en los demás sitios, obteniendo así el valor más alto ( $0.31$  mg/L) en LP-JUCH. Esto indica que al tener un valor menor a su límite permisible de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021 [46], es un macronutriente esencial, acumulado por amplia variedad de seres vivos y en aguas frescas no contaminadas se encuentra estas bajas concentraciones [49].

Las diferencias encontradas de los parámetros fisicoquímicos entre los valores reportados en el diagnóstico y los resultados de este estudio, nos muestran que durante el Diagnóstico IMTA [37] se presentó en un escenario de posibles fuentes de contaminación como aporte en el río, y dada la implementación del Plan de estratégico para el saneamiento de la cuenca, esto puede haber influido en los resultados de esta investigación. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que el muestreo de este estudio fue de manera puntual y en un momento determinado de tiempo, por lo que es necesario considerar que para poder obtener mayor información del comportamiento de los valores de todos los parámetros físicos y químicos en el agua del río se debe realizar un monitoreo que involucre un mayor tamaño de muestra, la estacionalidad y años de estudio.

De acuerdo a los resultados referentes al porcentaje de germinación, podemos notar que en los sitios de LP-IX, LP-IXTAL y LP-ES presentó un 100%, mientras que en LP-CH y LP-JUCH fue un poco mayor a 90%, mostrando la confiabilidad de los resultados al tener el CN con un 100% en germinación y CP con un 23%.

En base al CRR, mostraron crecimiento superior al CN. Las aguas de todos los sitios se caracterizaron por altas concentraciones de nutrientes, lo que podría promover el crecimiento de la radícula, y por lo consiguiente también el IG.

El IAR% y el ICH%, presentaron diferencias un tanto significativas para el caso de LP-CH y LP-JUCH ya que sus valores son menores al resto de los sitios, esto posiblemente sea por las concentraciones un tanto bajas en los parámetros fisicoquímicos y así muestra esas diferencias que van asociadas con el efecto observado en estos porcentajes.

Los valores de toxicidad de acuerdo al IGN para los sitios LP-CH y LP-JUCH se presentaron dentro del rango de valores de baja toxicidad (0 a  $-0.25$ ), lo que respalda el efecto de inhibición de la germinación, expresado en el porcentaje de germinación (3.3% y 5% respectivamente) con respaldo en la respuesta de los controles. Estos resultados demuestran que existe un efecto fitotóxico en las semillas expuestas a las muestras de agua de ambos sitios, es un nivel bajo, sin embargo, representa un efecto a nivel metabólico que interfiere en los procesos de germinación y desarrollo en las primeras etapas de crecimiento en las plántulas de lechuga. En un estudio previo reportado por Mendoza & Seim [10], donde analizaron la calidad del agua del río Los Perros en la parte alta, reportaron resultados de parámetros fisicoquímicos, dentro de los cuales predominó la determinación de grasas y aceites al indicar altas concentraciones en la

época de estiaje (54 a 90 mg/L), fuera del valor recomendado de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021 [46]. Cabe resaltar que Guevea de Humboldt descarga sus aguas residuales sin previo tratamiento al río Los Perros y Santa María Guenagati en menor grado ya que gran parte de la población lo hace en fosas sépticas, aunque en los recorridos de campo se observaron aguas grises.

En resumen esto demuestra la existencia de algunos aportes de contaminantes en la parte alta de la cuenca, a pesar de que en este estudio no se colectaron muestras en esa zona el punto más cercano corresponde al poblado de Santo Domingo Chihuitán dónde se obtuvo un efecto fitotóxico, puede existir la posibilidad de la presencia de contaminantes no analizados pero que existen antecedentes que confirman algunos cambios a la calidad del agua a lo largo del río lo que puede contribuir a los resultados de los índices obtenidos. En contraste, el resto de los sitios no presentaron efecto tóxico en referencia al IGN, lo que indica la variabilidad en las condiciones y características en cada punto de colecta, lo que puede estar influenciado por las actividades antrópicas de cada zona.

