



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) con muestras
de agua de la Presa “La Estanzuela”, Hidalgo, México**

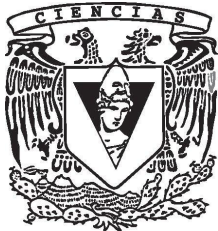
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

DIANA PATRICIA ASCENCIO GOROZPE



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. AMÉRICA NITXIN CASTAÑEDA SORTIBRÁN**

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DATOS DEL JURADO:

1. Datos del alumno

Ascencio
Gorozpe
Diana Patricia
5584951614
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
311067752

2. Datos del tutor

Dra
América Nitxin
Castañeda
Sortibrán

3. Datos del sinodal 1

Dr
Rodolfo Omar
Arellano
Aguilar

4. Datos del sinodal 2

Dra
Rosario
Rodríguez
Arnaiz

5. Datos del sinodal 3

Dra
Claudia
Coronel
Olivares

6. Datos del sinodal 4

M en C
Marco Antonio
Carballo
Ontiveros

7. Datos del trabajo escrito

Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) con muestras de agua de la Presa “La Estanzuela”, Hidalgo, México
61 p
2020

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias (UNAM). Agradezco a la Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz por darme la oportunidad de estar en el Laboratorio y permitirme realizar mi tesis.

A mi asesora de tesis, la Dra. América Nitxin Castañeda Sortibrán, muchas gracias por confiar en mí para la realización de este trabajo, por todo tu apoyo y las oportunidades que me has dado de crecer académica y personalmente.

A la M. en C. María Guadalupe Ordaz Telléz, muchas gracias por toda tu ayuda.

A la Bióloga Claudia Mónica Flores Loyola, muchas gracias por todo tu apoyo y todo lo que me enseñaste, de verdad me ayudaste mucho :)

Al M. en C. Ricardo Iván Peraza Vega, gracias por todo lo que me enseñaste, me ayudaste mucho a sacar adelante este trabajo.

A la Dra. Claudia Coronel Olivares, gracias por ayudarnos con el muestreo de la Presa y por su ayuda en la edición de este trabajo.

Al Dr. Rodolfo Omar Arellano por apoyarnos con el análisis químico de las muestras de agua y por su ayuda en la edición de este texto.

Al M. en C. Marco Antonio Carballo Ontiveros, miembro de mi sínodo, muchas gracias por tomarse el tiempo de revisar el texto y por sus observaciones.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A punto de culminar esta etapa de mi vida no puedo más que estar agradecida por todas las cosas que he vivido estos años. Estoy muy agradecida por tener la oportunidad de estudiar en la UNAM, por todas las facilidades y el apoyo, espero algún día poder regresar una parte de todo lo que me han dado.

Agradezco el haber tenido la oportunidad de estudiar Biología porque eso me ha enseñado muchas cosas y ha cambiado mi visión del mundo, me enseñó a ver la vida con otros ojos, tuve la oportunidad de conocer muchos lugares y estar en contacto con la naturaleza, eso ha mejorado mi conciencia sobre mi entorno.

Agradezco el tener la oportunidad de realizar este trabajo, el proceso de esta tesis me ha enseñado hasta este momento, las lecciones más importantes de mi vida. Hoy puedo decir que cada momento, bueno y malo ha valido la pena.

A mis papás: no tengo palabras para agradecer todo lo que han hecho por mi, gracias por todo su apoyo, por su paciencia, por todo su amor y sacrificio, los quiero mucho, soy muy afortunada de tener unos padres tan buenos como ustedes <3

A mis hermanos: Kike, has sido un gran ejemplo para mi, te quiero mucho. A Paola, gracias por estar conmigo todos estos años, por todo tu apoyo, por todos esos momentos que hemos vivido, por ser mi mejor amiga <3

A Carlos Pan, muchas gracias por acompañarme, por estar en mi vida y por todo tu apoyo. Gracias, porque a través de ti, he descubierto mucho sobre mi.

A todas las personas que estuvieron conmigo durante la carrera, mis amigos de primer semestre: sé que la vida nos ha llevado por caminos diferentes, pero los recuerdos de los momentos que vivimos estarán en mi por siempre, que bonito haber coincidido con ustedes, y poder conocer a personas tan lindas que me han enseñado muchas cosas. A Lucero y Ara gracias por seguir conmigo.

A mis compañeros del Laboratorio de Genética: Michelle, Dani, Lucero, Claudia y Héctor gracias por todos esos momentos que hemos compartido, por brindarme su amistad, los quiero.

Por ultimo, muchas gracias por enseñarme tanto sobre la vida y sobre mi, por la oportunidad de crecer como persona, superar mis miedos y creer en mi.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Cuencas.....	7
1.2 Calidad del agua.....	8
1.2.1 Calidad del agua según indicador Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅).....	8
1.2.2 Calidad del agua según indicador Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	9
1.2.3 Calidad del agua según indicador Sólidos Suspendidos Totales (SST).....	9
1.2.4 Calidad del agua según indicador Coliformes Fecales (CF).....	10
1.3 Límites máximos permisibles según algunas normativas mexicanas.....	11
1.4 Contaminación del agua.....	13
1.5 Presa “La Estanzuela”.....	15
1.6 Toxicología.....	23
1.6.1 Xenobióticos.....	24
1.6.2 Biotransformación de xenobióticos.....	24
1.6.3 Citocromos P450 (CYP450).....	25
1.7 Uso de modelos biológicos para determinar la contaminación del agua.....	26
1.7.1 <i>Drosophila melanogaster</i> como modelo biológico.....	27
1.7.2 Taxonomía.....	28
1.7.3 Ciclo de vida.....	28
1.8 Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en ala de <i>Drosophila melanogaster</i>	30
2. JUSTIFICACIÓN.....	36
3. OBJETIVO GENERAL.....	36
4. OBJETIVOS PARTICULARES.....	36
5. HIPÓTESIS.....	36
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
6.1 Muestreo de la Presa “La Estanzuela”.....	37
6.2 Concentración letal media (CL ₅₀).....	38
6.3 Cepas.....	39
6.4 Protocolo del ensayo SMART en ala de <i>Drosophila melanogaster</i>	39
6.5 Análisis químico.....	42
7. RESULTADOS.....	43
7.1 Muestras datos físicoquímicos.....	43
7.2 Concentración letal media (CL ₅₀).....	43
7.2.1 Cruza estándar (ST).....	43
7.2.2 Cruza de Alta Bioactivación (HB).....	44
7.3 Análisis estadístico del ensayo SMART en ala.....	45
7.3.1 Cruza Estándar (ST).....	45
7.3.2 Cruza de Alta Bioactivación (HB).....	49
7.4 Análisis químico de las muestras de agua.....	55
8. DISCUSIÓN.....	57
8.1 Parámetros físicoquímicos.....	57
8.2 Concentración Letal Media (CL ₅₀).....	58
8.3 Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en ala.....	58
8.4 Análisis químico.....	60
9. CONCLUSIONES.....	62
10. REFERENCIAS.....	63

RESUMEN

La Presa “La Estanzuela” del estado de Hidalgo, es un cuerpo de agua que abastece del recurso hídrico al Municipio de Mineral del Chico y a algunas colonias de Pachuca. En este sitio se ha reportado la presencia de sólidos inorgánicos (315.9 mg/L) que sobrepasan el valor establecido por el Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana, PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017. Entre los sólidos inorgánicos considerados en dicho estudio se encuentran los metales pesados cobalto, níquel, cobre, zinc, manganeso, cadmio, y plomo; que son potencialmente tóxicos. En este proyecto se realizó el Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en las alas de *Drosophila melanogaster* para evaluar la posible genotoxicidad del agua de la Presa “La Estanzuela”. Se realizaron tres muestreos del agua de la zona en diferentes meses del año; junio y octubre de 2017 y abril de 2018, se recolectó agua en dos profundidades (superficial y profunda). Se evaluó la genotoxicidad a concentraciones de 50% y 100% de agua. El análisis estadístico indicó que los resultados son positivos en la categoría de “manchas totales” y “manchas pequeñas” en los tres muestreos en la concentración del 100% en ambas profundidades en las cruces Estándar (ST) y de Alta Bioactivación (HB), y para el primer muestreo de la concentración del 50% en la cruz HB. Por otro lado, se encontraron resultados negativos en la concentración de 50% de agua profunda y superficial en el segundo y tercer muestreo. Estos resultados sugieren que el agua de la Presa “La Estanzuela” es genotóxica en *Drosophila melanogaster*. También se realizó un análisis químico por fotometría para detectar la presencia de metales (aluminio, cromo, zinc, níquel y cobre), se determinó que la cantidad de aluminio presente en agua superficial y profunda sobrepasa el valor máximo establecido por la NOM-127-SSA1-1994.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Cuencas

La Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) es el organismo administrativo que se encarga de administrar, regular, controlar y proteger las aguas nacionales de México, el cual define cuenca como un receptor de agua cóncava creada de forma natural en la superficie de la tierra mediante ciertos factores como las fuerzas tectónicas, la fuerza del agua y sus corrientes, el tipo de suelo, la vegetación, entre otros; con extensiones de cientos o miles de kilómetros cuadrados. Desde julio de 2016 la CONAGUA considera para propósitos de administración de las aguas nacionales 757 cuencas hidrológicas. Para administrar y regular sus usos y aprovechamientos de aguas superficiales y subterráneas, México está dividido en 13 regiones hidrológico-administrativas (Figura 1) (Comisión Nacional del Agua, 2018).



Fuente: CONAGUA (2017d).

Figura 1. Regiones hidrológico-administrativas determinadas por la CONAGUA. Tomado de "Atlas del agua en México" (2018).

1.2 Calidad del agua

La calidad del agua es una medida de la condición del agua en relación con los requisitos de una o más especies bióticas o cualquier necesidad humana o propósito. De acuerdo con la CONAGUA, para la evaluación de la calidad del agua hay tres indicadores principales: la Demanda Bioquímica de Oxígeno a cinco días (DBO_5), la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y los Sólidos Suspendidos Totales (SST). La CONAGUA realiza un monitoreo por año de varios cuerpos de agua distribuidos en todo el país y realiza una clasificación por sitio e indicador (Comisión Nacional del Agua, 2018).

1.2.1 Calidad del agua según indicador Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5)

De acuerdo con la CONAGUA este parámetro indica la cantidad de materia orgánica que está presente en los cuerpos de agua provenientes principalmente de las descargas residuales de origen municipal y no municipal. En general, indica la cantidad de materia biodegradable. Un incremento incide en la disminución del oxígeno disuelto en los cuerpos de agua, lo cual afecta a los ecosistemas acuáticos ya que el oxígeno disuelto es indispensable para mantener la vida de los ecosistemas. En el monitoreo realizado por la CONAGUA para el año 2018, los valores de DBO_5 más altos corresponden a las zonas del país que se encuentran altamente pobladas y su clasificación va desde agua de excelente calidad a fuertemente contaminada de acuerdo a la cantidad de materia presente (Tabla 1) (Comisión Nacional del Agua, 2018).

Tabla 1. Clasificación de la calidad del agua con el parámetro DBQ_5 mg/L. Tomado de CONAGUA (2019).

Valor	Clasificación
≤ 3	excelente
>3 y ≤ 6	buena calidad
>6 y ≤ 30	aceptable
>30 y ≤ 120	contaminada
>120	fuertemente contaminada

1.2.2 Calidad del agua según indicador Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO también indica la cantidad de materia orgánica presente en los cuerpos de agua, pero a diferencia del parámetro DBO_5 , indica la cantidad total de materia orgánica. De acuerdo al

Monitoreo realizado por la CONAGUA, un valor alto de DQO indica la presencia de sustancias provenientes de descargas no municipales. Además, según datos de la CONAGUA, los sitios con mayores niveles de DQO corresponden a los mayores núcleos urbanos del país, sobre todo en el centro y occidente, así como las zonas costeras del sur y sureste, se considera un sitio altamente contaminado aquel que sobrepasa los 200 mg/L y un sitio de excelente calidad aquel que tenga menor o igual a 10 mg/L de materia orgánica (Tabla 2) (Comisión Nacional del Agua, 2018).

Tabla 2. Calidad del agua de acuerdo con la clasificación Demanda Química de Oxígeno (DQO) mg/L. Tomado de CONAGUA (2019).

Valor	Clasificación
≤10	excelente
>10 y ≤20	buena calidad
>20 y ≤40	aceptable
>40 y ≤200	contaminada
>200	fuertemente contaminada

1.2.3 Calidad del agua según indicador Sólidos Suspendidos Totales (SST)

Este parámetro mide la cantidad de sólidos sedimentables, sólidos y materia orgánica en suspensión y/o coloidal. Su fuente puede provenir de aguas residuales o procesos erosivos, de zonas agrícolas y altamente deforestadas. Un incremento de este parámetro hace que un cuerpo de agua pierda la capacidad de soportar la diversidad de la vida acuática. Es importante la medición de los sólidos suspendidos porque permite reconocer gradientes que van desde una condición natural sin influencia humana, hasta el agua que muestra indicios de descargas de aguas residuales municipales y no municipales, así como las áreas con deforestación severa, se considera un sitio de excelente calidad aquel que no sobrepase los 25 mg/L mientras que un sitio fuertemente contaminado es aquel que sobrepasa los 400 mg/L (Tabla 3) (Comisión Nacional del Agua, 2018).

Tabla 3. Calidad del agua de acuerdo con la clasificación de Sólidos Suspendidos Totales en mg/L (SST). Tomado de CONAGUA (2019).

Valor	Clasificación
≤25	excelente
>25 y ≤75	buena calidad
>75 y ≤150	aceptable
>150 y ≤400	contaminada
>400	fuertemente contaminada

1.2.4 Calidad del agua según indicador Coliformes Fecales (CF)

Los coliformes fecales están presentes en los intestinos de organismos de sangre caliente (incluidos los seres humanos) y son excretados en sus heces. Por lo tanto, su origen principal son las heces humanas y animales incorporadas a las aguas residuales. Se distinguen por ser bacterias anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporuladas, bacilos cortos que fermentan la lactosa con producción de gas en 48 horas a 35 ± 0.5 °C. Por asociación, su presencia es indicador de aguas residuales. Este parámetro se utiliza internacionalmente partiendo de la premisa de que su ausencia en el agua es un indicador de que otros organismos patógenos al hombre también están ausentes (Atlas del agua, 2018).

La determinación de los coliformes fecales se realiza principalmente por el método del Número Más Probable (NMP) que precisamente se fundamenta por la capacidad de estas bacterias para fermentar la lactosa con formación de gas, turbidez y ácido al incubarlos a $45.5^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ durante un tiempo de 24 a 48 horas, mediante la utilización de un medio de cultivo que contenga sales biliares (Comisión Nacional del Agua, 2018).

El número más probable es una prueba de dilución en serie que mide la concentración de bacterias en una muestra, esta estimación es útil para concentraciones bajas de organismos (<100/g). Las bacterias en la muestra a estimar se pueden encontrar unidas en cadenas o en colonias, de acuerdo a esto, el número más probable se juzga como una estimación de unidades de crecimiento o unidades formadoras de colonias en lugar de bacterias individuales (Blodgett, 2010). De acuerdo a la CONAGUA, los sitios con mala calidad se encuentran principalmente en las zonas urbanas en cuyo caso sobrepasa los 10,000 NMP en 100 mL, mientras que un sitio de excelente calidad es aquel que no sobrepasa los 100 NMP en 100 mL (Tabla 4).

Tabla 4. Determinación de la calidad del agua de acuerdo con los Coliformes Fecales (CF) NMP/100 mL. Tomado de CONAGUA (2019).

Valor	Clasificación
CF<100	excelente
100<CF<200	buena calidad
200<CF<1 000	aceptable
1 000<CF<10 000	contaminada
CF>10 000	fuertemente contaminada

El monitoreo de estos parámetros es importante, ya que con esto se miden los niveles de contaminación por aguas residuales tanto domésticas como industriales, además de los desechos agrícolas y los procesos erosivos en tierras de cultivo y zonas deforestadas.

1.3 Límites máximos permisibles según algunas normativas mexicanas

Además de los parámetros ya mencionados, el Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en agua y bienes nacionales. En dicha norma se especifica que la concentración de contaminantes básicos, metales pesados y cianuros para las descargas de aguas residuales a aguas y bienes nacionales, no debe exceder el valor indicado como límite máximo permisible. Asimismo, el rango permisible del potencial de hidrógeno (pH) de 5 a 10 unidades (Tabla 5).

Tabla 5. Límites máximos permisibles de para metales y cianuros de acuerdo a la PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017.

Parámetros (miligramos por litro)	Ríos, arroyos, canales, drenes		
	P. M.*	P. D.**	V. I.***
arsénico	0.2	0.3	0.4
cadmio	0.2	0.3	0.4
cianuro	1	2	3
cobre	4	5	6
cromo	1	1.25	1.5
mercurio	0.01	0.015	0.02
níquel	2	3	4
plomo	0.2	0.3	0.4

zinc	10	15	20
------	----	----	----

*P. M.=promedio mensual; **P.D.= promedio diario; ***V. I.= valor instantáneo
Modificado del Proyecto de la Norma Oficial Mexicana (PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017)

Además, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 “Salud ambiental, para uso y consumo humano- límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización” que establece los límites permisibles de calidad y tratamientos a los que debe someterse el agua para su uso y consumo humano que también tiene considerados las concentraciones en miligramos sobre litro (mg/L) de ciertos metales y otros compuestos que no debe sobrepasar un cuerpo de agua para consumo humano (Tabla 6).

Tabla 6. Límites máximos permisibles de metales de acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994.

Característica	Límite permisible mg/L
aluminio	0.20
arsénico	0.05
bario	0.70
cadmio	0.005
cianuros (CN-)	0.07
cobre	2.00
cromo total	0.05
hierro	0.30
manganeso	0.15
mercurio	0.001
plomo	0.025
zinc	5.00

Modificado de: NOM-127-SSA1-1994

1.4 Contaminación del agua

Se dice que el agua está contaminada cuando contiene compuestos que impiden su uso; las fuentes de contaminación pueden ser naturales o artificiales. En general, las fuentes naturales son muy dispersas y no provocan daño en los cuerpos de agua. Por otra parte, las fuentes

artificiales, que pueden ser de origen antropogénico se concentran en zonas concretas como fábricas y ciudades; lo que provoca un gran daño debido a lo peligrosos que pueden ser los contaminantes. Las fuentes de contaminación antropogénica se dividen en cuatro: industrial, vertidos urbanos, navegación, agricultura y ganadería. Cuando estos focos provocan daños en el agua, alteran sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Estas propiedades alteradas por los contaminantes son los parámetros que se consideran para determinar la calidad del agua (Tabla 7) (Encinas, 2011).

Tabla 7. Parámetros físicos, químicos y biológicos que de acuerdo a Encinas (2011) se toman en cuenta para determinar la calidad del agua.

