

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

EVALUACION DE PROTEINAS EN PLANCTON
DE SISTEMAS ACUATICOS URBANOS

T E S I S

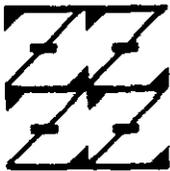
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

VICTOR MANUEL TORRES FLORES

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO NUMERO SJE
DE NUESTRA REGION

DIRECTOR: DRA. MARIA AMPARO MARTINEZ ARROYO
ASESOR: BIOL. ANGELICA ELAINE GONZALEZ SCHAFF

MEXICO, D. F.,

1999

TESIS CON
PALLA DE ORIGEN

27 1397



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.

DEDICATORIAS

Esta memoria representa tan solo una parte de mi vida, donde cada uno de ustedes han sido los protagonistas en el momento más adecuado.

Víctor
Gracias

A Dios por permitir que siga mi ser existiendo a pesar de las adversidades.

A mis Padres

Evodia Flores Campuzano y Roberto Torres Días

A mi madre por ser el pilar de la casa, a su preocupación por mí y por todo aquello que nunca podré agradecerle y retribuir suficientemente. A mi Padre por su esfuerzo y apoyo brindado que hicieron posible lograr una de mis metas en la vida, lo cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

Con Cariño y Gratitud.....Los quiero

A mis hermanos

Roberto, Marco Antonio y Miriam

Por demostrar siempre sus ganas y entusiasmo en todo lo que realizan, por tener un carácter de luchar en todas sus acciones y sobre todo, por ser una bonita familia.

A mi sobrina

Perta Jazmín

Por la alegría que trajiste a casa, y esperando que seas la futura universitaria.

A Vianney Arroyo Avila

Por estar a mi lado, por todo el apoyo y cariño que he recibido. Te quiero.

A mis familiares y amigos

Que de una u otra forma me apoyaron siempre.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, gracias por mi lugar en las aulas, por la educación y la cultura, por el presente y el futuro.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II por haber sido sede de mi formación y ejercicio profesional.

A todo el profesorado gracias por sus enseñanzas, profesionalismo y sugerencias sin las cuales no hubiera sido posible concluir la carrera.

A la Dra. Ma. Amparo Martínez Arroyo, por su incalculable apoyo, profesionalismo, consejos, paciencia y estímulos que me ayudaron a que este trabajo se concluyera.

A la Biol. Angélica González Chaff, por su enseñanza contribución y apoyo brindado en el desarrollo de la tesis.

Un especial agradecimiento a la Dra. Amelia Farrés Saravia, por facilitarme las instalaciones de su laboratorio de biotecnología en el edificio E del anexo del posgrado de química y a todos sus colaboradores, en especial al M. en C. José Luís Roque por su colaboración en la enseñanza de las técnicas para la determinación de Proteínas y Carbohidratos.

A la M. en C. Ma. del Rosario Cruz, por la colaboración en la enseñanza de la técnica para la determinación de Clorofila "a".

Al Dr Isaías H. Salgado Ugarte, por su valioso apoyo brindado en el análisis estadísticos.

A cada uno de mis sinodales, Q. F. B. Araceli García del Valle, Biol. Ernesto Constanso Casillas, Biol. Bertha Peña Mendoza, Biol. Angélica E. González Schaff y Dra. Ma. Amparo Martínez Arroyo por sus finas atenciones, valiosas sugerencias, orientación y apoyo en el proceso de la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	8
LAS PROTEÍNAS	11
ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y ESTRUCTURA PROTEICA	11
BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS	12
PROTEÍNAS DE ESTRÉS	13
CLASIFICACIÓN	17
CLOROFILAS	18
CARBOHIDRATOS	19
OBJETIVOS	20
ÁREA DE ESTUDIO	22
MATERIAL Y MÉTODO	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFÍA	65
ANEXOS	75
APÉNDICE	86