Para el índice de elongación radicular los resultados muestran un efecto estimulante en el crecimiento en todos los sitios, sin embargo, en el caso de LP-CH y LP- JUCH se presenta un efecto menor, lo que es correspondiente al efecto tóxico del IGN. El efecto de estimulación por el IER se encontró en los sitios de LP-IX, LP-IXTAL y LP-ES, este último con un valor de 0.25 de IER. López et al. [55] reportan un efecto denominado hormesis él se define como el proceso por el cual la exposición a una dosis baja de un agente químico o bien un factor ambiental, que es dañino a dosis altas, induce una respuesta adaptativa y o un efecto benéfico en la célula o el organismo. Algunos de los agentes horméticos son la radiación, el calor, los metales pesados, los antibióticos, el etanol, los agentes prooxidantes y la restricción alimentaria. Además, involucra la expresión de una gran cantidad de genes que codifican para proteínas citoprotectoras como las chaperonas del tipo de las que responden a estrés térmico, las enzimas antioxidantes, los factores de crecimiento, las metalotioneínas, entre otros. Lo que explica que no siempre el efecto de hormesis está asociado a una estimulación sin un efecto adverso.

Se recomienda el uso conjunto de los índices de fitotoxicidad (IGN e IER), ya que pueden generar respuestas diferentes a factores que podrían enmascarse si sólo se aplica uno de ellos [3].

Considerando lo anterior para el desarrollo de las especies vegetales es de gran importancia mantener las concentraciones adecuadas de micronutrientes requeridos para cada especie en particular, en el caso de la lechuga en un cultivo hidropónico requiere de una concentración entre 100 y 150 mg/L [56], si tomamos

en cuenta que los resultados de nitrógeno total determinadas en las muestras problemas presentan concentraciones menores a 3.0 mg/L en todos los sitios, no puede indicarse que el efecto de hormesis o de estimulación posiblemente se deba a los aportes de este nutriente en el crecimiento radicular e hipocótilo, dado que no se encuentra en las concentraciones adecuadas para la especie de lechuga. Es importante también considerar que es necesario que el nitrógeno se encuentre en la especie química de mayor disponibilidad para las plantas. Es decir, en el caso de los nitratos el punto de menor concentración fue LP-CH (0.06 mg/L) y el de mayor concentración (2.4 mg/L) al sitio de LP-JUCH, sitios donde se observó un menor efecto de hormesis, sin embargo, ninguno de los sitios cuenta con las concentraciones adecuadas de especies nitrogenadas para un aporte importante al crecimiento radicular. Mismo comportamiento para el fósforo.

## 11. CONCLUSIONES

Los indicadores de calidad de acuerdo a los parámetros fisicoquímicos utilizados en esta investigación, mostraron un gradiente de concentración con poca variación para cada sitio de estudio. Prueba de ello son los valores encontrados para los sitios de Ciudad Ixtepec, Asunción Ixtaltepec y El Espinal, que son puntos intermedios a lo largo del río y que presentaron valores similares en cada parámetro. Se considera que en la temporada de estiaje se encontraron valores mínimos de concentraciones en las muestras de la parte alta del río (Santo Domingo Chihuitán) y las mayores para la parte baja (Heroica ciudad de Juchitán de Zaragoza). Los parámetros fisicoquímicos se consideran dentro de los rangos normales para un agua superficial, por lo tanto, no se identifican en este momento un nivel de contaminación importante. En general, la calidad del cuerpo de agua superficial es buena únicamente considerando las concentraciones encontradas en los parámetros medidos, sin embargo, es importante mencionar que no se cuenta con una batería amplia de parámetros. Considerando los bajos valores registrados para parámetros como las diferentes formas de nitrógeno y fósforo total, aunado a altos valores de oxígeno disuelto, contribuye a indicar una calidad que no presenta contaminación de gran magnitud.

Esta diferencia registrada en los parámetros fisicoquímicos, posiblemente contribuye a la inhibición de la germinación en un 3.3% (Santo Domingo Chihuitán) y 5% (Heroica ciudad de Juchitán de Zaragoza) respectivamente. El efecto reportado para estos mismos sitios fue de toxicidad baja (-0.03 y -0.05), caso contrario al resto de los sitios. Para este estudio la semilla de *Lactuca sativa* fue un indicador sensible para diferenciar los efectos del agua problema por cada punto de muestreo.