Físicas	Químicas	Biológicas
-Color -Olor y sabor -Conductividad -Temperatura -Materiales en suspensión -Radioactividad -Espumas	-pH -Oxígeno disuelto (OD) -Demanda bioquímica de oxígeno (DBO), Demanda química de oxígeno (DQO), Coliformes totales, -Nitrógeno total -Fósforo total -Aniones: Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ , PO ₄ ³⁻ , S ²⁻ , CN ⁻ , F ⁻ -Metales pesados -Compuestos orgánicos	-Bacterias coliformes -Virus -Otros microorganismos -Animales -Plantas

Las sustancias contaminantes del agua se pueden clasificar en:

- **Residuos con requerimiento de O₂:** Compuestos orgánicos que se oxidan fácilmente por acción de bacterias aerobias, el efecto que tienen sobre el agua es la muerte de la vida aerobia y macroscópica. Los parámetros para medir estos residuos son la demanda bioquímica de oxígeno a cinco días (DBO₅) (Tabla 8) y la demanda química de oxígeno (DQO) (Tabla 9) donde la cantidad se determina en mg/L y se clasifican en muy buena, aceptable, mala y muy mala dependiendo de la cantidad que se encuentre en la muestra.

Tabla 8. Clasificación de la calidad del agua de acuerdo al parámetro Demanda Bioquímica de Oxígeno a cinco días (DBO₅) de acuerdo a Encinas (2011).

DBO ₅	Calidad del agua
1-2 mg/L	muy buena
3-5 mg/L	aceptable
6-9 mg/L	mala
>100 mg/L	muy mala

Tabla 9. Clasificación de la calidad del agua de acuerdo al parámetro Demanda química de oxígeno (DQO) de acuerdo a Encinas (2011).

DQO	Calidad del agua
1-5 ppm	no contaminada
<50 ppm	poco contaminada
250-600 ppm	residual doméstica

- **Agentes patógenos:** Pueden ser bacterias, virus, protozoarios y otros microorganismos. Para medir este parámetro se usa el número de bacterias coliformes y microorganismos anaerobios después de un cultivo de lactosa a 35° C. La presencia de organismos indica una contaminación fecal.
- **Nutrientes vegetales inorgánicos:** Hace referencia a los compuestos químicos como carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre y varios metales traza que necesitan las plantas para crecer pero que cuando están en altas concentraciones en el agua son contaminantes e impiden el uso de ésta. Estos compuestos pueden provenir de fuentes naturales como el suelo o el aire, o fuentes antropogénicas como vertidos urbanos, atmosféricos o ganaderos y agrícolas. Cuando se encuentran en cantidades excesivas se produce el crecimiento excesivo de organismos por el exceso de nutrientes (eutrofización), para medir este parámetro se usa el nivel de clorofila de las algas, el contenido de fósforo y nitrógeno y el valor de penetración de la luz (Encinas, 2011).
- **Compuestos orgánicos sintéticos:** Incluyen compuestos como plaguicidas, detergentes, plásticos, disolventes, y compuestos farmacéuticos, entre otros. Estos contaminantes permanecen mucho tiempo en el agua debido a la complejidad de su estructura química y a que los organismos presentes en el agua no pueden degradar.

Pueden provenir de fuentes industriales o aguas de escorrentía superficial.

- **Sustancias químicas inorgánicas:** Incluye ácidos, minerales, sales inorgánicas y metales tóxicos como mercurio (Hg) y plomo (Pb). Pueden provenir del drenaje de minas, la lluvia ácida, minería, siderurgia o corrosión de metales pesados (Encinas, 2011).

Los contaminantes que ingresan al agua pueden estar en forma disuelta (<1 nm), coloidal (1 nm- 1 μ m) o en forma de partículas (> 1 μ m). La naturaleza exacta de los contaminantes tiene implicaciones en la biodisponibilidad y el transporte ambiental. Por ejemplo, el impacto biológico de los metales traza a menudo se relaciona con la concentración del metal disuelto. Además, las formas disueltas o coloidales del contaminante tenderán a permanecer en el agua debido a los procesos de mezcla, mientras que las formas de partículas tenderán a asentarse fuera de la columna de agua incorporándose a los sedimentos. Una vez en un río o lago, pueden permanecer en su forma original o repartirse en diferentes formas. Algunos de los parámetros que afectan la distribución de contaminantes incluyen la actividad microbiológica, la concentración y la naturaleza de la materia orgánica, el pH, la fuerza iónica y el potencial redox, entre otros (Hoffman *et al.*, 2002).

1.5 Presa “La Estanzuela”

La presa “La Estanzuela” se localiza en el estado de Hidalgo, en la carretera Pachuca, Municipio del Mineral del Chico, es la presa de mayor tamaño en esta zona y abastece a las colonias altas de Pachuca y Mineral del Chico. Se ubica en una latitud decimal de 2.16 grados y una longitud decimal de -98.75 grados (Figura 2) (Piceno, 2016). Dicha presa pertenece a la cuenca hidrológica del Río Amajac del Estado de Hidalgo (Álvarez *et al.*, 2008). De acuerdo a la CONAGUA, la presa se encuentra dentro de la región hidrológica XI, Golfo Norte.

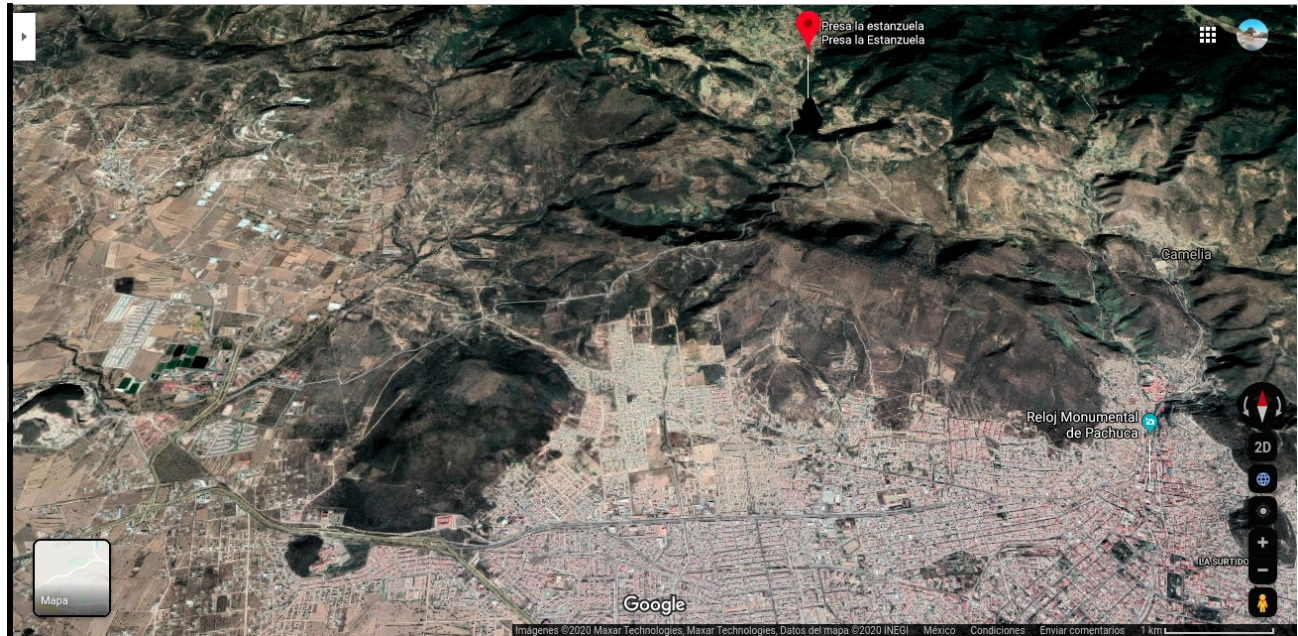


Figura 2. Imagen satelital de la Presa “La Estanzuela” y algunas localidades aledañas a la zona (2020).

El clima es templado con una temperatura media anual de 15°C y una precipitación anual de 1605 mm (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2017). En esta zona, la calidad del agua puede verse afectada por diversos factores; el uso del suelo, la actividad industrial y la minera.

De acuerdo a Álvarez *et al.*, (2008), durante el año 2005 se realizó un estudio de la cuenca en el cual muestrearon varios cuerpos de agua, incluida esta presa. Se determinó la concentración de algunos compuestos inorgánicos como: carbonatos, bicarbonatos, sulfatos, cloruros, fósforo total, nitrógeno total y algunos metales potencialmente tóxicos: cobalto, níquel, cobre, zinc, manganeso, cadmio y plomo; y se encontró que los valores de compuestos inorgánicos sobrepasaban los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 (que estaba en vigor durante ese año). Sin embargo, de todos los sitios muestreados en la Presa “La Estanzuela” no se encontraron las concentraciones más altas de metales (Tabla 10).

Tabla 10. Valores promedio de sólidos inorgánicos (mg/L) de los sitios muestreados pertenecientes a la Cuenca Hidrológica del Río Amajac.

Localidad	Ni*	Cu*	Zn*	Mn*	Pb*	Cd*	N*	Pt*	Cl*	SO4*	CO3*	HCO3*	Sólidos Inorgánicos*
Río venados	0,007	0,003	0,004	0,003	0,003	0,003	7,1	6,1	27,4	13,1	10,7	705.1	769.2
Laguna de Metxtitlán	0,014	0,006	0,008	0,006	0,007	0,007	6,4	6,7	25,6	14,2	5,3	836.9	895.3
Río Almolón	0,01	0,004	0,006	0,004	0,005	0,005	6,5	13,6	24,6	14,0	9,1	656.4	724.1
Río Amajac (San Juan Amajac)	0,016	0,007	0,009	0,007	0,008	0,008	7,6	10,3	66,3	53,1	5,3	756.4	899.1
Río Amajac (San Juan Amajac 1)	0,009	0,004	0,005	0,004	0,005	0,005	6,5	4,0	38,8	30,3	10,1	646.6	736.5
Río Amajac (San Juan Amajac 2)	0,009	0,004	0,005	0,004	0,004	0,005	6,9	0,3	38,9	46,6	11,3	646.6	750.5
Río Amajac (Boca de León)	0,009	0,004	0,005	0,004	0,004	0,004	7,3	1,5	42,1	32,8	10,7	679.5	772.1
Río Amajac (Antes de Tamanchuzale)	0,01	0,004	0,006	0,005	0,005	0,005	8,3	2,7	30,6	25,6	8,8	560.6	636.3
Río Moctezuma (Tamanchuzale)	0,015	0,007	0,009	0,007	0,007	0,008	7,6	2,7	127,3	32,4	30,3	796.0	995.2
Río Amajac (Amajac+ Moctezuma)	0,015	0,007	0,009	0,007	0,008	0,008	6,8	3,6	47,5	17,5	12,9	636.2	724.4
Presa el Cedral (Pachuca)	0,007	0,003	0,004	0,003	0,003	0,003	6,8	1,2	15,2	14,3	0	231.8	268.9
Presa "La Estanzuela"	0,004	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	6,4	0,9	18,9	14,8	0	275.7	315.9

*Ni: níquel, Cu: cobre, Zn: zinc, Mn: manganeso, Pb: plomo Cd: cadmio, N: nitrógeno, Pt: fósforo total, Cl: cloro, SO4: sulfatos, CO3: carbonatos, HCO3: bicarbonatos. Tomado de (Álvarez *et al.*, 2008).

Respecto a las actividades de minería de la zona, de acuerdo a la división de regiones mineras del Estado de Hidalgo, La Presa "La Estanzuela" se encuentra dentro de la región minera Pachuca-Actopan, que pertenece al Distrito Minero Pachuca-Real del Monte-Miguel donde se extraen oro, plata, plomo, zinc y cobre. En el estado de Hidalgo dentro de las

principales minas en explotación, la más cercana a la zona es la Mina San Juan que se encuentra en Pachuca, donde se extraen principalmente oro y plata. De acuerdo a registros proporcionados por el Servicio Geológico Mexicano (SGM), organismo público coordinado por la Subsecretaría de Minería en la Secretaría de Economía, la zona se encuentra en exploración en busca de metales por empresas mineras. Esto nos habla de actividades que podrían estar afectando la calidad del agua (Servicio Geológico Mexicano, 2018).

Sin embargo, de acuerdo a Álvarez *et al* (2008) y los estudios realizados acerca de la calidad del agua, la presa “La Estanzuela” fue clasificada dentro de los sitios más limpios de los 17 muestreados y esto podría deberse a su ubicación en la parte más alta de la cuenca (Álvarez *et al.*, 2008). Considerando otros parámetros cuantificados en ese estudio, como la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) la Presa “La Estanzuela” y los demás sitios arrojaron valores que se encuentran debajo de lo establecido por la Norma (LMP de la norma: 150 mg/L para uso en riego agrícola, 75 mg/L para uso público urbano y 30 mg/L para la protección de la vida acuática). Otro parámetro que se cuantificó en este estudio fue el de Coliformes Fecales, para la Presa “La Estanzuela” este valor fue de 106.7 NMP/100 mL, que en comparación con los otros 16 sitios muestreados, fue uno de los valores más bajos, además, de acuerdo a los autores, también este valor se encuentra debajo de los valores permitidos por la Norma Oficial Mexicana (1000 a 2000 NMP/100 mL) (Álvarez *et al.*, 2008).

En otro trabajo realizado también por estos autores, que consideraron un total de 8 parámetros, y al realizar un análisis estadístico de regresión múltiple, se clasificaron los sitios muestreados de la cuenca con un índice de calidad de agua (ICA). Para el sitio que pertenece a la Presa “La Estanzuela”, esta fue clasificada como de calidad media (ICA 50-68), es decir, que requiere tratamiento para usarse como abastecimiento público (Tabla 11) (Álvarez *et al.*, 2006).

Tabla 11. Concentración media de los parámetros estudiados e Índice de Calidad del agua (ICA) de los sitios muestreados de la Cuenca del Río Amajac (años 2005-2006)*.

localidad	BCF (NMP/100 mL)*	OD % sat*	pH	Turbidez NTU	SDT mg/L	DBO mg/L	NO ₃ mg/L	P total mg/L	ICA
Presa Comalillo	3810	101.5	7.72	9.04	7.72	11.30	2.72	0.22	65
Presa "La Estanzuela"	110	115.2	7.58	6.03	7.58	13.77	2.16	0.88	64
Presa el Cedral	1630	106.9	7.29	7.85	7.29	12.97	1.54	1.23	59
San Juan Amajac-2	11920	99.5	7.80	78.57	7.80	12.77	6.65	0.29	54
Río Venados	9560	95.8	7.61	44.85	7.61	12.45	3.05	6.08	51
Boca de León	9300	100.1	7.99	34.20	7.99	15.84	5.52	1.47	49
Río Amajac Tamanz	11070	97.6	8.00	19.59	8.00	14.40	8.42	2.30	49
Río Almolon	16700	99.0	7.69	74.77	7.69	17.52	2.85	13.59	48
Río Amajac+ Moctezuma	17530	93.6	8.11	25.43	8.11	18.81	3.81	3.64	48
Presa la Esperanza	19670	108.2	6.93	7.52	6.93	16.78	19.67	1.94	48
San Juan Amajac 1	8950	101.5	7.82	76.33	7.82	20.34	7.17	4.53	45
Río Amajac (San Juan Amajac)	12070	98.0	7.68	88.67	7.68	17.23	7.40	10.25	44
Laguna Meztitlan	16010	61.7	7.37	53.93	7.37	15.27	9.00	6.87	41
Río Tulancingo (Ciudad)	19670	0.0	7.11	16.50	7.11	16.21	10.35	0.40	36
Río Tulancingo (D. D. R.)	24000	0.0	6.84	25.57	6.84	16.10	10.64	2.38	29
Río Tulancingo (salida)	12200	0.0	6.81	32.00	6.81	18.91	12.03	2.44	28

*Parámetros considerados: BCF: bacterias coliformes fecales; OD: oxígeno disuelto; pH; Turbidez en NTU; DBO: demanda bioquímica de oxígeno; NO₃: nitrógeno; P total; fósforo total; ICA: Índice de calidad del agua. Tomado de: Álvarez *et al.*, 2006.

Además de los estudios antes mencionados acerca de este cuerpo de agua, están los datos proporcionados por la CONAGUA. De acuerdo a dichos datos, La Presa “La Estanzuela” presentó una clasificación “excelente” con una demanda bioquímica de oxígeno de 1 mg/L para el año 2018 (Figura 3).

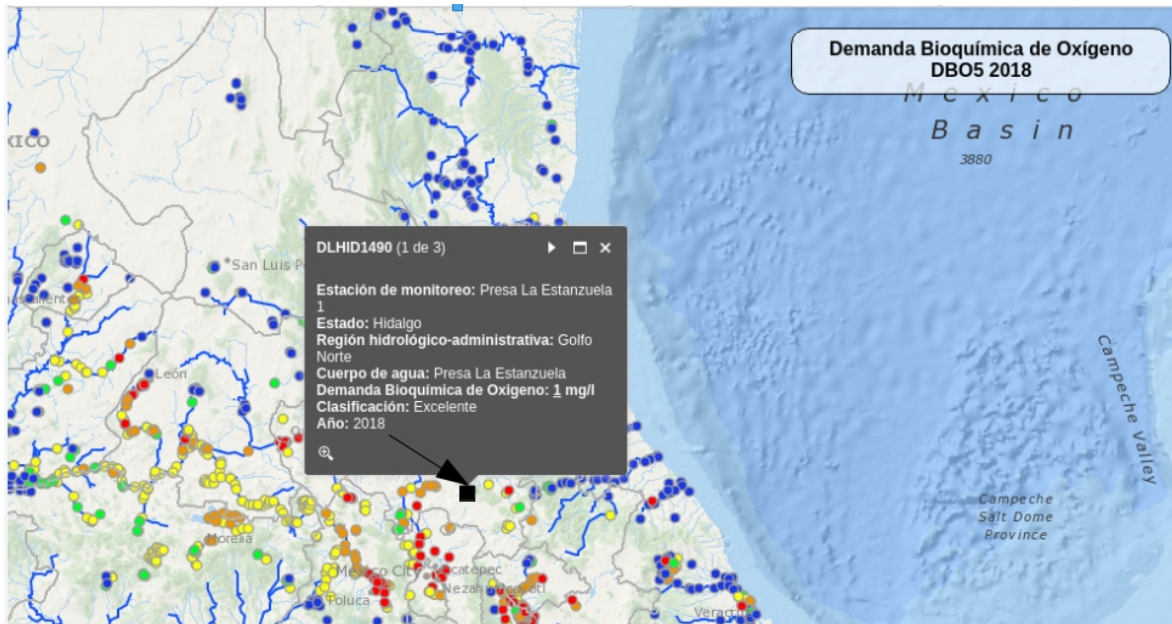


Figura 3. Representación de cuerpos de agua de la República Mexicana donde se señala la Presa “La Estanzuela” y su valor de Demanda bioquímica de oxígeno en mg/L determinada en 2018. Tomado de datos de CONAGUA (2020).

Respecto a la demanda química de oxígeno, de acuerdo a los datos reportados por la CONAGUA, para el año 2018, La Presa “La Estanzuela” fue clasificada como “Buena calidad” con un valor de 14.69 mg/L (Figura 4).