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Localización de los lagos de Chapultepec y Xochimilco en el Distrito Federal.	23
Figura 2 Estaciones de muestreo en el lago de Chapultepec.	26
Figura 3 Estaciones de muestreo en el lago de Xochimilco	27
Figura 4 Gel de plancton del lago de Chapultepec	60
Figura 5 Gel de plancton del lago de Xochimilco	61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Diseño experimental	29
Tabla 2 Parámetros físicos y químicos del lago de Chapultepec	34
Tabla 3 Parámetros físicos y químicos del lago de Xochimilco	36

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Concentración de nutrientes en el agua del lago de Chapultepec (época de lluvias)	37
Gráfica 2 Concentración de nutrientes en el agua del lago de Chapultepec (época de secas)	38
Gráfica 3 Concentración de nutrientes en el agua del lago de Xochimilco (época de lluvias)	40
Gráfica 4 Concentración de nutrientes en el agua del lago de Xochimilco (época de secas)	40
Gráfica 5 Número de organismos fitoplancticos en el agua del lago de Chapultepec (época de lluvias)	42
Gráfica 6 Número de organismos fitoplancticos en el agua del lago de Xochimilco (época de secas)	44
Gráfica 7 Concentración de clorofila "a" en las muestras de fitoplancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	45
Gráfica 8 Concentración de clorofila "a" en las muestras de fitoplancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	46

Gráfica 9	Concentración de clorofila "a" en las muestras de fitoplancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	48
Gráfica 10	Concentración de clorofila "a" en las muestras de fitoplancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	48
Gráfica 11	Concentración de carbohidratos en las muestra de plancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	49
Gráfica 12	Concentración de carbohidratos en las muestras plancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	50
Gráfica 13	Concentración de carbohidratos en las muestras plancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	52
Gráfica 14	Concentración de carbohidratos en las muestras plancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	52
Gráfica 15	Concentración de proteínas en las muestras plancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	54
Gráfica 16	Concentración de proteínas en las muestras plancton de Chapultepec expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	55
Gráfica 17	Concentración de proteínas en las muestras plancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de lluvias)	56
Gráfica 18	Concentración de proteínas en las muestras plancton de Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas por 2 y 4 horas (época de secas)	57

RESUMEN

Con el fin de conocer el comportamiento metabólico de las comunidades pláncnicas de sistemas acuáticos urbanos, se realizó el estudio en los lagos de Chapultepec y Xochimilco, analizando la concentración de proteínas en muestras de plancton colectadas tanto en época de lluvias como época de secas. La capacidad de respuesta de la comunidad ante cambios en la temperatura ambiente, a través de la síntesis de nuevas proteínas, se evaluó mediante un diseño experimental en el cual las muestras de agua tomadas en ambos lagos fueron expuestas a temperaturas de: 10, 30 y 40°C, por periodos de 2 y 4 horas.

Posteriormente se contaron e identificaron los organismos fitoplancticos presentes, se analizó la concentración de clorofila "a", carbohidratos y proteínas; y, se determinó el peso molecular de éstas mediante electroforesis en gel de policrilamida.

En los muestreos de campo se midieron las variables físicas y químicas de la columna de agua: temperatura, luz fotosintéticamente disponible (PAR), profundidad, nutrientes, pH y oxígeno disuelto.

El agua del lago de Chapultepec presentó temperatura promedio de 19.1°C, y el lago de Xochimilco 18.4°C. La penetración de luz fluctuó entre 0.9 a 11.2% en Chapultepec y de 11.9 a 18.7% en Xochimilco a 0.5 m de profundidad. El pH presentó un carácter fuertemente básico y el oxígeno

disuelto se presentó sobresaturado en superficie; con una columna de agua oxigenada en la parte superior y disminución abrupta en el fondo.

Los resultados de nutrimentos indicaron que existe variación de nitrito, nitratos y fosfatos de una época a otra, debido a las descargas de agua por la planta de tratamiento en el lago de Chapultepec. En Xochimilco la cantidad de nitratos y amonio fue mayor a la de nitritos y sobre todos estos se encontraron los fosfatos.

En ambos lagos predominaron las Cianofitas, con el género *Microcystis* y *Oscillatoria*; Clorofita con los géneros *Scenedesmus*, *Crucigenia* y *Kirchneriella*; Diatomeas con los géneros *Navicula*, *Cyclotella* y *Synedra*.