Por lo que respecta los valores del GRS, CRR y IG, se logra obtener que el agua problema es categorizada con fuerte presencia de nutrientes, ya que se obtuvieron valores mayores al 90%. Se determina también que el crecimiento radicular entre el control negativo y las muestras de agua problema en los diferentes puntos de colecta, no presentan diferencias significativas, pero si se observó valores mayores que el control negativo. En el caso del IAR en relación al control positivo, se identificó que el agua problema de todos los puntos de colecta, tuvieron una estimulación del crecimiento en las semillas y para el caso del ICH, únicamente en Santo Domingo Chihuitán presentaron efecto de inhibición. Lo que respecta a los valores de toxicidad de acuerdo al IGN, para los sitios de Santo Domingo Chihuitán y Heroica ciudad de Juchitán de Zaragoza, presentan un rango de toxicidad baja y para esos mismos puntos se confirma que en el IER tuvieron menor respuesta hermética en comparación con los demás sitios.



## 12. REFERENCIAS

- [1] M. Fernández-Rodríguez & R. M. Guardado-Lacaba, “Evaluación del Índice de Calidad del Agua (ICAsup) en el río Cabaña, Moa-Cuba”, *Minería y Geología*, vol. 37 no. 1, pp. 105-119, 2021.
- [2] M. Fernández-Rodríguez, B. Nfundiko-Christian, R. Guardado-Lacaba & Y. Almaguer-Carmenate. “Evaluación hidroquímica de las aguas del río Cayo Guam, Moa, Cuba”. *Minería y Geología*, vol. 34, no. 3, 2018.
- [3] A. J. Rodríguez-Romero, C. A. Robles-Salazar, R. A. Ruíz-Picos, E. López-López, J. E. Sedeñ-Díaz, A. Rodríguez-Dorantes. “Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma” *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 30 no. 3 pp. 307-316, 2014.
- [4] G. Castillo-Morales. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. México: IMTA, 2004.
- [5] M. Pérez López. “Cambio en el paradigma de la gestión del agua en México”. Ponencia en el III Congreso Latinoamericano de Manejo de Cuencas Hidrográficas, Arequipa, Perú, 2003.
- [6] Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). *Estadísticas del agua en México*. México, 2005. [En línea] disponible: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/259369/2005\\_EAM2005.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/259369/2005_EAM2005.pdf).
- [7] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). *Estadísticas del Agua en México*, 2013. México, 2014. [En línea] disponible: [https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe\\_resumen14/06\\_agua/6\\_2\\_1.html#:~:text=En%202012%2C%20de%20los%20,los%20200%20mg%20FL](https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_1.html#:~:text=En%202012%2C%20de%20los%20,los%20200%20mg%20FL).
- [8] M. C. Benez, E. F. Kauffer Michel & G. C. Álvarez Gordillo. “Percepciones ambientales de la calidad del agua superficial en la microcuenca del río Fogótico, Chiapas”. *Frontera norte*, vol. 22, no. 43 pp. 129-158, 2010.
- [9] E. Cotler, A. Garrido, V. Bunge & M. L. Cuevas, “Las cuencas hidrográficas de México: priorización y toma de decisiones”. *Atlas cuencas*. pp. 210-215, 2010.
- [10] E. Mendoza Amézquita & J. A. Seim, “Calidad del agua del río Los Perros (parte alta), Oaxaca, México” *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, vol. 11, no. 29 pp. 1-12, 2020.
- [11] Comisión Nacional del Agua, (CONAGUA). *Estadísticas del agua en México*. México, 2018. [En línea] disponible: [http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM\\_2018.pdf](http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf)
- [12] JAPAC. *Aguas superficiales*. Junta Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Culiacán, 2016. [en línea] disponible: <https://japac.gob.mx/2016/07/20/aguas-superficiales/>
- [13] M. García-Rodríguez, “*Biología y geología*”. España: CENoposiciones, pp. 22, 2012.
- [14] S. Foster, R. Hirata, D. Gomes, & M. Paris. “*Protección de la Calidad del Agua subterránea*”. Madrid: Mundi -Prensa Libros, pp.128, 2003.