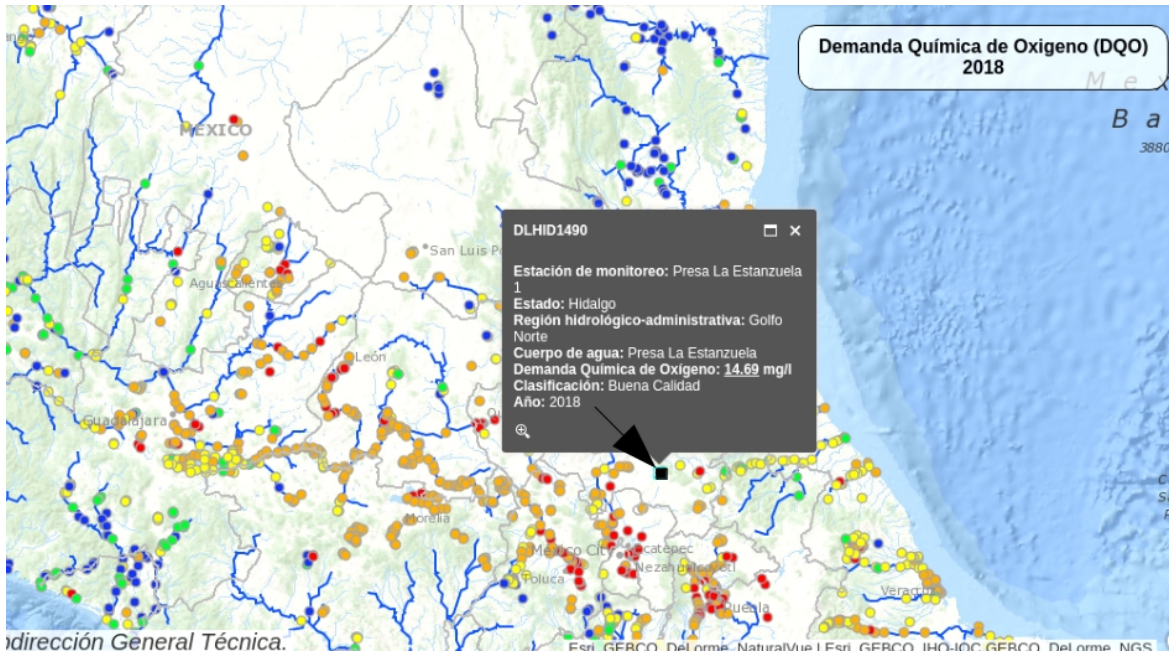


Figura 4. Representación de cuerpos de agua de la República Mexicana donde se señala la Presa “La Estanzuela” y su valor de Demanda química de oxígeno (DQO) en mg/L determinada en 2018. Tomado de datos de CONAGUA (2020).

Respecto al parámetro de Sólidos Suspendidos Totales (SST) realizado por la CONAGUA en el 2018 la Presa “La Estanzuela” tiene una clasificación de “excelente” con una concentración de 5 mg/L (Figura 5).

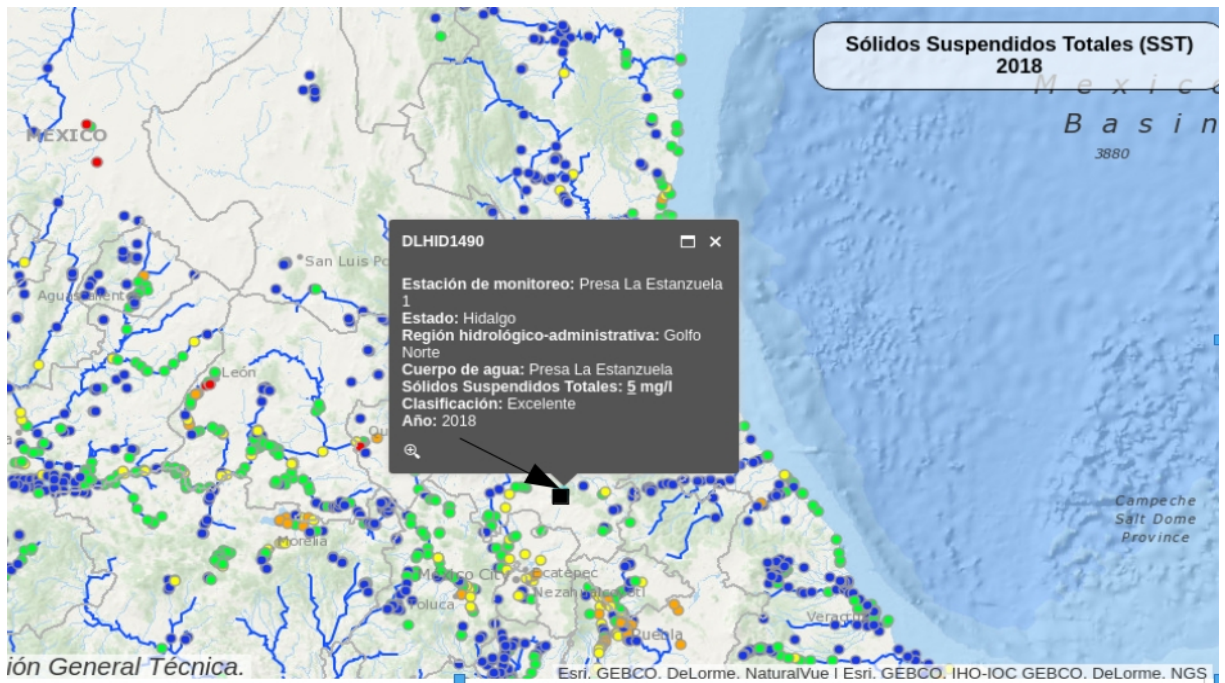


Figura 5. Representación de cuerpos de agua de la República Mexicana donde se señala la Presa “La Estanzuela” y su valor de Sólidos suspendidos totales (SST) en mg/L determinada en 2018. Tomado de datos de CONAGUA (2020).

Para el parámetro de Coliformes Fecales la Presa “La Estanzuela” fue clasificada por la CONAGUA como “excelente”, con un valor de 10 NMP/100 mL (Figura 6).

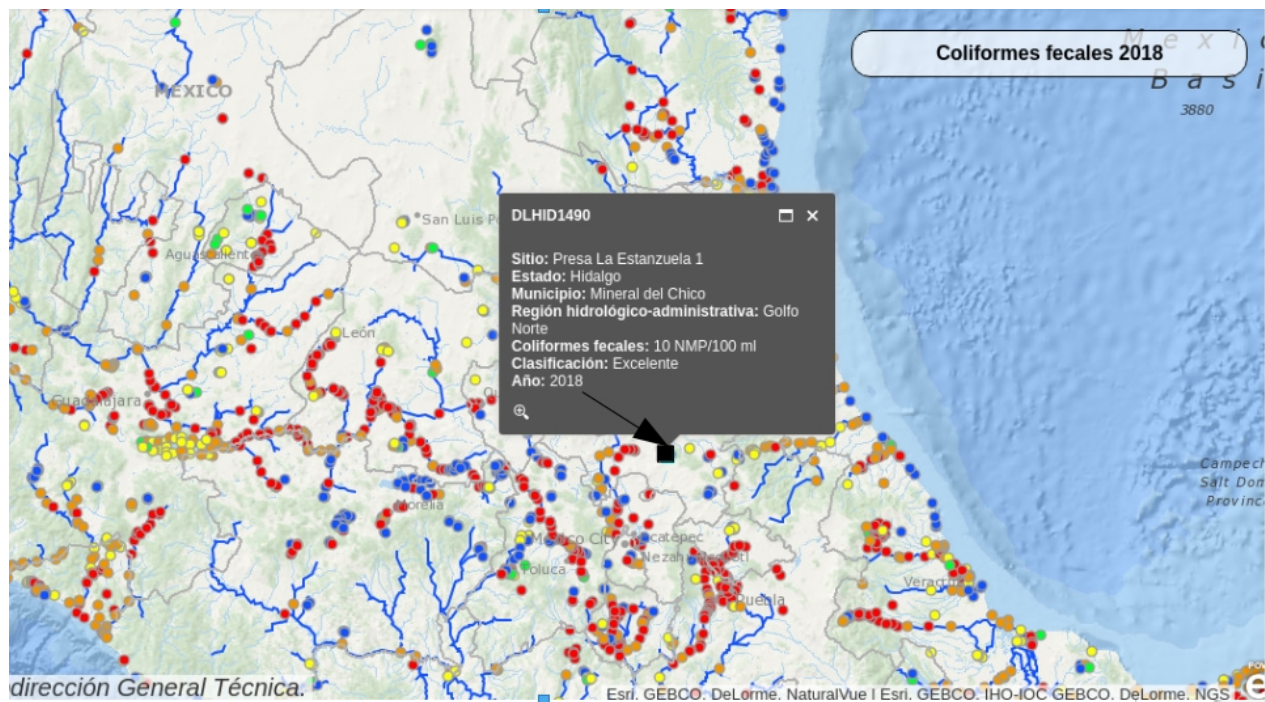


Figura 6. Representación de cuerpos de agua de la República Mexicana donde se señala la Presa “La Estanzuela” y su valor de Coliformes Fecales en NMP/100mL determinada en 2018. Tomado de datos de CONAGUA (2020).

Además de estos parámetros físicoquímicos para evaluar la calidad del agua, Fent (2003), menciona que las acciones de compuestos aislados y sus asociaciones con otros compuestos químicos, así como su interacción con los organismos en el ambiente no puede ser entendida solo con la caracterización físicoquímica.

1.6 Toxicología

La toxicología es la ciencia que estudia los efectos que ciertas sustancias tienen sobre los organismos vivos (Klaassen y Watkins, 2001). Un toxicólogo se encarga de examinar la naturaleza de estos efectos, tales como mecanismos de acción, celulares, bioquímicos y moleculares y de valorar la probabilidad de aparición. Una adición reciente al campo de la toxicología es la aplicación de la disciplina a la evaluación de seguridad y la valoración de riesgo, donde se hacen estimados cuantitativos de los efectos potenciales sobre la salud humana y la importancia ambiental de varios tipos de exposiciones a ciertas sustancias (Klaassen y Watkins, 2001). Dentro de la toxicología también existen varias ramas de especialización, como la toxicología genética que se encarga de identificar y analizar la acción de agentes tóxicos que son capaces de interactuar con el material genético de los

organismos. El principal objetivo es el de detectar y entender las propiedades de los agentes físicos y químicos genotóxicos que producen efectos hereditarios los cuales pueden ser deletéreos o letales. Es una ciencia que pretende establecer la correlación que existe entre la exposición a agentes xenobióticos y la inducción de alteraciones genéticas tanto en células germinales como en células somáticas de los organismos (Rodríguez- Arnaiz, 2004).

1.6.1 Xenobióticos

Un xenobiótico es un compuesto que no forma parte de los componentes naturales del cuerpo, pero que es capaz de acceder a su interior. Los organismos vivos se encuentran constantemente sometidos a distintas presiones, que pueden ser biológicas, químicas o ambientales. Dentro de ellos hay compuestos sintéticos, tóxicos, contaminantes ambientales y fármacos. Todos los días una gran cantidad de sustancias extrañas penetran a los organismos, a través de la inhalación, de la vía dérmica, de la vía digestiva o de la vía parenteral. Pueden ocasionar daños inmediatos o a largo plazo (Rodríguez y Rodeiro, 2014).

1.6.2 Biotransformación de xenobióticos

Los organismos cuentan con sistemas biológicos encargados de biotransformar y/o eliminar estos compuestos ajenos al organismo. Al no ser usados como nutrientes, los xenobióticos no se incorporan a las rutas bioquímicas del metabolismo intermediario, y no son metabolizados. Muchos son compuestos de naturaleza lipofílica (liposolubles), es decir, son capaces de atravesar las membranas biológicas, acceder al interior celular, unirse a estructuras celulares lipofílicas y en suficiente cantidad, pueden interferir en los procesos metabólicos normales a nivel celular. Por otro lado, su eliminación es difícil debido a que la eliminación de sustancias no volátiles se realiza a través de fluidos acuosos, fundamentalmente en la orina (Rodríguez y Rodeiro, 2014).

El sistema encargado de biotransformar y/o eliminar este tipo de compuestos es el sistema de citocromos P450s. La eliminación de xenobióticos a menudo depende de su conversión en sustancias químicas hidrosolubles mediante un proceso conocido como biotransformación. En muchas circunstancias, la modificación química de un xenobiótico mediante biotransformación altera sus efectos biológicos. Esto es importante para la toxicología, ya que muchos compuestos se someten a biotransformación para ejercer su efecto tóxico (Klaassen y Watkins, 2001).

El término metabolismo se usa para describir el destino de un xenobiótico que incluye

su absorción, distribución, biotransformación y eliminación (Klaassen y Watkins, 2001).

Las reacciones catalizadas por enzimas que producen biotransformación de xenobióticos generalmente se dividen en dos grupos: Las reacciones fase I que comprenden hidrólisis, reducción y oxidación; y las reacciones de biotransformación fase II que incluyen, glucuronidación, sulfuración, acetilación, metilación o conjugación. La biotransformación fase II puede o no ir precedida por biotransformación fase I. En general, la biotransformación fase II no precede a la biotransformación fase I, aunque hay excepciones a esta regla (Klaassen y Watkins, 2001).

1.6.3 Citocromos P450 (CYP450)

Las enzimas P450, también denominadas como CYP450 o CYP₄₅₀, se encuentran ampliamente distribuidas en animales (desde bacterias, protistas, plantas hasta mamíferos) (Guengerich *et al.*, 2016). Se conocen más de 18,000 secuencias de CYP450 organizadas en familias. Dentro de un mismo organismo, este sistema se encuentra en diferentes tejidos como riñón, pulmón, piel, cerebro, corteza adrenal, placenta, testículos, entre otros; de los cuales el hígado y el intestino delgado son los más importantes. En organismos eucariontes se ha detectado en casi todas las membranas subcelulares, siendo las mitocondrias y el retículo endoplásmico liso los organelos más importantes (Rodríguez y Rodeiro, 2014).

Los P450 son una superfamilia de hemoproteínas de función catalítica que contiene entre 400-500 residuos de aminoácidos (Hill *et al.*, 1970) en la que el grupo tiol (-SH) de una cisteína funciona como quinto ligando al átomo de hierro del grupo hemo, y el sexto ligando es una molécula de agua. Existe poca variedad entre los citocromos con respecto a su sitio de unión con el hierro. En eucariontes, el peso molecular oscila 50 y 60 KD, la similitud a nivel de estructura primaria es relativamente baja (Rodríguez y Rodeiro, 2014).

Los citocromos (CYP) tienen una amplia especificidad del sustrato y catalizan una gran variedad de reacciones de oxidación y reducción (Guengerich *et al.*, 2016). La reacción básica catalizada por P450 es la monoxigenación, que consiste en que un átomo de oxígeno incorpore a un sustrato, designado RH, y el otro se reduzca a agua con equivalentes reductores derivados del NADPH (Klaassen y Watkins, 2001; Guengerich *et al.*, 2016).

El mecanismo de acción de estas reacciones es complejo. Sigue un ciclo catalítico de reacciones que lleva asociado un sistema de transporte de electrones y de O₂. Existe evidencia de que generan especies reactivas de oxígeno como el anión superóxido (O₂⁻) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Además del radical libre sustrato (R) que al unirse a un radical

hidroxilo, generaría finalmente el producto hidroxilado (ROH). El aspecto mejor conocido es la activación del O₂, similar en todos los CYP450 (Klaassen y Watkins, 2001).

Las reacciones de biotransformación de xenobióticos se refieren al conjunto de procesos enzimáticos destinados a incrementar la hidrofilia (afinidad molecular con el agua) de estos compuestos para facilitar su neutralización y eliminación. Estos procesos se agrupan en dos fases:

- **Fase I:** Catalizada principalmente por el sistema de monoxigenasas dependientes del CYP450, donde los xenobióticos son transformados mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis, y convertidos en productos más hidrosolubles a causa de la formación de nuevos grupos funcionales polares (carboxilo, hidroxilo, amino).
- **Fase II:** Participan una serie de transferasas que actúan sobre los xenobióticos, o los metabolitos generados en las reacciones de la fase I, para combinarlos mediante reacciones de conjugación (glucuronconjugación, sulfonación y acetilación) con moléculas endógenas de carácter polar (ácido glucurónico, sulfatos, acetatos, glutatión o algunos aminoácidos) para facilitar su transporte por el organismo y su rápida excreción.

El objetivo final es aumentar la solubilidad en agua de los compuestos y facilitar su excreción a través de la orina o la bilis (Rodríguez y Rodeiro, 2014).

Por otro lado, aunque la función principal de los P450s es participar en las reacciones de desintoxicación, también interviene en procesos de activación metabólica, compuestos inertes y poco reactivos son transformados en otros que resultan tóxicos para el organismo por su reactividad química que causan daño al DNA lo cual puede generarse por mecanismos de mutagénesis y/o carcinogénesis (Rodríguez y Rodeiro, 2014; Wahlang *et al.*, 2015).

1.7 Uso de modelos biológicos para determinar la contaminación del agua

Respecto al estudio de agentes contaminantes, tradicionalmente el riesgo se había valorado por medio de cuantificación de residuos químicos en muestras de sitios afectados. Pero se ha visto que este método tiene varias limitaciones respecto al costo, la limpieza de las muestras y la correlación entre el agente tóxico y el porcentaje de captación que puede tener el organismo (Klaassen y Watkins, 2001).

Por estas razones, se emplean los biomarcadores. Un biomarcador o marcador biológico es una sustancia empleada como indicador de un estado biológico. En la toxicología genética es la alteración inducida por xenobióticos en componentes o procesos, estructuras o

funciones celulares o bioquímicas que es susceptible de medición en un sistema o muestra biológica (Klaassen y Watkins, 2001).

El impacto de las sustancias químicas y de otros materiales antropogénicos sobre ecosistemas acuáticos puede valorarse a varios niveles. Varían desde valoraciones en el Laboratorio que proporcionan información toxicológica bajo regímenes estandarizados hasta valoraciones del ecosistema entero. En ambos métodos es trascendental entender los cambios temporales y espaciales en la calidad del agua y la concentración de tóxicos, y el modo en que estos influyen sobre puntos terminales toxicológicos medidos (Klaassen y Watkins, 2001).

Los organismos acuáticos autóctonos (algas, peces, macroinvertebrados) completan todo su ciclo de vida o la mayor parte del mismo en el agua, pueden servir como monitores de la calidad del agua (Klaassen y Watkins, 2001).

Además de esto están las pruebas de toxicidad aguda y crónica. El principio fundamental bajo el que están basados los ensayos de toxicidad es reconocer la respuesta de los organismos a agentes tóxicos dependiendo de la dosis a la que son expuestos. Así, la finalidad es determinar la relación dosis-respuesta para la supervivencia. Por otro lado, están los estudios crónicos que evalúan los efectos letales como el crecimiento, la supervivencia, el comportamiento, los residuos en los tejidos o los efectos bioquímicos, en general están diseñados para determinar la concentración del agente donde no se producen efectos adversos. En el caso de los ensayos de toxicidad aguda, el agente se evalúa por un periodo corto de tiempo que va desde las 24 a las 96 horas (Hoffman *et al.*, 2002).

Cuando se escoge a un organismo como modelo biológico el fin es que al conocer su biología, estos hechos puedan extrapolarse a otros seres vivos. Los organismos llamados modelo como el insecto *Drosophila melanogaster*, el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, el mamífero *Mus musculus* entre otros comparten el hecho de que se conoce ampliamente su genética y su biología (Rodríguez-Arnaiz, 2003).