- [15] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). “*Water Quality for Ecosystems and Human Health. 2ª Edición. United Nations Environment Programme Global Environment Monitoring System/Water Programme*”. Canadá, pp. 130, 2008.
- [16] C. E. Díaz. *Aplicaciones electroquímicas al tratamiento de aguas residuales*. Barcelona: Reverté. 2014
- [17] J. Silva, G. Torrejón, E. Bay-Schmith, & A. Larrain. “*Calibration of the acute toxicity bioassay with daphnia pulex (crustacea:cladocera) using a reference toxicant*”. Gayana (Concepción), vol. 67, no. 1 pp. 87-96, 2003.
- [18] J. Pita & F. Pérez. “*Germinación de semillas*”. Hojas Divulgadoras, vol. 1, no. 1 pp. 20, 1998.
- [19] N.T. Hoekstra, T. Bosker & E.A. Lantinga. “*Effects of cattle dung from farms with different feeding strategies on germination and initial root growth of cress (Lepidium sativum L.)*”. *Agricult. Ecosys. Environ*, vol. 93, pp.189-196, 2002.
- [20] I. Walter, F. Martínez y V. Cala. “*Heavy metal spe-ciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses?*”. *Environ. Pollut*, vol. 139, pp. 507-514, 2006.
- [21] M. C. Lallana, C.E. Billard, J. H. Elizalde, V. H Lallana, “*Bioensayo de germinación de Lactuca sativa (L.): determinación de calidad de agua en represas para riego*”. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, XL no.1, pp. 29-38 2008.
- [22] M.Torres, M. García, N. Hernández & M. Fernández. “*Toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con Lactuca sativa L*”. *Higiene y Sanidad Ambiental*, vol. 6, no. 6 pp. 170–172, 2006.
- [23] D. Míguez, D. Baruch & G. Suárez. “*Estudio preliminar de ecotoxicidad y contaminación no puntual por nitrógeno y fósforo en cursos de agua superficial cercanos a feedlots*”. *INNOTEC*, no. 18 pp. 69-87 2019.
- [24] P. Barreño Saenz. “*Procedimiento de muestreo de agua superficial*”. Laboratorio de calidad ambiental. Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional “Santiago Antunez de Mayolo”.
- [25] M. C. Sobrero & A. Ronco, “*Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga Lactuca sativa L*”. México: IMTA, pp. 55–67, 2004.
- [26] Centro de investigación en política pública. “*Situación del agua en México*”. IMCO, 2023. [En línea] disponible en: <https://imco.org.mx/situacion-del-agua-en-mexico/>
- [27] Y. E. Chamlaty & J. S. Espinoza. “*Protocolo para conocer la viabilidad de Oreomunnea Mexicana con fines de conservación y restauración ecológica*” 2016. Coordinación Ecoforestal, Pronatura Veracruz, 2016. [En línea] disponible en: [https://pronaturaveracruz.org/PDFs/viabilidad/Protocolo\\_vialbilidad\\_Oreomunnea\\_mexicana.pdf](https://pronaturaveracruz.org/PDFs/viabilidad/Protocolo_vialbilidad_Oreomunnea_mexicana.pdf)
- [28] Gobierno de México. “*Santo Domingo Chihuitán: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública*”, 2020. México. [en línea] disponible: <https://datamexico.org/es/profile/geo/santo-domingo-chihuitan#education-and-employment> (accedido el 23 de mayo de 2023).

- [29] Gobierno de México. “*Ciudad Ixtepec: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública*”, 2020. México. [en línea] disponible: <https://datamexico.org/es/profile/geo/ciudad-ixtepec> (accedido el 23 de mayo de 2023).
- [30] Gobierno de México. “*Asunción Ixtaltepec: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública*”, 2020. México. [en línea] disponible: <https://datamexico.org/es/profile/geo/asuncion-ixtaltepec> (accedido el 23 de mayo de 2023).
- [31] Gobierno de México. “*El Espinal: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública*”, 2020. México. [en línea] disponible: <https://datamexico.org/es/profile/geo/el-espinal?redirect=true> (accedido el 23 de mayo de 2023).
- [32] Gobierno de México. “*Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública*”. 2020. México. [en línea] disponible: <https://datamexico.org/es/profile/geo/heroica-ciudad-de-juchitan-de-zaragoza> (accedido el 23 de mayo de 2023).
- [33] R. Román-Palacios. “*Efecto de iones y otros factores físicos sobre la germinación de semillas*”. Sociedad Química de México, vol. 44, no. 3, pp. 233-236, 2000.
- [34] M. Torres -Rodríguez & N. Hernández -Perera. “*Determinación toxicológica en aguas de río mediante el empleo de un bioensayo con planta*”. Higiene y Sanidad Ambiental, pp. 505-509,
- [35] SEMANH. *Semana Mundial del Agua 2023*. México. 2023. [en línea] disponible: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/semana-mundial-del-agua-2023>
- [36] M.G. Bagur-González, C. Estepa-Molina, F. Martín-Peinado, & S. Morales-Ruano. “*Toxicity assessment using Lactuca sativa L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site*”. J. Soil. Sediment. no.11 pp. 281-289, 2011.
- [37] Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). “*Plan estratégico para el saneamiento de la cuenca del río de Los Perros*”. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2019.
- [38] J. García-Hernández, N.I. Trujillo-Escamilla & G.D. Espinoza-Román. “*Análisis del cambio de la cobertura terrestre y su incidencia en la calidad de agua del río de Los Perros, Oaxaca; para contribuir en acciones que permitan la restauración hidrológica ambiental*”. Centro de Investigación en Ciencias de Información Geoespacial, CDMX, 2020.
- [39] World Health Organization (OMS). “*Chloride in Drinking-water*”. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed, vol.2, Geneva, 1996.
- [40] Diario Oficial de la Federación (DOF). “*Acuerdo por el que se establecen los criterios ecológicos de la calidad del agua CE-CCA-001-89*”. SEGOB, 1989.

- [41] M. C. Díaz-Báez, A. Ronco & Y. Pica-Granados. “*Ensayo de toxicidad aguda con Allium cepa L. mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla*”. Ensayos toxicológicos y métodos de calidad de aguas, no. 4, pp. 47-52, México, 2004.
- [42] M.C. Díaz-Báez, Y. Pica-Granados & A. Ronco. “*Bioensayo de toxicidad aguda con Daphnia magna*”. Ensayos toxicológicos y métodos de calidad de aguas, no. 4, pp. 52-63, México, 2004.
- [43] Y. Pica-Granados, A. Ronco & M.C. Díaz-Báez. “*Bioensayo de toxicidad aguda (efectos letales y subletales) con Hydra attenuata*”. Ensayos toxicológicos y métodos de calidad de aguas, no. 4, pp. 64-71, México, 2004.
- [44] P.F. Ffolliott & J.L. Thames. “*recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de Prosopis en América Latina*”. FAO, 1983.
- [45] Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-2021). “*Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua*”.
- [46] Norma Oficial Mexicana (NOM-001-SEMARNAT-2021). “*Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación*”.
- [47] N.E. Samboni-Ruíz, Y. Carvajal-Escobar y J.C. Escobar. “*Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua*”. Ingeniería e Investigación, vol. 27 no.3. Bogotá, 2007.
- [48] G. Manta & I. Alcántara. “*Variabilidad y tendencia de la temperatura superficial de los grandes embalses del Río Negro*”. INNOTEC, no. 16, pp. 17-26, 2018.
- [49] W. Beita-Sandí & M. Barahona-Palomo. “*Fisico-química de las aguas superficiales de la cuenca del río Rincón, Península de Osa, Costa Rica*”. UNED, vol.2, no. 2, pp. 157-179, 2011.
- [50] E. Cabrera Molina, L. Hernández Garcíadiego, H. Gómez Ruíz, M. P. Cañizares Macías. “*Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar*”. Rev. Soc. Quím. Méx vol.47 no.1, 2003.
- [51] A. García-Vargas, M. G. Reyes-Navarrete, A. I. Alvarado-de la Peña, L. S. González-Valdez, D. Magdalena-Antuna, E.C. Vázquez-Alarcón, M. Estaban-Méndez, M. Quintos-Escalante & A. Herrera-Benavides. “*Cloruros totales en el agua de abastecimiento*”. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango (CIIDIR IPN Durango), 2012.
- [52] M. A. Palacios, A. M. L. Rodríguez, O. G. Barajas. “*Tratamiento electrostático (ESP) del agua para riego*”. Facultad de Ciencias Biológicas y Forestales Universidad Autónoma de Chihuahua, 2010.
- [53] E. Raffo-Lecca & E. Ruiz-Lizama. “*Caracterización de las aguas residuales y la demanda química de oxígeno*”. Industrial Data, vol.71, no.1, pp. 71-80, Lima, Perú, 2014.

[54] Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). “Río Atoyac y sus afluentes”. Información de Calidad del Agua, México, 2022.

[55] N.E. López-Diazguerrero, V.Y. Gonzales-Puertos, R.J. Hernández-Bautista, A. Alarcón-Aguilar, A. Luna-López y M. Königsberg-Fainstein. “*Hormesis: lo que no mata fortalece*”. Gaceta Médica de México, no.149, pp. 438-47, 2013.