1.7.1 *Drosophila melanogaster* como modelo biológico

Drosophila es un insecto conocido como mosca de la fruta o del vinagre. Es pequeña, mide de 2 a 4 mm, generalmente de color amarillo pálido y ojos rojos. El género *Drosophila* se encuentra distribuido en todo el mundo, la mayoría de las especies se reproducen en varios tipos de plantas en descomposición y en material fúngico (Ravi y Kar, 2014). Es un organismo que se ha empleado para el estudio de la actividad genotóxica de diversos compuestos

químicos. Entre las ventajas del uso de *D. melanogaster* como modelo biológico, están su corto ciclo de vida (aproximadamente 10 días a 25°C), el medio de cultivo usado es barato y las instalaciones para su crianza también (Graf y Singer, 1992).

Drosophila presenta dimorfismo sexual y esto permite una fácil diferenciación de sexos, además tiene un ciclo de vida corto (10 a 12 días) y su mantenimiento es de bajo costo. Es un organismo ampliamente estudiado cuyo genoma está completamente secuenciado (Ravi y Kar, 2014).

El plan corporal de *Drosophila* consiste en cabeza, tórax y abdomen. Durante el desarrollo múltiples segmentos dan origen a la cabeza, tres constituyen el tórax y ocho segmentos forman el abdomen. La cabeza tiene antenas y tanto las patas como el par de alas se originan en el segundo segmento del tórax.

1.7.2 Taxonomía

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Hexapoda

Clase: Insecta

Orden: Diptera

Familia: Drosophilidae

Género: *Drosophila*

Especie: *Drosophila melanogaster*

(Meigen, 1830)

1.7.3 Ciclo de vida

Una vez que el huevo es fecundado, el ciclo de vida de *D. melanogaster* consta de un periodo de desarrollo conformado por cinco fases distintas: embrión, tres estadios larvarios y estadio de pupa. La mosca adulta emerge del pupario 10 días después de la fecundación (Klug *et al.*, 2006).

El periodo de desarrollo de *D. melanogaster* varía con la temperatura y humedad, por ejemplo, el tiempo requerido para el desarrollo completo a 25° C es de 9 a 10 días con 60% de humedad. Las hembras pueden poner hasta 400 huevos. Los huevos que son de aproximadamente 0.5 mm de largo, eclosionan después de 20-22 horas. Las larvas crecen durante 3 días aproximadamente mientras mudan a larvas de segundo y tercer estadio a las 24 y 48 horas después de la eclosión. La larva entra a la fase de pupa y sufre una metamorfosis completa durante 4 días y finalmente emerge la mosca adulta (Figura 7) (Ravi y Karl, 2014).

La organización completa del plan corporal de *D. melanogaster* deriva del plan corporal de la larva, compuesto por la cabeza, los segmentos torácicos y el abdomen. Gran parte de las estructuras larvales se degradan durante la fase de pupa y la mayoría de las estructuras corporales del adulto se forman a partir de pequeñas agrupaciones celulares llamadas discos imaginales, formados durante los estadios larvarios. Hay 12 pares de discos imaginales que son bilaterales los cuales dan origen a los ojos, antenas, patas, alas y un disco genital (Klug *et al.*, 2006).

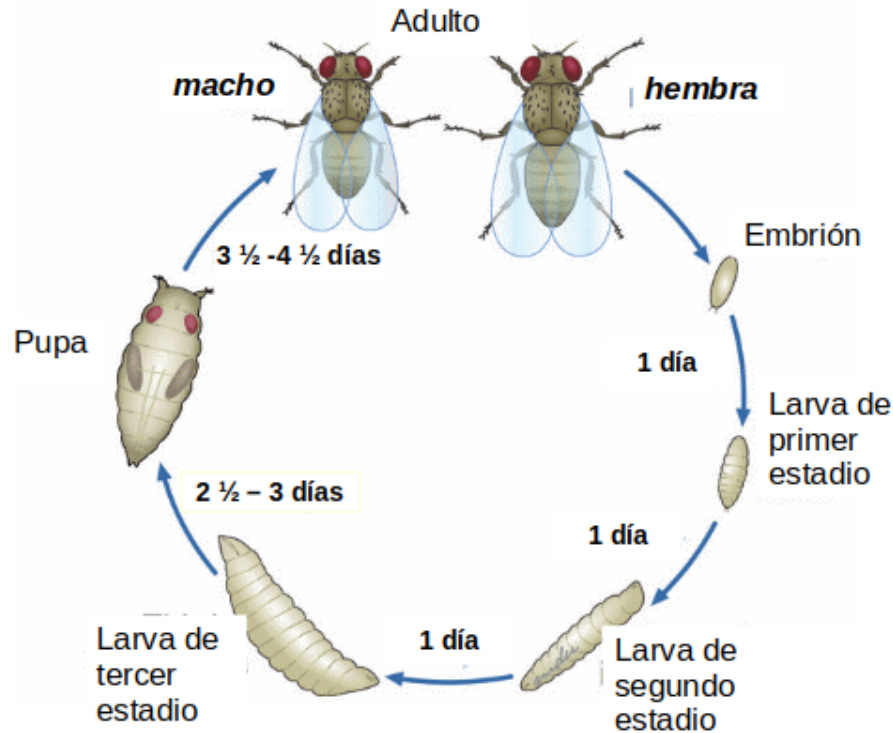


Figura 7. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*. Modificado de Ong *et al.*, 2015.

1.8 Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en ala de *Drosophila melanogaster*

El ensayo de mutación y recombinación somática *in vivo* (SMART, por sus siglas en inglés: Somatic Mutation and Recombination Test) consiste en evaluar la genotoxicidad de un compuesto. Este ensayo se realiza en *D. melanogaster* con marcadores localizados en los tricomas del ala (Graf *et al.*, 1984). Detecta la pérdida de la heterocigosis con base en unos marcadores del ala, esta pérdida puede ser ocasionada por eventos de mutación puntual, deleciones, no disyunción y recombinación mitótica (Marcos *et al.*, 2014). De acuerdo con varios autores, la mosca de la fruta es el organismo ideal cuando se trata de detectar compuestos con actividad mutagénica (Graf y Singer, 1992).

Este ensayo es muy útil cuando se trata de determinar el potencial genotóxico de compuestos químicos. Además, la recombinación mitótica se asocia con algunos procesos de iniciación del cáncer (Marcos *et al.*, 2014). También se ha empleado para la detección de genotoxicidad de diferentes agentes como radiación, metales, compuestos químicos, extractos

de plantas, drogas, pesticidas, diferentes tipos de contaminantes, nanopartículas, entre otros (Marcos *et al.*, 2014).

El método consiste en emplear organismos trans-heterocigotos para marcadores recesivos ubicados en el brazo izquierdo del cromosoma 3. Uno de ellos es *multiple wing hair (mwh)* en la posición 0.3 y *flare (flr³)* en la posición 38.8. Ambos marcadores contienen mutaciones que sí se expresan, afectan la diferenciación final de los tricomas del ala (Graf *et al.*, 1984). La mutación *mwh* es recesiva y viable en condición homocigota, su expresión fenotípica se caracteriza por la aparición de tres o más tricomas en cada célula (Marcos *et al.*, 2014). Por otro lado, la mutación *flr³*, es recesiva y letal en condición homocigota en la línea germinal, pero no en células somáticas. Por ello es necesario el gen balanceador TM3, que se caracteriza por contener múltiples inversiones (Graf *et al.*, 1984). El fenotipo *flare* es muy variable, pero en general se caracteriza por una deformación de los tricomas (Marcos *et al.*, 2014).

Eventos como la mutación puntual, delección y la no disyunción pueden formar una mancha sencilla (*flr* o *mwh*), mientras que un evento de recombinación puede causar manchas *flr* y *mwh* (mancha gemela) (Figura 8). El registro de la frecuencia y el tamaño de los diferentes puntos permite una detección cuantitativa de los eventos mutagénicos y recombinogénicos (Graf *et al.*, 1984). Las manchas mutantes se clasifican de cierta forma: pequeñas (1-2 células afectadas), manchas grandes (más de 3 células afectadas) y mancha gemela (células que presenten los dos marcadores; *flr³* y *mwh*) (Marcos *et al.*, 2014).

Evento	Resultado
<p>Normal</p>	<p>Fenotipo normal</p>
<p>Delección</p>	<p>Mancha sencilla</p>
<p>Mutación puntual</p>	<p>Mancha sencilla</p>

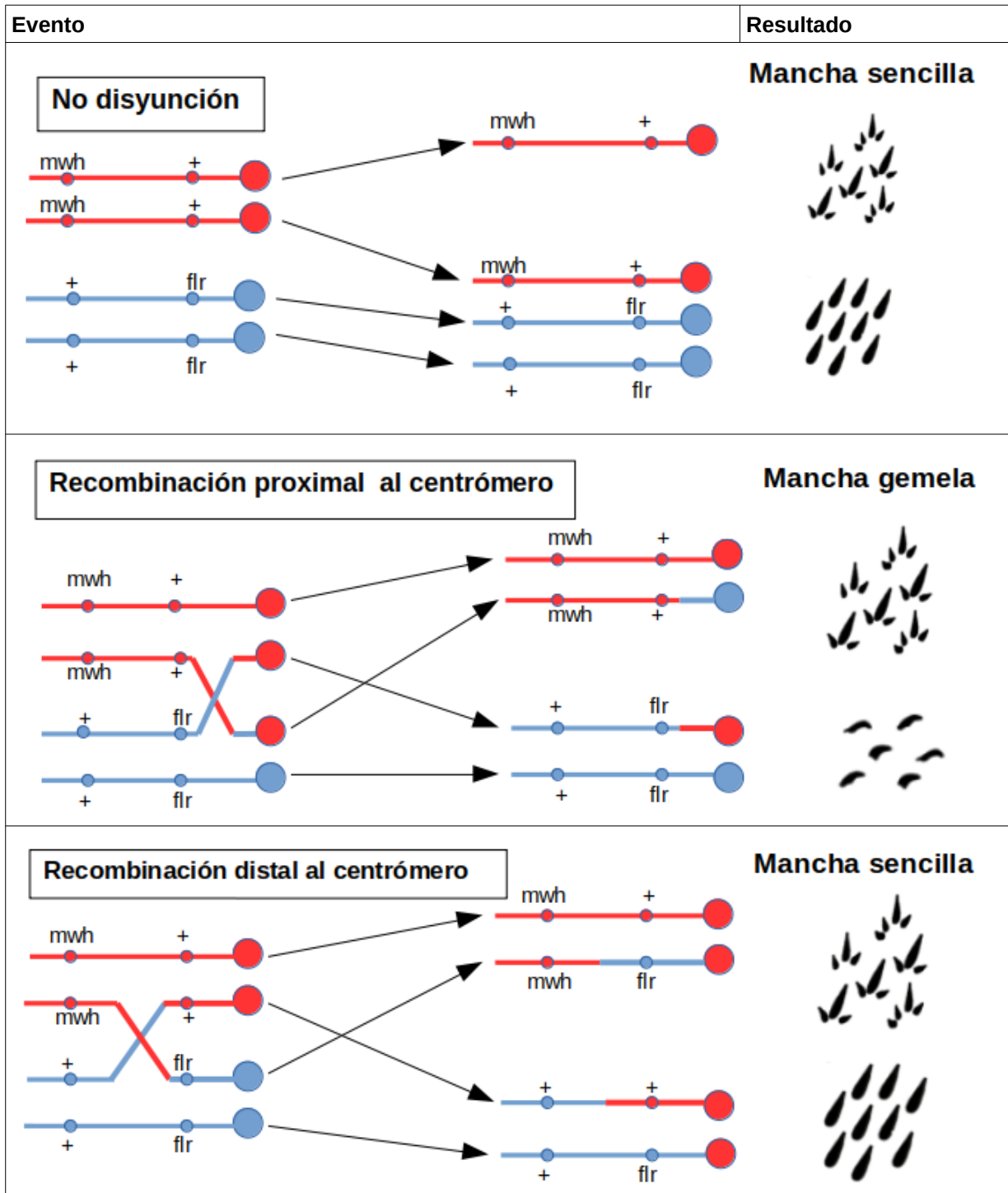


Figura 8. Eventos genéticos detectables en el ensayo SMART empleando los marcadores *flr* y *mwh*. (Dibujo de Diana Patricia Ascencio Gorozpe).

Las larvas de *D. melanogaster* poseen una gran actividad metabólica, lo que les permite la

activación de muchos xenobióticos (Graf *et al.*, 1984). En este ensayo se emplean dos tipos de cruza; la Estándar (ST) y la de Alta Bioactivación (HB). La cruza estándar proviene de machos *mwh* con hembras *flr³/TM3/Ser*, mientras que la cruza de alta bioactivación consiste en la cruza de machos *mwh* con hembras *ORR-flr³/TM3/Ser*. La cepa ORR es una cepa resistente al DDT, y se caracteriza por tener elevados niveles de expresión constitutiva de los citocromos P450, que en *D. melanogaster* son responsables del metabolismo de xenobióticos, lo que facilita la detección de promutágenos y procarcinógenos dada la eficiente biotransformación de estos compuestos (Graf y van Schaik, 1992).

La cruza de alta bioactivación se desarrolló con el fin de detectar mutágenos que requieren ser metabolizados por los citocromos P450 (Graf y van Schaik, 1992). Se ha visto que un gran número de promutágenos incrementan su genotoxicidad cuando son probados en la cruza de alta bioactivación en comparación con la cruza estándar (Graf y Singer, 1992). *D. melanogaster* ha demostrado ser muy útil en para detectar compuestos mutagénicos y carcinogénicos que requieren ser biotransformados (Marcos *et al.*, 2014).

El disco imaginal del ala es una estructura en forma de saco unida a la epidermis larval y compuesta de dos capas epiteliales: epitelio columnar y un epitelio peripodial. Los discos imaginales son los precursores del tórax y las alas del cuerpo adulto de la mosca, se desarrollan internamente durante la metamorfosis. Durante la fase tardía de pupa el epitelio peripodial degenera pero sirven como guía para proveer el patrón del epitelio columnar para formar al tórax y las alas del adulto (Figura 9) (Wang *et al.*, 2012) . En este ensayo se expone a las larvas de *D. melanogaster*, ya que las células están destinadas a desarrollarse en diferentes estructuras al alcanzar el estadio adulto. Si el agente induce una mutación en una de las células que se desarrollan durante el estadio larvario será detectado en los tricomas de las alas (Graf *et al.*, 1984).

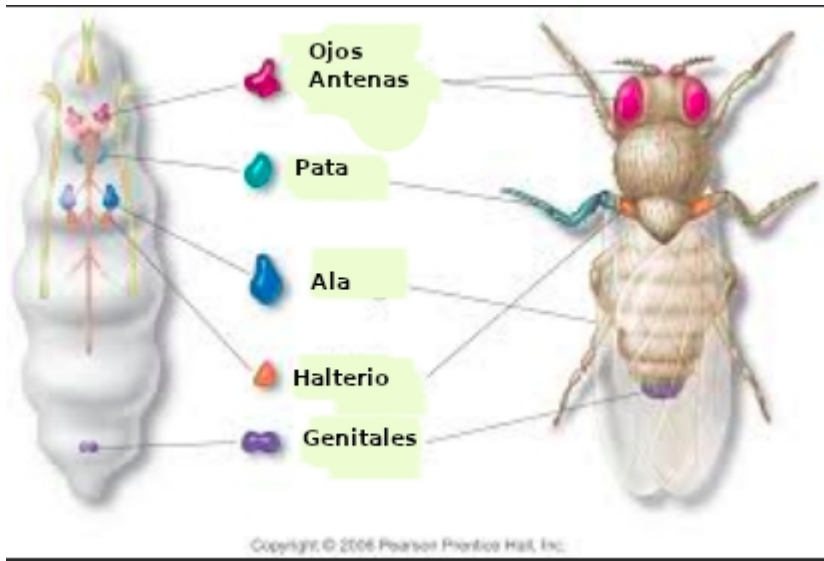


Figura 9. Esquema de una larva de tercer estadio de *Drosophila melanogaster* en la que se señalan sus discos imaginales (lado izquierdo) y la estructura a la que dan origen al alcanzar la etapa adulta (lado derecho).

El uso del ensayo SMART para evaluar muestras de agua se ha empleado antes por otros autores, un ejemplo fue un estudio realizado en el Rio Cai de Brasil para evaluar agua superficial que estaba bajo la influencia de descargas industriales y en una zona urbana, demostrando su sensibilidad para detectar contaminación por descargas industriales y urbanas (Do Amaral *et al.*, 2006). Además, anteriormente *Drosophila* ha sido considerado un buen candidato para monitorear la genotoxicidad ambiental de distintos contaminantes (Moraes *et al.*, 2007; de Santana, 2018).

2. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que la cuenca hidrológica del Río Amajac presenta altos niveles de contaminantes, que sobrepasan los permitidos por la Norma Oficial Mexicana. La presa “La Estanzuela” pertenece a esta cuenca y abastece a las colonias de Pachuca y Mineral del Chico, para el consumo de agua y podría tener efectos nocivos para la salud de las personas que habitan la zona. Se ha demostrado que *Drosophila melanogaster* es un buen modelo para estudiar cuerpos de agua, en este estudio en particular se va utilizar la mosca de la fruta para evaluar los efectos genotóxicos en muestras de la presa “La Estanzuela”.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la genotoxicidad del agua de la presa “La Estanzuela” a través del Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en alas de *Drosophila melanogaster*.

4. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar si el agua de la Presa “la Estanzuela” es genotóxica.
- Evaluar si existen diferencias en el potencial genotóxico entre el agua superficial y el agua profunda de la presa y entre las temporadas de lluvias y secas.
- Determinar si los compuestos presentes en el agua de la presa dependen de una activación metabólica en *D. melanogaster*, por medio del ensayo SMART en ala usando la Cruza Estándar (ST) y la Cruza de Alta Bioactivación (HB).
- Realizar un análisis físicoquímico y un análisis químico de las muestras de agua de la Presa “La Estanzuela”

5. HIPÓTESIS

1. Si el agua de la Presa “La Estanzuela” es genotóxica, entonces se verá reflejado en un aumento significativo en la frecuencia de manchas *flr³* y *mwh* con respecto al control negativo en el Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART).
2. Si hay diferencias entre la genotoxicidad del agua superficial y profunda, la frecuencia de manchas será significativamente distinta entre las muestras de agua.
3. Si existen diferencias en el potencial genotóxico entre los muestreos de lluvias y secas, habrá una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de manchas de los tres muestreos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Muestreo de la Presa “La Estanzuela”

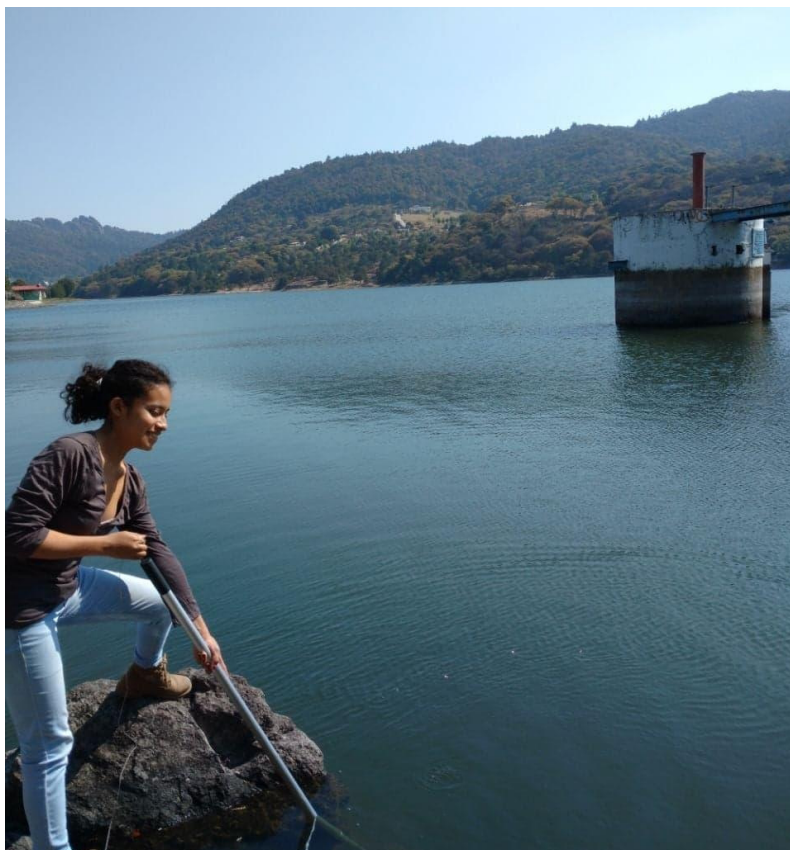


Figura 10. Fotografía de uno de los muestreos realizados en la Presa “La Estanzuela”.