[56] E. Sánchez, T. Ford & F. Di Gioia. “*Sistemas hidropónicos: Programas y Recetas de Soluciones Nutritivas*”. PennState Extension, 2021.

### 13. ANEXOS

**Tabla 4.** Resultados obtenidos de pH.

| Sitio             | Parámetro | Valor obtenido | Límite permisible                   |
|-------------------|-----------|----------------|-------------------------------------|
| SD. Chihuitán     | pH        | 7.31           | 6.5 a 8.5<br>NOM-127-SSA1-2021 [45] |
| Cd. Ixtepec       |           | 7.33           |                                     |
| A. Ixtaltepec     |           | 7.30           |                                     |
| El Espinal        |           | 7.40           |                                     |
| H.Cd. de Juchitán |           | 7.46           |                                     |

**Tabla 5.** Resultados obtenidos del Oxígeno disuelto.

| Sitio             | Parámetro        | Valor obtenido | Límite permisible                 |
|-------------------|------------------|----------------|-----------------------------------|
| SD. Chihuitán     | Oxígeno disuelto | 7.44 mg/L      | 5.0 mg/L<br>Diagnóstico IMTA [37] |
| Cd. Ixtepec       |                  | 7.89 mg/L      |                                   |
| A. Ixtaltepec     |                  | 9.69 mg/L      |                                   |
| El Espinal        |                  | 8.01 mg/L      |                                   |
| H.Cd. de Juchitán |                  | 9.59 mg/L      |                                   |

**Tabla 6.** Resultados obtenidos de la Temperatura.

| Sitio             | Parámetro   | Valor obtenido | Límite permisible                  |
|-------------------|-------------|----------------|------------------------------------|
| SD. Chihuitán     | Temperatura | 24.6°C         | 35°C<br>NOM-001-SEMARNAT-2021 [46] |
| Cd. Ixtepec       |             | 25.7°C         |                                    |
| A. Ixtaltepec     |             | 27.1°C         |                                    |
| El Espinal        |             | 26.1°C         |                                    |
| H.Cd. de Juchitán |             | 27.6°C         |                                    |

**Tabla 7.** Resultados obtenidos de la Conductividad

| Sitio             | Parámetro     | Valor obtenido              | Límite permisible  |
|-------------------|---------------|-----------------------------|--|
| SD. Chihuitán     | Conductividad | 293 $\mu\text{s}/\text{cm}$ | 200 y 1,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ .<br>Diagnóstico IMTA [37] |
| Cd. Ixtepec       |               | 367 $\mu\text{s}/\text{cm}$ |  |
| A. Ixtaltepec     |               | 482 $\mu\text{s}/\text{cm}$ |  |
| El Espinal        |               | 484 $\mu\text{s}/\text{cm}$ |  |
| H.Cd. de Juchitán |               | 507 /cm                     |  |

**Tabla 8.** Resultados del análisis de DQO.

| Sitio             | Parámetro | Valor obtenido | Límite permisible  |
|-------------------|-----------|----------------|--|
| SD. Chihuitán     | DQO       | < 1.0 mg/L     | $\leq 10$ mg/L<br>Calidad Excelente<br>Diagnóstico IMTA [37] |
| Cd. Ixtepec       |           |                |  |
| A. Ixtaltepec     |           |                |  |
| El Espinal        |           |                |  |
| H.Cd. de Juchitán |           |                |  |

**Tabla 9.** Resultados del análisis del Nitrógeno amoniacal.

| Sitio             | Parámetro           | Valor obtenido | Límite permisible                   |
|-------------------|---------------------|----------------|-------------------------------------|
| SD. Chihuitán     | Nitrógeno amoniacal | < 0.42 mg/L    | 0.50 mg/L<br>NOM-127-SSA1-2021 [45] |
| Cd. Ixtepec       |                     |                |                                     |
| A. Ixtaltepec     |                     |                |                                     |
| El Espinal        |                     |                |                                     |
| H.Cd. de Juchitán |                     |                |                                     |

**Tabla 10.** Resultados del análisis del Nitrógeno total de Kjeldahl.

| Sitio             | Parámetro                   | Valor obtenido | Límite permisible                        |
|-------------------|-----------------------------|----------------|--|
| SD. Chihuitán     | Nitrógeno total de Kjeldahl | < 0.42 mg/L    | 35 mg/L<br>NOM-001-SEMARNAT-2021<br>[46] |
| Cd. Ixtepec       |                             | < 0.42 mg/L    |  |
| A. Ixtaltepec     |                             | < 0.42 mg/L    |  |
| El Espinal        |                             | < 0.42 mg/L    |  |
| H.Cd. de Juchitán |                             | 1.68 g/L       |  |