Con el fin de determinar si existen diferencias en la estacionalidad y la profundidad, se realizaron 3 muestreos diferentes en temporadas de secas y lluvia. Además, en cada muestreo se recolectó agua superficial y profunda. Los tres muestreos se realizaron con la colaboración de la Dra. Claudia Coronel Olivares del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

El primer muestreo se realizó el 20 de junio de 2017. Se colectaron muestras de agua superficial (44 cm) y profunda (66 cm). Las muestras fueron colectadas en frascos de vidrio de 300 mL previamente esterilizados.

El segundo muestreo se llevó a cabo el 27 de octubre de 2017, se realizó el mismo procedimiento que en el primer muestreo, agua superficial (30 cm) y agua profunda (70 cm).

El tercer muestreo fue hecho el 6 de abril de 2018, se recolectó agua superficial (30 cm) y agua profunda (70 cm).

Todos los muestreos fueron realizados con un medidor multiparámetro portátil HI 9828 marca Hanna que registró diferentes variables: temperatura, pH, oxígeno disuelto (mg/L), conductividad (μ Siemens/cm), sólidos disueltos totales (mg/L) y salinidad (UPS).



Figura 11. Imagen satelital donde se indica el sitio de los tres muestreos realizados en la Presa “La Estanzuela”.

6.2 Concentración letal media (CL_{50})

Con el fin de establecer las concentraciones usadas para el estudio de la genotoxicidad del agua de la presa “La Estanzuela”, se determinó la concentración letal media (CL_{50}). Para esto se evaluó la supervivencia de individuos provenientes de las cruzas *flr*³ x *mwh* y *ORR-flr*³ x *mwh*, que fueron expuestas a las muestras de agua superficial y profunda de la presa en concentraciones de 50% y 100% (1:1 agua destilada). Este procedimiento se realizó para los tres muestreos. Se colocaron larvas de tercer estadio (10 larvas por concentración con tres réplicas) en viales con 0.5 g de medio de cultivo instantáneo Carolina hidratado con 2 mL de las concentraciones del agua de la presa y como control negativo se usó agua destilada.

Después de 1 semana, cuando emergieron los adultos, se cuantificó el número de individuos de cada vial y se comparó la frecuencia entre los grupos tratados y el control.

6.3 Cepas

Para este ensayo se usaron las cepas *flr³*, *ORR-flr³* y *mwh*. Se realizaron dos cruzas: 1) craza estándar (ST) de hembras vírgenes *flr³/TM3, Bd^{ser}* con machos *mwh/mwh* 2) craza de alta bioactivación (HB) de hembras vírgenes *ORR/ORR; flr³/TM3, Bd^{ser}* con machos *mwh/mwh*.

6.4 Protocolo del ensayo SMART en ala de *Drosophila melanogaster*

6.4.1 Cruzas

Se trabajó con la craza estándar (ST): *flr³ x mwh* y la de alta bioactivación (HB): *ORR-flr³ x mwh*. Para la craza estándar se cruzaron hembras vírgenes *flr³* con machos *mwh*; mientras que para la craza de alta bioactivación se cruzaron hembras vírgenes *ORR-flr³* con machos *mwh*.

Las cruzas se mantuvieron en frascos de vidrio con medio de cultivo; hembras y machos de ambas cruzas se colocaron en una proporción de 2:1 respectivamente; y se mantuvieron a temperatura ambiente (~25°C).

6.4.2 Colecta de huevos

Se realizó la colecta de huevos 3 días después de realizar las cruzas. Para esto, todas las moscas provenientes de las cruzas estándar (ST) y de alta bioactivación (HB) se trasvasaron a frascos con medio de cultivo estándar suplementado con levadura fresca y sacarosa, con el fin de fomentar la ovoposición de las hembras. Los frascos se mantuvieron a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de transcurrido ese tiempo, las moscas se regresaron a sus frascos originales.

6.4.3 Tratamiento

El tratamiento se realizó después de 3 días de haber hecho la colecta de huevos, una vez que las larvas habían llegado al tercer estadio (72±3 h). Se extrajeron las larvas de los frascos con levadura por medio de un gradiente de concentración dado por sacarosa al 20% y una malla de nylon.

Las larvas fueron depositadas en frascos que contenían 3 g de medio de cultivo instantáneo Carolina hidratado con 15 mL de las distintas concentraciones de agua (100 y 50%) profunda y superficial. Se utilizó agua destilada como control negativo y uretano 10 mM como control positivo. Cada concentración y control se realizó por triplicado. Los frascos se almacenaron a una temperatura de 25°C con una humedad de 60-70% hasta que las larvas alcanzaron la etapa adulta. Finalmente, los individuos fueron fijados en etanol al 70% en viales de 15 mL.

6.4.4 Elaboración de laminillas

Para la observación de las alas de individuos trans-heterocigotos se montaron las alas en portaobjetos. Estas se disectaron con unas pinzas finas y se colocaron en un portaobjetos con ayuda de una solución Fauré (30 g de goma arábica, 20mL de glicerol, 50 g de Hidrato de cloral y 50 mL de agua). Se colocaron las alas de 20 individuos: 10 hembras y 10 machos en tres laminillas por cada concentración y grupos control (Figura 11). Posteriormente, se dejó secar las preparaciones en un horno con una temperatura de 50° por al menos 24 horas, se colocó el cubreobjetos con solución Fauré y se selló con esmalte de uñas.

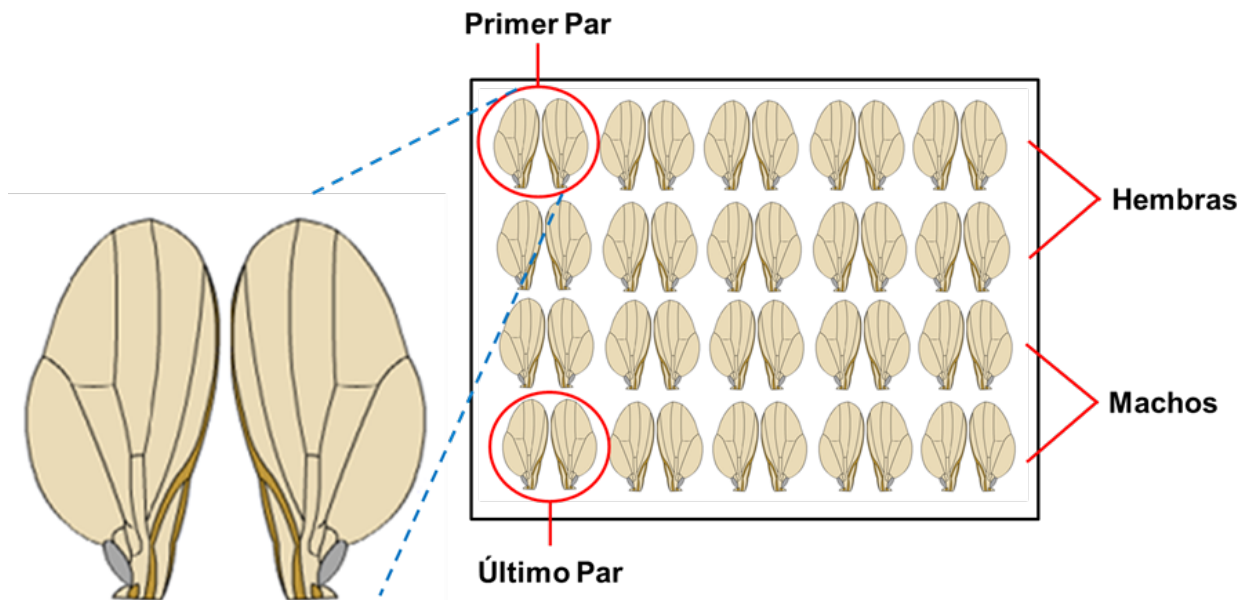


Figura 12. Orden de las alas en una laminilla. Tomado de Carballo-Ontiveros (2010)

6.4.5 Análisis de laminillas

Cada laminilla se observó al microscopio óptico a un aumento de 40x (120 alas analizadas por concentración y grupos control). Para el análisis se leyeron tres laminillas por concentración y grupos control. Se observó el fenotipo de los tricomas de los 7 sectores en los que se divide el

ala (Figura 12). Se consideró una mancha *mwh* a una célula con 3 o más tricomas y sólo se tomaba en cuenta una célula con 2 tricomas en caso de que estuviera junto a un conjunto de células con 3 tricomas; además de que se consideró como parte de una mancha a aquellas células que no estuvieran separadas por más de tres células con tricomas normales de distancia respecto a la mancha.

Se registró la frecuencia de manchas *flr*³ y *mwh* de cada ala, y la aparición de manchas gemelas (Figura 13) en todos los grupos tratados y los controles.

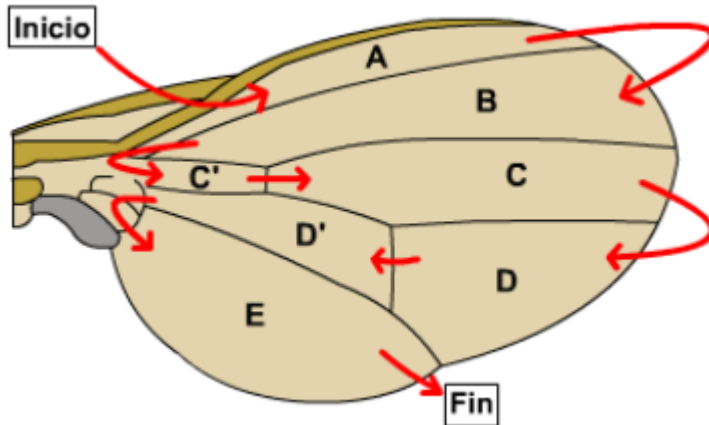


Figura 13. Esquema del ala de *D. melanogaster*, se muestran las regiones en que se divide y las flechas indican la dirección en que se analiza al microscopio. Tomado de Carballo-Ontiveros, (2010).



a) Mancha sencilla *mwh*

b) Mancha sencilla *flr*³

c) Mancha gemela

Figura 14. Fotografías tomadas al microscopio a 40x que muestran los fenotipos *mwh* y *flr*³ que pueden encontrarse en el análisis de las alas. Además, se muestra el fenotipo de una mancha gemela. (a y b Fotografías de Diana Patricia Ascencio Gorozpe; figura c tomada de Rodrigues de Andrade *et al*, 2004).

6.4.6 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con ayuda del programa estadístico SMART V. 2.0. Se tomó en cuenta el número de manchas gemelas encontradas, el tamaño de la mancha (pequeña si

presenta máximo 2 células afectadas y grande si es mayor a 2 células afectadas) y la frecuencia total de manchas obtenidas en cada concentración. El análisis estadístico compara los grupos tratados con el control negativo. El programa estadístico SMART V.2.0 está basado en una prueba no paramétrica de χ^2 cuadrada para proporciones y cuenta con un nivel de significancia de 0.5.

6.5 Análisis químico

Se realizó en el Laboratorio de Evaluación de Riesgo Ambiental de la Facultad de Ciencias (UNAM) con la colaboración del Dr. Rodolfo Omar Arellano Aguilar y la M. en Ciencias Mara Jessica Zamora Almazan. Por medio de un fotómetro multiparamétrico versión HI83099 de marca HANNA® se analizó la presencia de los metales (aluminio, zinc, níquel, cromo y cobre) además de ortofosfatos y amoníaco.

Para la medición de los metales se usaron kits químicos y el método de medición fue de tipo colorimétrico. Es decir, se usaron kits para cada uno de los metales y demás compuestos, lo cual causó una coloración específica si el metal estaba presente en la muestra de agua. Finalmente, con el fotómetro se midió la cantidad presente del metal o compuesto en la muestra.

7. RESULTADOS

7.1 Muestréos datos físicoquímicos

Con el multiparámetros se obtuvieron datos de la temperatura, pH, potencial de óxido reducción, oxígeno disuelto, conductividad, sólidos disueltos totales y salinidad. En la mayoría de los parámetros registrados los datos fueron muy similares (Tabla 12).

Tabla 12. Datos de los parámetros físico-químicos del agua de los diferentes muestréos.

Profundidad	°C *	pH	ORP	OD mg/L	C μ S/cm	SDT mg/L	Salinidad ppm
PRIMER MUESTREO: junio de 2017; lluvias							
44 cm	19.51	8.75	201.9	15.50	136	68	0.06
66 cm	19.62	8.80	207.0	8.79	128	64	0.06
SEGUNDO MUESTREO: octubre de 2017; secas							
30 cm	16.03	9.30	177.7	5.84	108	54	0.05
70 cm	16.98	9.61	149.2	7.83	112	56	0.05
TERCER MUESTREO: abril de 2018; lluvias							
30 cm	17.10	9.54	180.8	5.98	119	60	0.06
70 cm	17.09	9.51	181.2	5.28	117	59	0.05

* Parámetros Temperatura (°C), pH, Potencial de Óxido Reducción (ORP), oxígeno disuelto (mg/L), conductividad (μ S/cm), sólidos disueltos totales (SDT mg/L) y salinidad (ppm).

7.2 Concentración letal media (CL₅₀)

7.2.1 Cruza estándar (ST)

En el caso del primer muestréo (lluvias), los porcentajes de supervivencia obtenidos en la crusa estándar fueron entre 80-95%, siendo menor en la concentración de 100% de agua superficial. En el segundo muestréo los porcentajes de supervivencia estuvieron entre 86-97%, mientras que para el tercer muestréo la supervivencia estuvo en un rango de 93-95% (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentaje de sobrevivencia de la cruce estándar (machos *mwh* por hembras *flr³*) de *Drosophila melanogaster* de los tres muestreos de agua superficial y profunda en las concentraciones de 50 y 100% de la Presa “La Estanzuela”.

Cruza estándar (ST)		
PRIMER MUESTREO (lluvias; junio de 2017)		
	Concentración	Sobrevivencia (%)
superficial	100 %	80
	50 %	96
profunda	100 %	96
	50 %	95
SEGUNDO MUESTREO (secas; octubre de 2017)		
superficial	100 %	97
	50 %	93
profunda	100 %	86
	50 %	97
TERCER MUESTREO (lluvias; abril de 2018)		
superficial	100 %	95
	50 %	96
profunda	100 %	93
	50 %	94

7.2.2 Cruza de Alta Bioactivación (HB)

En el primer muestreo, el menor porcentaje de sobrevivencia fue de 95% en agua superficial al 50% y agua profunda al 100%. En el segundo muestreo, el porcentaje de sobrevivencia en la cruce de alta bioactivación estuvo en un intervalo entre el 87 y 95%. En el tercer muestreo, la sobrevivencia estuvo en un intervalo de 95-98% en todas las concentraciones de agua superficial y profunda (Tabla 14).

Tabla 14. Porcentaje de sobrevivencia de la crua de alta bioactivación (machos *mwh* por hembras *ORR-flr³*) de *Drosophila melanogaster* de los tres muestreos de agua superficial y profunda en las concentraciones de 50 y 100% de la Presa “La Estanzuela”.

Cruza de Alta Bioactivación (HB)		
PRIMER MUESTREO (lluvias; junio de 2017)		
	Concentración	Sobrevivencia (%)
superficial	100 %	98
	50 %	95
profunda	100 %	95
	50 %	100
SEGUNDO MUESTREO (secas; octubre de 2017)		
superficial	100 %	94
	50 %	90
profunda	100 %	95
	50 %	87
TERCER MUESTREO (lluvias; abril de 2018)		
superficial	100 %	96
	50 %	98
profunda	100 %	95
	50 %	98

Debido a que en ninguna de las concentraciones se registró un efecto citotóxico que resultara en una supervivencia inferior al 50%, se tomó la decisión de seguir empleando las concentraciones de 50 y 100% para evaluar la genotoxicidad de la Presa “La Estanzuela”. Por lo tanto, no fue posible establecer la Concentración Letal Media (CL₅₀)

7.3 Análisis estadístico del ensayo SMART en ala

7.3.1 Cruza Estándar (ST)

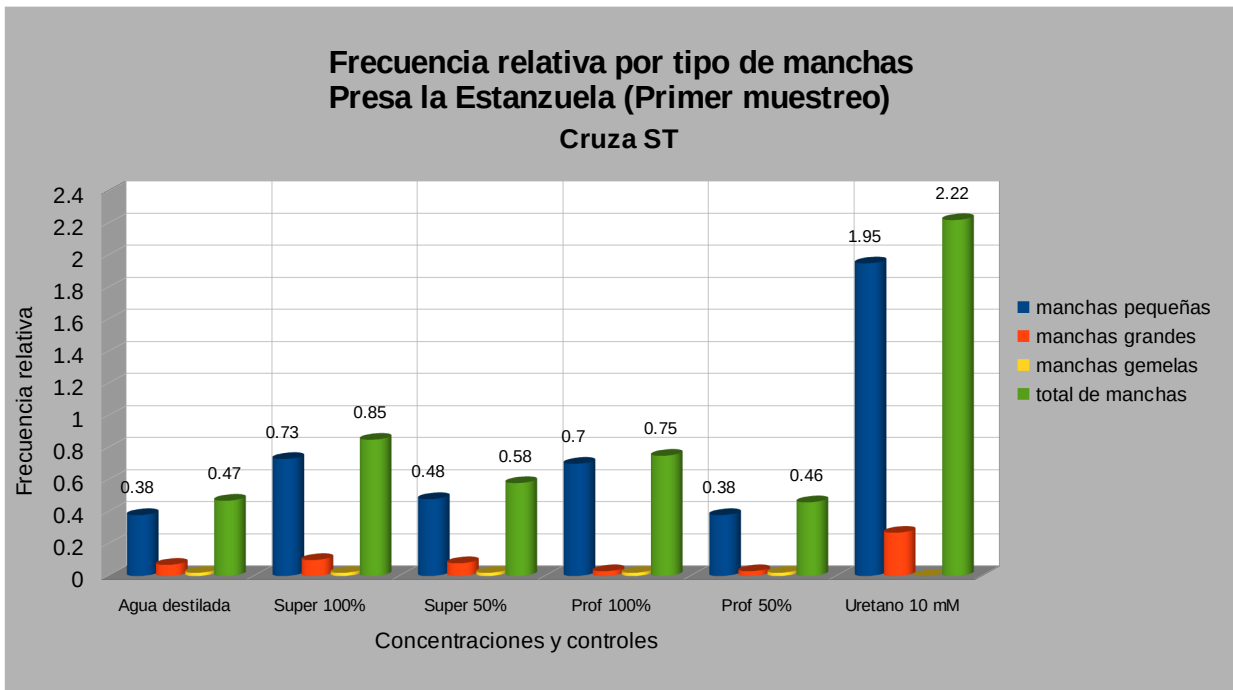
De las muestras del primer muestreo (lluvias), el análisis estadístico fue positivo en agua superficial y profunda al 100% con manchas pequeñas, mientras que con las concentraciones del 50% de agua superficial y profunda, el análisis fue negativo. En el caso de manchas grandes y gemelas, los resultados fueron negativos para todas las concentraciones. De igual

forma, en manchas totales los resultados fueron positivos en agua superficial y profunda al 100% (Tabla 15 y Gráfica 1).

Tabla 15. Análisis estadístico de la cruz estándar del primer muestreo (lluvias) realizado el 20 de junio de 2017.

Concentración y control	número de moscas	manchas pequeñas (1-2 células)	manchas grandes (> 2 células)	manchas gemelas	total manchas	media por ciclo de división celular
Agua destilada	60	0.38 (23)	0.07 (4)	0.02 (1)	0.47 (28)	1.96
uretano 10 mM	60	1.95 (117) +	0.27 (16) +	0.00 (0) -	2.22 (133) +	1.65
Superficial 100%	60	0.73 (44) +	0.10 (6)-	0.02 (1) -	0.85 (51) +	1.67
Superficial 50%	60	0.48 (29)-	0.08(5) -	0.02 (1) -	0.58 (35) -	1.74
Profunda 100%	60	0.70 (42) +	0.03 (2) -	0.02 (1) -	0.75 (45) +	1.51
Profunda 50%	60	0.38 (23)-	0.03(2)-	0.02 (1) -	0.46(23)-	1.42

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würigler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



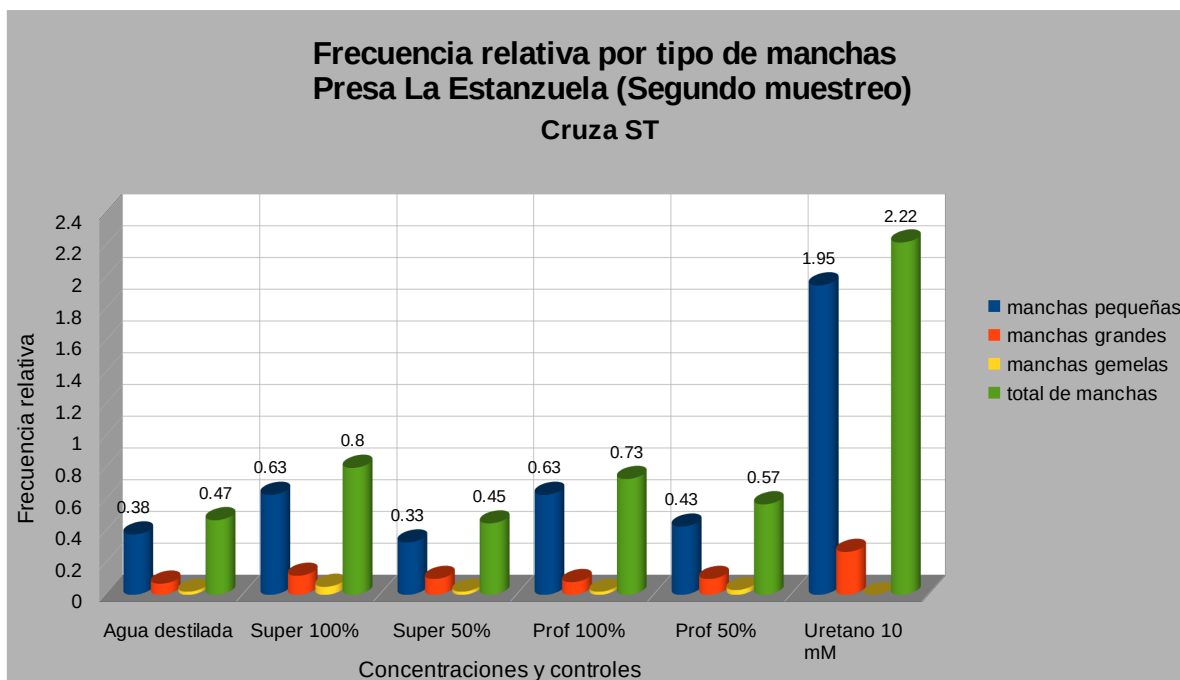
Gráfica 1. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa “La Estanzuela”, proveniente del Primer muestreo (lluvias) realizado en junio de 2017. Probado en la Cruza Estándar (ST) con concentraciones de 50 y 100% de agua superficial y profunda, usando agua destilada y uretano 10 mM como controles negativo y positivo, respectivamente.

En el caso del segundo muestreo, el análisis estadístico en la categoría de manchas pequeñas fue positivo en agua superficial y profunda al 100%. Por otro lado, en manchas pequeñas y gemelas los resultados fueron negativos en todas las concentraciones de agua superficial y profunda. En el caso de manchas totales, los resultados fueron positivos en agua superficial y profunda al 100% (Tabla 16 y Gráfica 2).

Tabla 16. Análisis estadístico de la cruz estándar (ST) del Segundo muestreo (secas) realizado el 27 de octubre de 2017.

Concentración y control	número de moscas	manchas pequeñas (1-2 células)	manchas grandes (> 2 células)	manchas gemelas	total de manchas	media ciclo división celular	por de
Agua destilada	60	0.38 (23)	0.07 (4)	0.02 (1)	0.47 (28)	1.96	
uretano 10 mM	60	1.95 (117) +	0.27 (16) +	0.00 (0) -	2.22(133) +	1.65	
superficial 100%	60	0.63 (38) +	0.12 (7) -	0.05 (3) -	0.80 (48) +	1.92	
superficial 50%	60	0.33(20) -	0.10 (6) -	0.02 (1) -	0.45 (27) -	2.19	
profunda 100%	60	0.63 (38) +	0.08 (5) -	0.02 (1) -	0.73 (44) +	1.68	
profunda 50%	60	0.43 (26) -	0.10 (6) -	0.03 (2) -	0.57(34) -	1.79	

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würzler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



Gráfica 2. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa la Estanzuela, proveniente del Segundo Muestreo (secas) realizado en octubre de 2017. Probado en la Cruza Estándar (ST) con concentraciones de 50% y 100% de agua superficial y profunda, usando Agua Destilada y Uretano 10 mM como controles negativo y positivo, respectivamente.

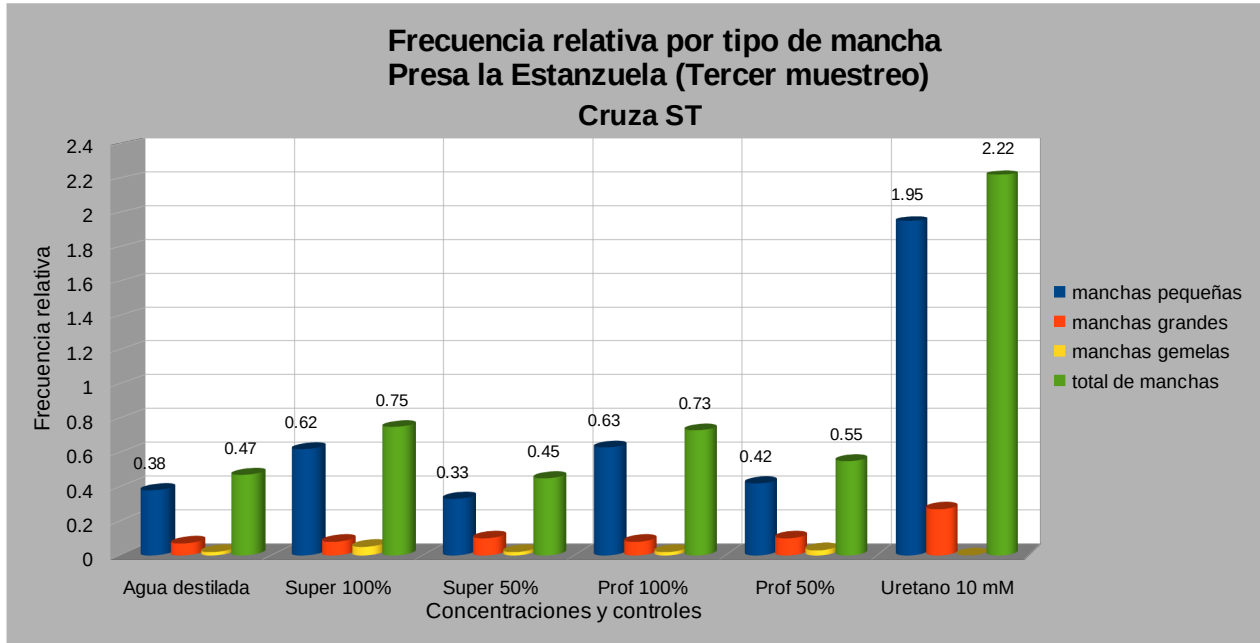
En el caso del tercer muestreo, el análisis estadístico para la categoría de manchas pequeñas fue positivo en agua superficial y profunda al 100%. En el caso de las categorías de manchas grandes y gemelas, los resultados fueron negativos en todas las concentraciones de agua superficial y profunda. Por último, para la categoría de total de manchas, los resultados fueron positivos en agua superficial y profunda al 100% (Tabla 17 y Gráfica 3).

Tabla 17. Cruza estándar (ST) de las muestras de agua del tercer muestreo (lluvias) realizado el 6 de abril de 2018.

Concentración y control	número de moscas	manchas pequeñas (1-2 células)	manchas grandes (>2 células)	manchas gemelas	total manchas	media ciclo de división celular	por de
Agua destilada	60	0.38 (23)	0.07 (4)	0.02 (1)	0.47 (28)	1.96	
uretano 10 mM	60	1.95 (117) +	0.27 (16) +	0.00 (0) -	2.22 (133) +	1.65	
superficial 100%	60	0.62 (37)+	0.08 (5) -	0.05 (3) -	0.75 (45) +	1.87	
superficial 50%	60	0.33 (20) -	0.10 (6) -	0.02 (1) -	0.45 (27) -	2.19	

profunda 100%	60	0.63 (38) +	0.08 (5) -	0.02 (1) -	0.73 (44) +	1.68
profunda 50%	60	0.42 (25) -	0.10 (6) -	0.03 (2) -	0.55 (33) -	1.82

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würgler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



Gráfica 3. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa la Estanzuela, proveniente del Tercer Muestreo (lluvias) realizado en abril de 2018. Probado en la Cruza Estándar (ST) con concentraciones de 50% y 100% de agua superficial y profunda, usando Agua Destilada y Uretano 10 mM como controles negativo y positivo, respectivamente.

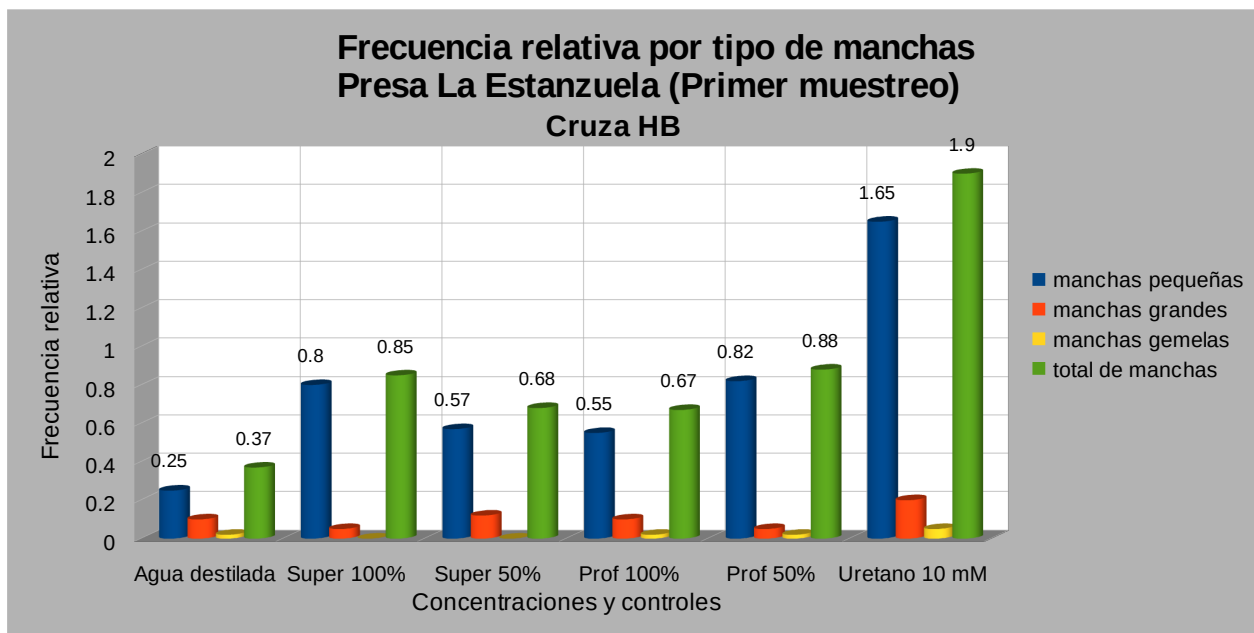
7.3.2 Cruza de Alta Bioactivación (HB)

En el primer muestreo el análisis estadístico se obtuvieron resultados positivos en la categoría de manchas pequeñas en todas las concentraciones de agua superficial y profunda. En la categoría de manchas grandes y gemelas, los resultados fueron negativos en todas las concentraciones. Finalmente, para el caso de total de manchas, los resultados fueron positivos en todas las concentraciones de agua superficial y profunda (Tabla 18 y Gráfica 4).

Tabla 18. Análisis estadístico de la cruz de alta bioactivación (HB) del primer muestreo (lluvias) realizado el 20 de junio de 2017.

Concentración y control	Número de moscas	Manchas pequeñas (1-2 células)	Manchas grandes (>2 células)	Manchas gemelas	Total de manchas	Media de ciclo por división celular
Agua destilada	60	0.25 (15)	0.10 (6)	0.02 (1)	0.37 (22)	1.95
Uretano 10 mM	60	1.65 (99) +	0.20 (12)	0.05 (3)	1.90 (114) +	1.69
Superficial 100%	60	0.80 (48) +	0.05 (3) -	0.00 (0) -	0.85 (51) +	1.50
Superficial 50%	60	0.57 (34) +	0.12 (7) -	0.00 (0) -	0.68 (41) +	1.76
Profunda 100%	60	0.55 (33) +	0.10 (6) -	0.02 (1) -	0.67 (40) +	1.92
Profunda 50%	60	0.82 (49) +	0.05 (3) -	0.02 (1) -	0.88 (53) +	1.53

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würzler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



Gráfica 4. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa "La Estanzuela", proveniente del Primer Muestreo (lluvias) realizado en junio de 2017. Probado en la Cruz de Alta Bioactivación (HB) con concentraciones de 50% y 100% de agua superficial y profunda, usando Agua Destilada y Uretano 10 mM como controles negativo y positivo respectivamente.

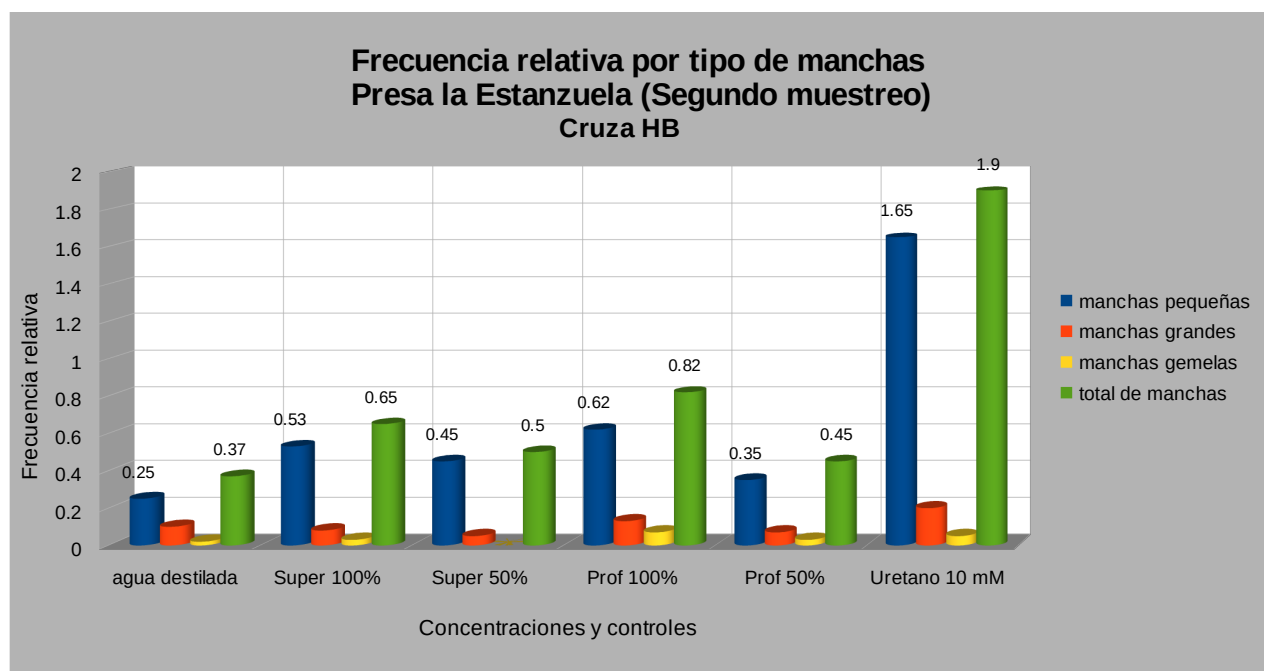
En el caso del segundo muestreo, en la categoría de manchas pequeñas, el análisis estadístico fue positivo en agua superficial al 50 y 100%, y en agua profunda al 100%. En el caso de manchas grandes y gemelas, los resultados fueron negativos en todas las

concentraciones. Respecto a la categoría de total de manchas, los resultados fueron positivos en las concentraciones de 100% de agua superficial y profunda (Tabla 19 y Gráfica 5).

Tabla 19. Análisis estadístico de la cruz de Alta Bioactivación (HB) del segundo muestreo (secas) realizado el 27 de octubre de 2017.