**Tabla 11.** Resultados del análisis de Cloruros.

| Sitio             | Parámetro | Valor obtenido | Límite permisible                         |
|-------------------|-----------|----------------|---|
| SD. Chihuitán     | Cloruros  | 1.5 mg/L       | 250 mg/L<br>NOM-001-SEMARNAT-2021<br>[46] |
| Cd. Ixtepec       |           | 2.8 mg/L       |   |
| A. Ixtaltepec     |           | 11.03 mg/L     |   |
| El Espinal        |           | 10.6 mg/L      |   |
| H.Cd. de Juchitán |           | 10.6 mg/L      |   |

**Tabla 12.** Resultados del análisis de Nitratos.

| Sitio             | Parámetro | Valor obtenido | Límite permisible                      |
|-------------------|-----------|----------------|--|
| SD. Chihuitán     | Nitratos  | 0.06 mg/L      | 11.0 mg/L<br>NOM-127-SSA1-2021<br>[45] |
| Cd. Ixtepec       |           | 0.13 mg/L      |  |
| A. Ixtaltepec     |           | 1.6 mg/L       |  |
| El Espinal        |           | 1.6 mg/L       |  |
| H.Cd. de Juchitán |           | 2.4 mg/L       |  |



**Tabla 13.** Resultados del análisis de Nitritos.

| Sitio             | Parámetro | Valor obtenido | Límite permisible                      |
|-------------------|-----------|----------------|--|
| SD. Chihuitán     | Nitritos  | 0.006 mg/L     | 0.90 mg/L<br>NOM-127-SSA1-2021<br>[45] |
| Cd. Ixtepec       |           | 0.005 mg/L     |  |
| A. Ixtaltepec     |           | 0.047 mg/L     |  |
| El Espinal        |           | 0.032 mg/L     |  |
| H.Cd. de Juchitán |           | 0.62 /L        |  |

**Tabla 14.** Resultados del análisis del Fósforo total.

| Sitio             | Parámetro     | Valor obtenido | Límite permisible                            |
|-------------------|---------------|----------------|--|
| SD. Chihuitán     | Fosforo total | ND             | 21 mg/L<br>NOM-001-SEMARNAT-<br>2021<br>[46] |
| Cd. Ixtepec       |               | 0.05 mg/L      |  |
| A. Ixtaltepec     |               | 0.24 mg/L      |  |
| El Espinal        |               | 0.25 mg/L      |  |
| H.Cd. de Juchitán |               | 0.31 mg/L      |  |

ND=No detectable.

**Tabla 15.** Parámetros fisicoquímicos registrados en el Diagnóstico IMTA.

| Sitio             | pH   | Temperatura | Oxígeno disuelto | Conductividad | DQO       |
|-------------------|------|-------------|------------------|---------------|-----------|
| SD. Chihuitán     | 8.58 | 30.31°C     | 7.93 mg/L        | 414 µs/cm     | 9.19 mg/L |
| Cd. Ixtepec       | 8.24 | 31.97°C     | -                | -             | -         |
| A. Ixtaltepec     | 7.94 | 33.07°C     | -                | 1285 µs/cm    | 7.88 mg/L |
| El Espinal        | 7.85 | 29.85°C     | 6.98 mg/L        | 964 µs/cm     | -         |
| H.Cd. de Juchitán | 8.68 | 32.22°C     | 0.52 mg/L        | 902 µs/cm     | 9.77 mg/L |