Concentración y control	Número de moscas	manchas pequeñas (1-2 células)	manchas grandes (> 2 células)	manchas gemelas	total de manchas	media por ciclo división celular
Agua destilada	60	0.25 (15)	0.10 (6)	0.02 (1)	0.37 (22)	1.95
Uretano 10 mM	60	1.65 (99) +	0.20 (12)	0.05 (3)	1.90 (114) +	1.69
Superficial 100%	60	0.53 (32) +	0.08 (5) -	0.03 (2) -	0.65 (39) +	1.90
Superficial 50%	60	0.45 (27) +	0.05 (3) -	0.00 (0)	0.50 (30) -	1.57
Profunda 100%	60	0.62 (37) +	0.13 (8) -	0.07 (4) -	0.82 (49) +	2.02
Profunda 50%	60	0.35(21) -	0.07 (4) -	0.03 (2) -	0.45 (27) -	1.96

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würgler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



Gráfica 5. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa la Estanzuela, proveniente del Segundo Muestreo (secas) realizado en octubre de 2017. Probado en la Cruza de Alta Bioactivación (HB) con concentraciones de 50% y 100% de agua superficial y profunda, usando Agua Destilada y Uretano 10 mM como controles

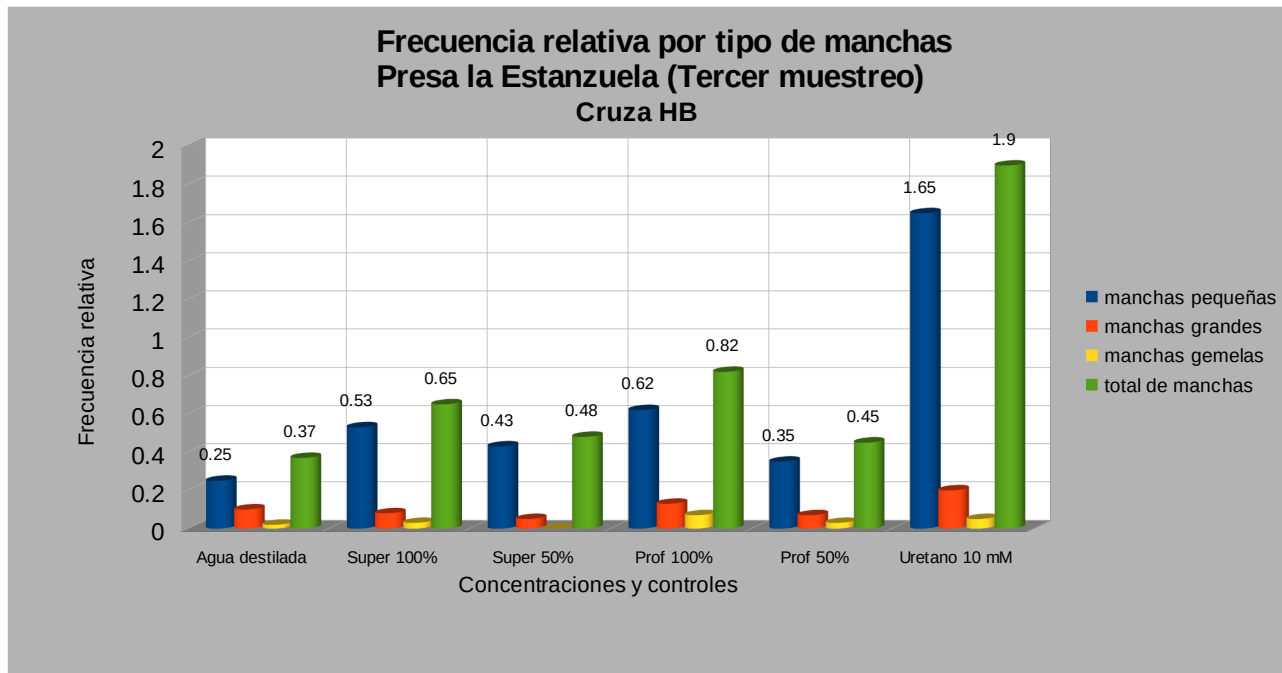
negativo y positivo respectivamente.

En el caso del tercer muestreo, el análisis estadístico fue positivo en la categoría de manchas pequeñas en agua superficial y profunda al 100%. En el caso de manchas grandes y gemelas, los resultados fueron negativos en todas las concentraciones. Al igual que en manchas pequeñas, para la categoría de manchas totales, el análisis fue positivo en agua superficial y profunda al 100% (Tabla 20 y Gráfica 6).

Tabla 20: Análisis estadístico de la cruza de alta bioactivación (HB) del tercer muestreo (lluvias) realizado el 6 de abril de 2018.

Concentración y control	número de moscas	manchas pequeñas (1-2 células)	manchas grandes (> 2 células)	manchas gemelas	total de manchas	media por ciclo de división celular
Agua destilada	60	0.25 (15)	0.10 (6)	0.02 (1)	0.37 (22)	1.95
uretano 10 mM	60	1.65 (99) +	0.20 (12)-	0.05 (3) -	1.90 (114) +	1.69
Superficial 100%	60	0.53 (32) +	0.08 (5) -	0.03 (2) -	0.65 (39)+	1.90
Superficial 50%	60	0.43 (26) -	0.05 (3) -	0.00 (0)	0.48 (29)-	1.59
Profunda 100%	60	0.62 (37) +	0.13 (8) -	0.07 (4) -	0.82 (49)+	2.02
Profunda 50%	60	0.35 (21)-	0.07 (4)-	0.03 (2) -	0.45 (27) -	1.96

Diagnóstico estadístico/Análisis estadístico de acuerdo a Frei y Würigler (1988): (+) positivo, (-) negativo, (i) inconcluyente. Nivel de probabilidad $\alpha=0.05$.



Gráfica 6. Frecuencia relativa por tipo de manchas (pequeñas, grandes, gemelas y manchas totales) encontradas en el agua de la Presa la Estanzuela, proveniente del Tercer muestreo (lluvias) realizado en abril de 2018. Probado en la Cruza de Alta Bioactivación (HB) con concentraciones de 50% y 100% de agua superficial y profunda, usando Agua Destilada y Uretano 10 mM como controles negativo y positivo, respectivamente.

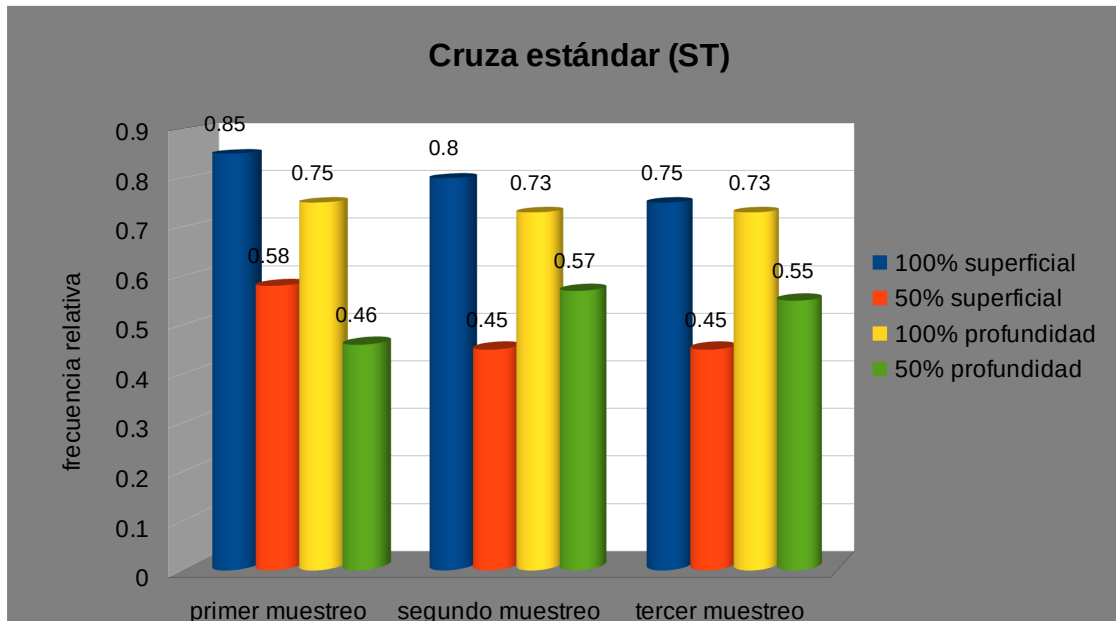
Resumiendo lo anterior, para el caso de la Cruza Estándar, los resultados fueron positivos en los tres muestreos para agua superficial y profunda en la concentración de 100%. En cambio, en la concentración de 50% los resultados fueron negativos en los tres muestreos. Para el caso de la cruza de Alta Bioactivación, sólo en el primer muestreo el análisis estadístico fue positivo en todas las concentraciones de agua superficial y profunda. En el segundo y tercer muestreo, los resultados fueron positivos solo en la concentración de 100% de agua superficial y profunda (Tabla 21 y gráficas 7 y 8)

Tabla 21. Análisis estadístico del Ensayo SMART en los tres muestreos de la Cruza Estándar (ST) y la Cruza de Alta Bioactivación (HB).

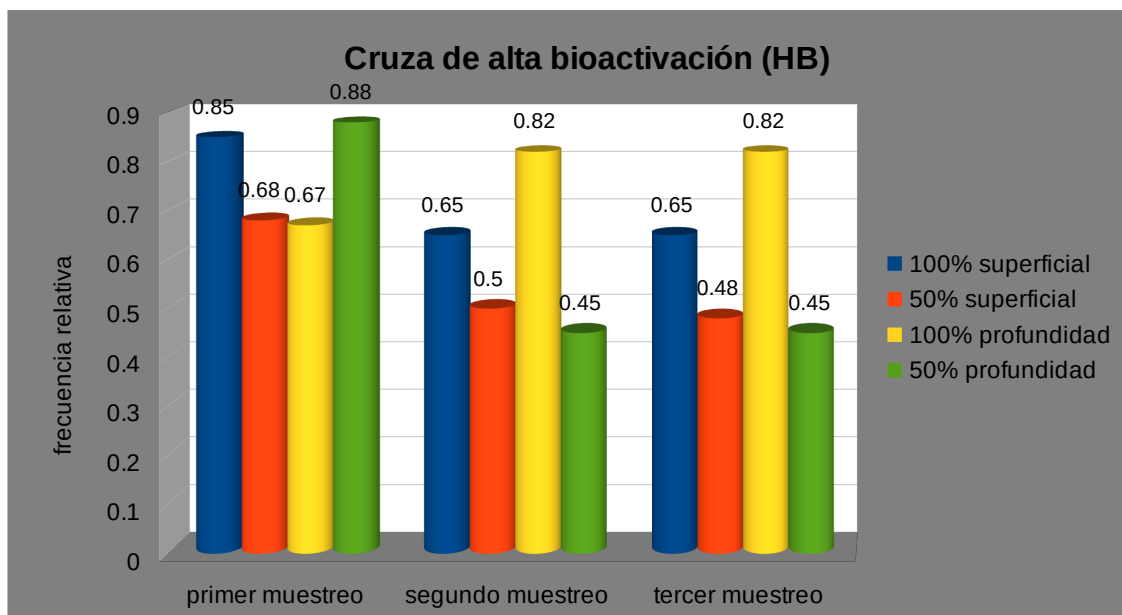
	1° muestreo (lluvias)	2° muestreo (secas)	3° muestreo (lluvias)
Cruza Estándar (ST)			
Superficial 100%	+	+	+
Superficial 50%	-	-	-
Profundidad 100%	+	+	+
Profundidad 50%	-	-	-
Cruza de Alta Bioactivación (HB)			
Superficial 100%	+	+	+
Superficial 50%	+	-	-
Profundidad 100%	+	+	+
Profundidad 50%	+	-	-

+:positivo

-:negativo



Gráfica 7. Frecuencia relativa del total de manchas observadas en el análisis estadístico del ensayo SMART para la cruza estándar (ST) de los tres muestreos de la Presa "la Estanzuela" de agua superficial y profunda al 100 y 50%.



Gráfica 8. Frecuencia relativa del total de manchas observadas en el análisis estadístico del ensayo SMART para la cruza de alta bioactivación (HB) de los tres muestreos de la Presa “la Estanzuela” de agua superficial y profunda al 100 y 50%.

7.4 Análisis químico de las muestras de agua

Además del análisis químico que se realizó en las muestras de agua, se obtuvieron datos de algunos parámetros físicoquímicos (Tabla 22).

Tabla 22. Datos de los parámetros físicoquímicos registrados con las muestras que fueron sometidas al análisis químico.

Profundidad	pH	Temperatura (C°)	Conductividad (µS)	SDT* (ppm)	OD** (mg/L)
30 cm	5.67	11.12	183-135	92	8.33
30 cm	5.33	10.48	181- 131	90	8.90
Promedio	5.5	10.8	182- 133	91	8.62
70 cm	5.29	10.18	182- 131	91	8.67
70 cm	5.19	11.37	180-133	90	7.57
Promedio	5.24	10.78	181- 132	90.5	8.12

*Sólidos disueltos totales

**Oxígeno disuelto

En las muestras de agua superficial (30 cm) y profunda (70 cm) de la Presa “La Estanzuela” que fueron medidas con un fotómetro se detectó la presencia de aluminio, níquel, cromo y cobre, donde solo el aluminio y el cobre fue detectado en agua superficial y profunda (Tabla 23).

Tabla 23. Concentraciones de metales encontradas en el análisis químico de las muestras de agua provenientes de las Presa “La Estanzuela”

Profundidad	Ortofosfatos	NH ₃ * (mg/L)	Al* (mg/L)	Zn* (mg/L)	Ni* (mg/L)	Cr* (mg/L)	Cu* (mg/L)
30 cm	2.1	0.43	ND	ND	ND	0.01	ND
30 cm	1.4	0.47	0.35	ND	ND	ND	0.225
70 cm	1.2	ND	0.32	ND	0.01	0.01	0.91
70cm	1.1	0.48	0.31	ND	ND	ND	0.87

*NH₃: Amoniaco, Al: Aluminio, Zn: Zinc, Ni: Níquel, Cr: Cromo, Cu: Cobre

ND=No detectado

De acuerdo a los datos encontrados, se hizo una tabla comparativa de las concentraciones de metales detectadas en las muestras de agua y de los límites máximos permisibles que se encuentran incluidos en el Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 y la NOM -127-SSA1-1994 (Tabla 24).

Tabla 24. Comparación entre las concentraciones de metales detectadas en las muestras de agua de la Presa “La Estanzuela” de agua superficial (30 cm) y profunda (70 cm) y los límites máximos permisibles de acuerdo a la NOM -127-SSA1-1994 y la PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017.

Metales (mg/L)	Profundidad de muestras de agua				NOM-127-SSA1-1994	PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017
	30 cm	30 cm	70 cm	70 cm		
Aluminio	ND	0.35	0.32	0.31	0.2	
Níquel	ND*	ND*	0.01	ND*		4
Cromo	0.01	ND*	0.01	ND*	0.05	1.5
Cobre	ND*	0.225	0.91	0.87	2	6

ND:no detectado

8. DISCUSIÓN

Como ya se mencionó, la Presa “La Estanzuela” es un cuerpo de agua que abastece a las colonias altas de Pachuca y Mineral del Chico, del cual (Álvarez *et al.*, 2008) se ha reportado que hay presencia de metales que pueden ser nocivos para la salud. En este trabajo se usó el Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en alas de *Drosophila melanogaster* para determinar si las muestras de agua de la Presa “La Estanzuela” tenían un efecto genotóxico sobre este organismo. Para ello se realizaron tres muestreos en diferentes épocas del año y se tomaron muestras de agua superficial y profunda. También se realizó un análisis químico de las muestras de agua para detectar la presencia de metales.

8.1 Parámetros físicoquímicos

Respecto a los parámetros físicoquímicos que se tomaron durante los muestreos, estos fueron muy similares entre los tres muestreos a pesar de ser tomados en distintas estaciones del año. Algunos de estos parámetros se encuentran incluidos dentro de la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos que debe someterse el agua para su potabilización” y dentro de la PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 “Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales”. De acuerdo a los niveles de pH, los tres muestreos sobrepasan el límite establecido por la PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017, cuyo valor de pH óptimo se encuentra en un rango de 6.5-8.5 unidades, en los tres muestreos los valores de pH fueron mayores a 8.5, es decir, que es más alcalina y puede deberse a que en el agua se encuentre una gran concentración de minerales disueltos (Sigler y Baudler, 2012). Sin embargo, para las muestras de agua que fueron sometidas al análisis químico los valores estuvieron en un rango de 5.19-5.67.

Respecto a los valores de SDT (sólidos disueltos totales), estos están dentro del límite máximo permisible (500 mg/L). En el caso del Oxígeno Disuelto, estos están dentro del rango normal a excepción del valor obtenido del primer muestreo de agua superficial, donde el valor fue de 15.50 mg/L, que ya se considera sobresaturado. Sin embargo, la cantidad de oxígeno disuelto está relacionada con la temperatura y la hora del día en que este parámetro es medido (Goyenola, 2007).

8.2 Concentración Letal Media (CL₅₀)

La concentración letal media (CL₅₀) se puede definir como la concentración de un compuesto a probar en el cual el 50% de una población muere. En este caso, en ninguna de las concentraciones probadas se observó un porcentaje de sobrevivencia igual o menor al 50%, por lo tanto no fue posible establecer la CL₅₀. Esto significa que el agua de la presa no induce un efecto tóxico letal en *Drosophila melanogaster*.

8.3 Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en ala

El ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en ala ya ha sido usado para determinar si ciertos cuerpos de agua provocan daño genotóxico en *Drosophila melanogaster*. Además, este ensayo es capaz de detectar compuestos genotóxicos estables e inestables que se encuentran disueltos en agua o aire (Graf *et al.*, 1984).

En este trabajo se observó un efecto genotóxico en las muestras de agua de la Presa “La Estanzuela” en las concentraciones de 100% de agua superficial y profunda en los tres muestreos tanto en la cruce estándar (ST) como en la cruce de alta bioactivación (HB) (tabla 21). No influyó la época en que se tomó el muestreo del agua en la genotoxicidad de los compuestos presentes, resultados similares fueron descritos en los trabajos de Do Amaral *et al.* 2006. donde también se encontraron resultados similares entre los muestreos realizados en diferentes meses del año.

En un trabajo realizado por Moraes *et al.* (2007) en donde se usó el ensayo SMART para evaluar la genotoxicidad de agua superficial y profunda del Río Japarutuba (Brasil) el ensayo fue positivo en ambas cruces en el primer muestreo durante la temporada seca, mientras que en el segundo muestreo (lluvias) sólo fue positivo en la cruce estándar además de que la frecuencia de manchas fue menor en el segundo muestreo. Aquí el resultado respecto a las diferencias en la genotoxicidad en la temporada de lluvias y secas se atribuyó a que la lluvia podría diluir las genotóxicas vertidas en el río. En este trabajo no ocurrió de esa forma y puede atribuirse estos resultados a que el agua de lluvias de los dos muestreos realizados no es capaz de diluir los compuestos presentes en la presa “La Estanzuela”. Otra hipótesis para estos resultados puede ser debido a que el agua de la presa se encuentra contenida en un espacio específico donde no desemboca hacia otros ríos ni hay algún otro movimiento que contribuya a la dilución de compuestos vertidos.

Respecto a los resultados obtenidos en la Cruce Estándar (ST), es importante recordar que esta cruce tiene niveles basales de citocromos P450. En este trabajo se observó la

aparición de manchas que de acuerdo al análisis estadístico fue positivo en agua superficial y profunda al 100%. Esto quiere decir que en condiciones normales para *D. melanogaster*, el agua de la Presa “La Estanzuela” es genotóxica y provoca daño al DNA. Además debido a las características de esta crua, nos indica que los compuestos presentes en la Presa “La Estanzuela” son de acción directa.