**Tabla 16.** Registro de germinación de lechuga por día.

| Día-Fecha/<br>Diluciones | No.<br>de<br>caja | Control<br>negativo (agua<br>destilada) |     | Control positivo<br>(NaCl) |     | Santo Domingo<br>Chihuitán |       | Ciudad Ixtepec |     | Asunción Ixtaltepec |     | El Espinal |     | H. Cd. de<br>Juchitán de<br>Zaragoza |     |
|--------------------------|-------------------|---|-----|----------------------------|-----|----------------------------|-------|----------------|-----|---------------------|-----|------------|-----|--------------------------------------|-----|
|                          |                   | SG                                      | SNG | SG                         | SNG | *SG                        | **SNG | SG             | SNG | SG                  | SNG | SG         | SNG | SG                                   | SNG |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 1                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 2                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 3                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 4                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 5                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
| Día 1-<br>27/11/2022     | 6                 | 0                                       | 10  | 0                          | 10  | 0                          | 10    | 0              | 10  | 0                   | 10  | 0          | 10  | 0                                    | 10  |
|                          |                   |   |     |                            |     |                            |       |                |     |                     |     |            |     |                                      |     |
| Día 2-<br>28/11/2022     | 1                 | 10                                      | 0   | 0                          | 10  | 10                         | 0     | 10             | 0   | 10                  | 0   | 10         | 0   | 9                                    | 1   |
| Día 2-<br>28/11/2022     | 2                 | 10                                      | 0   | 0                          | 10  | 10                         | 0     | 9              | 1   | 9                   | 1   | 8          | 2   | 10                                   | 0   |
| Día 2-<br>28/11/2022     | 3                 | 10                                      | 0   | 0                          | 10  | 9                          | 1     | 10             | 0   | 10                  | 0   | 10         | 0   | 8                                    | 2   |
| Día 2-<br>28/11/2022     | 4                 | 10                                      | 0   | 0                          | 10  | 10                         | 0     | 10             | 0   | 10                  | 0   | 10         | 0   | 10                                   | 0   |

|                      |   |    |   |   |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
|----------------------|---|----|---|---|----|----|---|----|---|----|---|----|---|----|---|
| Día 2-<br>28/11/2022 | 5 | 10 | 0 | 0 | 10 | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 8  | 2 |
| Día 2-<br>28/11/2022 | 6 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 9  | 1 | 8  | 2 |
|                      |   |    |   |   |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 1 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 9  | 1 |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 2 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 3 | 10 | 0 | 0 | 10 | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 4 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 5 | 10 | 0 | 1 | 9  | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 3-<br>29/11/2022 | 6 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 8  | 2 |
|                      |   |    |   |   |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
| Día 4-<br>30/11/2022 | 1 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 9  | 1 |
| Día 4-<br>30/11/2022 | 2 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 4-<br>30/11/2022 | 3 | 10 | 0 | 0 | 10 | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 4-<br>30/11/2022 | 4 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |

|  |   |    |   |    |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
|--|---|----|---|----|----|----|---|----|---|----|---|----|---|----|---|
| Día 4-<br>30/11/2022   | 5 | 10 | 0 | 1  | 9  | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 4-<br>30/11/2022   | 6 | 10 | 0 | 3  | 7  | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 8  | 2 |
|  |   |    |   |    |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 1 | 10 | 0 | 1  | 9  | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 9  | 1 |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 2 | 10 | 0 | 2  | 8  | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 3 | 10 | 0 | 1  | 9  | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 4 | 10 | 0 | 3  | 7  | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 5 | 10 | 0 | 4  | 6  | 9  | 1 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| Día 5-<br>01/12/2022   | 6 | 10 | 0 | 3  | 7  | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 | 8  | 2 |
|  |   |    |   |    |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |
| <b>Totales:</b>  |   | 60 | 0 | 14 | 46 | 58 | 2 | 60 | 0 | 60 | 0 | 60 | 0 | 57 | 3 |
| *SG= Número de semillas germinadas. **SNG= Número se semillas no germinadas. |   |    |   |    |    |    |   |    |   |    |   |    |   |    |   |

**Figura 18.** Colecta de muestras en el sitio Santo Domingo Chihuitán.



**Figura 19.** Vista previa del sitio de estudio Santo Domingo Chihuitán.



**Figura 20.** Colecta de muestra en el sitio Ciudad Ixtepec.



**Figura 21.** Vista previa del sitio de estudio Ciudad Ixtepec.



**Figura 22.** Registro de los datos de campo en el sitio Asunción Ixtaltepec.



**Figura 23.** Vista previa del sitio de estudio Asunción Ixtaltepec.



**Figura 24.** Registro de los datos de campo en el sitio El Espinal.



**Figura 25.** Vista previa del sitio de estudio El Espinal.





**Figura 26.** Registro de los datos de campo en el sitio Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza.



**Figura 27.** Vista previa del sitio de estudio Heroica Ciudad de Juchitán de Zaragoza.