Por otra parte, en el caso de la Cruza de Alta Bioactivación (HB), esta crua presenta características metabólicas que le permiten ser más sensible en la detección de mutágenos que requieren ser bioactivados por los citocromos P450 debido a una sobreexpresión de la enzima CYP6A2, se ha observado que la crua de Alta Bioactivación es más sensible a la detección de compuestos que actúan de forma indirecta, es decir, que requieren de activación metabólica (Graf y Singer, 1992), cuando se observa una mayor genotoxicidad en la crua HB se puede hablar de que el compuesto requiere de una activación metabólica para ejercer sus compuestos. En este trabajo se observó que no hubo un incremento en la genotoxicidad de la crua de alta bioactivación con respecto a la crua estándar, es decir, que los compuestos presentes en el agua de la presa “la Estanzuela” no requieren una activación metabólica por los citocromos P450 para ejercer su genotoxicidad sobre *D. melanogaster*.

En este trabajo se usó Uretano como control positivo, este es un compuesto que ha sido usado en varios estudios sobre genotoxicidad de cuerpos de agua (Moraes *et al*, 2007; Pimenta *et al*, 2008), ya ha sido probado en el ensayo SMART en *D. melanogaster* donde demostró su capacidad para inducir manchas en la crua estándar y la de alta bioactivación (Graf y van Schaik, 1992) además de ser conocidos sus efectos, es un compuesto que produce especies reactivas de oxígeno y daño al DNA (Choi, *et al*, 1996). Esto quedó demostrado en la frecuencia alta de manchas que se observó en este trabajo en la crua estándar y la de alta bioactivación.

En un trabajo realizado por Pimenta *et al*, (2008) se encontraron concentraciones de Cromo en varios de los sitios muestreados del Río Paraguay cerca de Cáceres en Matto Grosso, Brasil. Los autores indican que el perímetro cercano a la zona urbana está contaminado. Para el caso de la Presa “La Estanzuela”, en periódicos nacionales y medios locales se ha reportado la aparición de peces muertos en la Presa atribuyendo la causa a contaminación por aguas residuales que se vierten en la zona (Anónimo en el El Sol de Hidalgo, 2019); incluyendo contaminación por nitrito de plata (Mota 2012 en El Universal). En octubre de 2018 se publicó otro artículo asegurando que las dependencias del gobierno se

reunieron para llegar a un acuerdo respecto a la forma de mitigar la situación ambiental de la zona (Anónimo en Criterio, 2018).

Do Amaral *et al.* (2006) encontraron resultados positivos en el ensayo SMART realizado con agua superficial proveniente de la Región Hidrográfica Guaíba en Rio Grande do Sul Brasil, una zona que se encuentra bajo influencia industrial, urbana y agrícola. De acuerdo a la frecuencia de manchas encontradas, los resultados sugieren contaminación con agentes tóxicos de acción directa, indirecta y recombinogénica. Por otro lado, los resultados de la Presa “La Estanzuela”, no sugieren que el agua esté contaminada con agentes capaces de inducir recombinación en *D. melanogaster*, ya que la frecuencia de manchas gemelas es pequeña y no significativa en los tres muestreos y en las cruzas Estándar y de Alta Bioactivación.

El tipo de mancha encontrado en mayor frecuencia en un ensayo SMART arroja información sobre las propiedades de daño genotóxico que tiene el compuesto probado. Una mayor frecuencia de manchas pequeñas nos dice que el daño se produjo durante los últimos momentos de división celular de la larva de tercer estadio, por otro lado, un incremento en las manchas grandes quiere decir que el compuesto produjo el daño en los discos imaginales durante los primeros momentos de la división mitótica de la larva (Graf *et al.*, 1984). En este trabajo, el análisis estadístico fue positivo para la categoría de manchas pequeñas en los tres muestreos y en la cruza Estándar (ST) y de Alta Bioactivación (HB), de modo que el agua de la Presa “La Estanzuela” indujo el daño al DNA durante los últimos ciclos de división celular de la larva de tercer estadio de *D. melanogaster*.

8.4 Análisis químico

En este trabajo se detectó la presencia de aluminio, níquel, cromo y cobre en las muestras de agua superficial y profunda de la Presa “La Estanzuela”. El cobre se encuentra en una mayor cantidad que los otros, aunque de acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994 y la PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 no sobrepasa el límite máximo permisible. Por otro lado, el aluminio, que se encontró en concentraciones de 0.31, 0.32 y 0.35 mg/L está por encima del límite establecido por la NOM-127-SSA1-1994 que es de 0.2 mg/L (Tabla 24).

De los metales detectados en las muestras de agua, algunos ya han sido probados en el ensayo SMART por otros autores. En un trabajo realizado por Ogawa *et al.* (1994), se observó que el cloruro de níquel fue positivo en el ensayo SMART a una concentración de 12 mM. El nitrato de cromo y de níquel también fueron probados en un trabajo realizado por Yeşilada

(2001), en las concentraciones de 1 y 10 mM. Para el caso del nitrato de cromo, este no fue genotóxico en esas concentraciones, sin embargo, el nitrato de níquel fue capaz de aumentar la frecuencia de mutaciones en el ensayo SMART. Para el caso del aluminio, no se ha reportado que haya sido probado en el ensayo SMART, pero se han realizado otros estudios con diferentes modelos experimentales que arrojan información acerca de su mecanismo de acción. Se ha reportado que obstaculiza muchos procesos metabólicos como el recambio de calcio, fósforo y hierro. Además, es capaz de unirse al DNA, al RNA e inhibir enzimas como fosfatasas y fosfodiesterasas (Ochmański, y Barabasz, 2000). En el caso del cobre, donde se encontraron concentraciones de 0.225, 0.87 y 0.91 mg/L en las muestras de agua (Tabla 24), no se encontraron reportes sobre su potencial genotóxico en células del ala en el ensayo SMART, sin embargo, también son variados los estudios sobre su toxicidad y mecanismos de acción. Se han realizado estudios *in vitro* y de cultivo celular donde se ha observado que el cobre tiene la capacidad de inducir estrés oxidativo e interferir con eventos celulares importantes (Gaetke y Chow, 2003).

Los resultados aquí reportados indican que hay una relación entre los contaminantes vertidos en el agua de la Presa “La Estanzuela” y la capacidad de inducir mutaciones en *D. melanogaster*. En este trabajo se observó que los compuestos presentes en las muestras de agua son capaces de aumentar la frecuencia de manchas pequeñas en las cruces estándar (ST) y de alta bioactivación (HB). Resultados similares han sido reportados en otros trabajos donde también se detectó la presencia de metales en muestras de agua (Do Amaral *et al.*, 2005; Moraes *et al.*, 2007; Pimenta *et al.*, 2008).

Son diversos los estudios que se han realizado para determinar el daño de los metales en los organismos, probando diferentes concentraciones, organismos y modelos *in vivo* e *in vitro*. Por ello es bien sabido que en altas concentraciones son nocivos para las enzimas de los seres vivos (Askin e Incekara, 2010). También se han hecho estudios sobre la toxicidad de metales y su capacidad para formar especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS). Además, se ha observado que la formación de radicales libres mediada por metales causa modificaciones en las bases del DNA (Valko *et al.*, 2005).

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede afirmar que la Presa “la Estanzuela” contiene compuestos que son capaces de provocar daño genotóxico sobre los organismos y que algunos metales presentes en este cuerpo de agua son los responsables de la toxicidad de este cuerpo de agua. Los resultados expuestos en este

trabajo apoyan esta teoría. Sin embargo, se sugiere la realización de estudios más precisos para determinar el alcance del daño que pueden tener estos compuestos.

9. CONCLUSIONES

Los resultados observados en este trabajo indican que el agua proveniente de los tres muestreos la presa “La Estanzuela” fue genotóxica en el Ensayo de Mutación y Recombinación Somática (SMART) en *D. melanogaster* en las concentraciones de 100% de agua superficial y profunda. El agua contiene compuestos químicos que pudieron incidir en el aumento de la frecuencia de manchas en las alas de *D. melanogaster* mediante el ensayo SMART.

Se determinó que no existen diferencias entre el potencial genotóxico en agua superficial y agua profunda; y tampoco se presentaron diferencias en la frecuencia de manchas entre las temporadas de lluvias y secas. De acuerdo a los resultados obtenidos en la cruce Estándar (ST) y de Alta Bioactivación (HB), los compuestos presentes en el agua no dependen de una activación metabólica en *D. melanogaster* para provocar el daño genotóxico. El agua contiene compuestos químicos que pudieron incidir en el aumento de la frecuencia de manchas

Respecto al análisis químico, se observó que las muestras de agua contienen concentraciones de algunos metales como aluminio, níquel, cromo y cobre; de los que se ha reportado que provocan daño al DNA y pueden ser algunos de los causantes de la genotoxicidad del agua de la Presa “La Estanzuela”. Por último, se requiere el uso de técnicas más precisas para poder establecer el alcance del daño que pueden estar provocando los compuestos en la Presa “La Estanzuela”.

10. REFERENCIAS

-Álvarez, J., Rubiños, P. E., Gavi, R. F., Alárcon, C. J. J., Hernández, A. E., Ramírez, A.C., Mejía, S. E., Pedrero, S. F., Nicolas, N. E., Salazar, S. E. (2006). Índice de calidad del agua en la cuenca del Río Amajac, Hidalgo, México: Diagnóstico y Predicción. 75:71-83 *Phyton* (Buenos Aires).

-Álvarez, J., Panta, J., Ayala, C., Acosta, E., (2008). Calidad integral del agua superficial en la Cuenca Hidrológica del Río Amajac. *Información tecnológica*. 19(6): 21-32.

-do Amaral, V. S., da Silva, R. M., Reguly, M. L., y de Andrade, H. H. R. (2005). *Drosophila* wing-spot test for genotoxic assessment of pollutants in water samples from urban and industrial origin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 583(1): 67-74.

-Anónimo (7 de octubre de 2018). Autoridades atienden situación ambiental en la Presa La Estanzuela. *Criterio*. Recuperado de: <https://criteriohidalgo.com/noticias/autoridades-atienden-situacion-ambiental-en-la-presa-la-estanzuela>. Fecha de consulta: octubre de 2019.

-Anónimo (12 de mayo de 2019). Mueren los peces en la Estanzuela. *El Sol de Hidalgo*. Recuperado de: <https://www.elsoldehidalgo.com.mx/local/regional/video-mueren-los-peces-en-la-estanzuela-3611360.html>. Fecha de consulta: octubre de 2019.

-Askin, H., e Incekara, U. (2010). The study of the genotoxic effect of the Karasu River surface water containing local fat plant waste water on the *Drosophila melanogaster* using the wing somatic mutation and recombination test (SMART). *Ekoloji*, 19(74): 45-50.

-Blodgett, R., (2010). Laboratory Methods (Food): BAM Appendix 2: Most probable number from Serial Dilutions. U. S. Food & Drug Administration. Consultado en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions>. Fecha de consulta: 5 de noviembre de 2019.

-Carballo-Ontiveros, M. A., (2010). Evaluación del potencial genotóxico de diversos extractos de *Tecoma stans* en las células somáticas de *Drosophila melanogaster*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. de México.

-Comisión Nacional del Agua, (2018). Atlas del Agua en México. Edición 2018. Consultado en: https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2019/04/AAM_2018.pdf. Fecha de consulta: mayo de 2019

-Comisión Nacional del Agua. (2018). Sistema Nacional de Información del Agua. Consultado en: <http://sina.conagua.gob.mx/sina/index.php>. Fecha de consulta: mayo de 2019.

-Choi, W. N., Mandakas, G., y Paradisin, W. (1996). Co-administration of ethanol transiently inhibits urethane genotoxicity as detected by a kinetic study of micronuclei induction in mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 367(4): 237-244.

-de Santana, S. L., Verçosa, C. J., de Araújo Castro, Í. F., de Amorim, É. M., da Silva, A. S., da

Rocha Bastos, T. M., da Silva Neto, L.J., dos Santos, T. O., De Franca, E. J. y Rohde, C. (2018). *Drosophila melanogaster* as model organism for monitoring and analyzing genotoxicity associated with city air pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(32): 32409-32417.

-Do Amaral, V. S., Sinigaglia, M., Reguly, M. L., Rodrigues de Andrade, H. H. (2006). Genetic toxicity in surface water from Guaíba Hydrographic Region under the influence of industrial, urban and agricultural sewage in the *Drosophila* Wing-Spot Test. *Environmental Pollution*. 139:469- 476.

-Encinas, M. M. D. (2011). Medio Ambiente y Contaminación. Principios básicos. Consultado en: <https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/16784/Medio%20Ambiente%20%20Contaminaci%C3%B3n.%20Principios%20b%C3%A1sicos.pdfsequence=6&isAllowed=y>. Fecha de consulta: 5 de noviembre de 2019.

-Fent, K. 2003. Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. *Toxicol. Lett.* 140: 353–365.

-Frei, H. y F. E. Würigler. (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutation Research*, 203(4): 297-308.

-Gaetke, L. M., y Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1-2): 147-163.

-Graf U., Würigler F. E., Katz, A. J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B. y Kale, P.G. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental mutagenesis*, 6(2): 153-188.

-Graf U. y van Shaik, N. (1992). Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/ Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 271(1): 59-67.

-Graf, U. y Singer, D.(1992). Genotoxicity testing of promutagens in the wing of somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 8(1): 15-27

-Goyenola, G. (2007). Guía para la utilización de las Valijas Viajeras. Red de Monitoreo Ambiental Participativo de Sistemas Acuáticos. Disponible en: http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/OD.pdf. Fecha de consulta: 5 de febrero de 2020.

-Guengerich FP, Waterman MR, Egli M. (2016). Recent structural insights into cytochrome P450 function. *Trends in Pharmacological Science*, 37(8): 625-40.

-Hill, H. A. O., Röder, A., y Williams, R. J. P. (1970). The chemical nature and reactivity of cytochrome P-450. In *Biochemistry*. Springer, (pp. 123-151). Berlin, Heidelberg.

-Hoffman, D.J., Ratter, B. A., Allen, B. G., Cairns, J., (2002). *Handbook of ecotoxicology*. Segunda edición. Lewis Publishers. United States.

-Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2017 / Instituto Nacional de Estadística y Geografía.-- México : INEGI, c2017. Consultado en: http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825095093.pdf. Fecha de consulta: octubre de 2019.

-Klaassen, C. D. y Watkins III, J. B., (2001) Manual de Toxicología. Quinta edición. Mc Graw Hill Interamericana. México.

-Klug W.S., Cummings M.R., Spencer C.A., Palladino M.A. (2006) Conceptos de genética. Pearson Education S.A.

-Marcos, R., Sierra, L. M., y Gaivão, I. (2014). The SMART assays of *Drosophila*: wings and eyes as target tissues. In Genotoxicity and DNA Repair. (pp. 283-295). Humana Press, New York, NY.

-Meigen, J. W. (1830). Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. Schulz-Wundermann, 6(1), 85. Consultado en: <https://www.webcitation.org/5nDbhU1QX?url=https://dlib.stanford.edu:6521/text1/dd-ill/insekten6.pdf>. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2018

-Moraes Pantaleão, S. D., Alcântara, A. V., Hora Alves, J. D. P., Pavanin, L. A., Graf, U., de Rezendes, A. A. A., Valadares, Fragiorge, E.J., de Souza, N. C., Guterres, Z.R. y B.L.B, Spanó, M. A., (2007). Assessing the impact of pollution on the Japarutuba river in Brazil using the *Drosophila* wing spot test. Environmental and molecular mutagenesis, 48(2): 96-105.

-Mota, D. (29 de octubre de 2012). Detectan químicos en presa de Hidalgo. El Universal. Recuperado de: <https://archivo.eluniversal.com.mx/estados/88433.html>. Fecha de consulta: Noviembre de 2019.

-Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Consultado en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html> Fecha de consulta: 13 de febrero de 2020

-Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017. Consultado en: <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2018/02/Proyecto-de-Modificacion-NOM-001-SEMARNAT-1996-13Dic2017.pdf> fecha de consulta: abril de 2020.

-Ogawa, H. I., Shibahara, T., Iwata, H., Okada, T., Tsuruta, S., Kakimoto, K., Sakata, K., Kato, Y., Ryo, H., Itoh, H. y Fujikawa, K. (1994). Genotoxic activities *in vivo* of cobaltous chloride and other metal chlorides as assayed in the *Drosophila* wing spot test. Mutation Research/Genetic Toxicology, 320(1-2): 133-140.

-Ochmański, W., & Barabasz, W. (2000). Aluminum-occurrence and toxicity for organisms. Przegląd lekarski, 57(11): 665-668.

-Ong, C., Yung, L. Y. L., Cai, Y., Bay, B. H., y Baeg, G. H. (2015). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. Nanotoxicology, 9(3): 396-403.

- Piceno, M.M. (2016). Identificación de microorganismos de agua dulce con énfasis en importancia sanitaria en la Presa la Estanzuela y la Central Hidroeléctrica Ing. Fernando Hiriart Balderrama, HGO. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Mineral de la Reforma, Hidalgo.
- Pimenta, V. M. S. D., Nepomuceno, J. C., y Pavanin, L. A. (2008). Genotoxicity of water from the Paraguay River near Cáceres–MT, Brazil in the *Drosophila* wing-spot test. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49(6): 458-466.
- Ravi, K. R. y Kar, D. (2014), Chapter 1 *Drosophila*: A Model for Biotechnologists. En A. S. Verma y A. Singh (Eds.), *Animal Biotechnology*. (pp. 3-9) San Diego: Academic Press.
- Rodrigues de Andrade H.H., Reguly M.L., Lehmann M. (2004) Wing somatic mutation and recombination test. En: *Drosophila* Cytogenetics Protocols. Henderson D.S. ed. Humana Press. 389-412.
- Rodríguez-Arnaiz, R. (2003). *Drosophila* como organismo modelo en la Biología Experimental. En L. F. Jiménez y H. Merchant (Eds.), *Biología celular y molecular*. (pp. 761-791). México: Pearson Education.
- Rodríguez-Arnaiz, R. (2004). Metabolismo de las toxinas ambientales. México: Serie La Ciencia para todos, Fondo de cultura económica, Secretaría de Educación Pública y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Rodríguez, G. J. C. y Rodeiro, G. I. (2014). El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. *Rev Cubana Farm*, 48(3): 495-507.
- Servicio Geológico Mexicano (2018) Panorama Minero del Estado de Hidalgo. Secretaria de Minería. Diciembre 2018. Consultado en: <http://www.sgm.gob.mx/pdfs/HIDALGO.pdf>. Fecha de consulta: noviembre de 2019.
- Sigler A. y Bauder J., (2012). Alcalinidad, pH y Sólidos Disueltos Totales. Well Educated. Educación en el agua de pozo. Consultado en: http://region8water.colostate.edu/PDFs/we_espanol/Alkalinity_pH_TDS%202012-11-15-SP.pdf. Fecha de consulta: 5 de febrero de 2020.
- Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., y Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*. 12(10): 1161-1208.
- Wahlang, B., Falkner, K. C., Cave, M. C., y Prough, R. A. (2015). Role of cytochrome P450 monooxygenase in carcinogen and chemotherapeutic drug metabolism. In *Advances in Pharmacology* Vol. 74:(pp. 1-33). Academic Press.
- Wang, N., Leung, H. T., Mazaloukas, M. D., Watkins, G. R., Gomez, R. J., y Wadzinski, B. E. (2012). Essential roles of the Tap42-regulated protein phosphatase 2A (PP2A) family in wing imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*. *PloS one*. 7(6).
- Yeşilada, E. (2001). Genotoxicity testing of some metals in the *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 66(4): 464-469.