La alta concentración de nutrimentos, el florecimiento algal y la poca penetración de luz, son principales características de cuerpos acuáticos eutróficos.

Durante la época de lluvia se manifestó un moderado florecimiento algal, aunque en general la abundancia a lo largo del año es alta. La concentración de clorofila "a" en el lago de Chapultepec durante la época de lluvia fue mayor (706 mg/m^3) que en la época seca (515 mg/m^3). Para el lago de Xochimilco, igualmente el valor superior fue de 634.92 mg/m^3 en época de lluvia y el menor, (436.03 mg/m^3) en época seca.

La concentración de carbohidratos para Chapultepec en época de lluvias fue de $680 \pm 127 \mu\text{g/ml}$ y en secas de $775 \pm 1 \mu\text{g/ml}$; para el lago de

Xochimilco en lluvias $348 \pm 50\mu\text{g/ml}$ y en secas de $304\mu\text{g/ml}$. La concentración de proteínas en época de lluvia en el caso de Chapultepec fue de $151 \pm 338\mu\text{g/ml}$ y en secas de $152 \pm 28\mu\text{g/ml}$; en Xochimilco en lluvias tuvo una concentración de $397 \pm 105\mu\text{g/ml}$ y en secas de $288 \pm 10\mu\text{g/ml}$.

Para el caso de los organismos que fueron sometido a los tratamientos térmicos. Las clorofilas se vieron disminuidas hasta en un 45% en Chapultepec y un 50% en Xochimilco en el tratamiento de $40^\circ\text{C}/4\text{h}$. En los carbohidratos no cambia considerablemente la concentración en los diferentes tratamientos

En cuanto a la síntesis de proteínas esta fue la más notable ya que aumentó gradualmente de acuerdo a los tipos de tratamientos establecidos teniendo un aumento en la síntesis de hasta un 391 % en lluvias y 351% en secas para el caso de Chapultepec. En Xochimilco el comportamiento fue similar ya que aumentó un 121% en lluvias y un 301% en secas. En lo que se refiere al peso molecular el más apreciable en el lago de Chapultepec fue el de 83 kilodaltones (Kda) que se presentó en todos los tratamientos incluyendo el control, aumentando su concentración y declinando ligeramente en el tratamiento de $10^\circ\text{C}/4\text{h}$, teniendo además la proteína de 36 KDa. En el lago de Xochimilco se presentaron las proteínas en un rango de 108 a 59 KDa, variando las que se presentan en el control y en los tratamientos y aumentando su concentración de acuerdo al tipo de tratamiento.

De acuerdo a lo observado en los lagos de Chapultepec y Xochimilco el fitoplancton aumentó la síntesis de proteínas de acuerdo al tiempo de exposición térmica, en su naturaleza el fitoplancton está estresado ya que presenta proteínas consideradas como de estrés. Aun cuando los organismos están estresados estos conservan capacidad de respuesta a estresores ambientales.

INTRODUCCIÓN

En México se han realizado pocos estudios en ecosistemas acuáticos urbanos, aun cuando el proceso de urbanización ha conducido a elevar la temperatura del aire en sus áreas centrales, mediante el llamado efecto de la isla de calor, y a un déficit de humedad en el ambiente. El incremento de la temperatura en la Ciudad de México representa una carga calórica adicional al incremento global que se registra en la temperatura del planeta, por lo que cada vez necesitamos gastar mayor energía para enfriar el ambiente (Jáuregui, 1990)

Esta situación ha acentuado en los últimos años el interés en los parques y lagos urbanos dado su importante papel en el bioclima de las grandes ciudades al modular tanto la temperatura como la humedad ambiente. Termodinámicamente los lagos son sistemas abiertos con intercambio de materiales y energía y, ya sean naturales o artificiales, si tienen suficiente biomasa fotosintética en la superficie funcionan como válvulas de oxígeno, enviando carbono al sedimento y oxígeno y nitrógeno a la atmósfera, principalmente en regiones tropicales (Margalef, 1980). Otros compuestos de variada naturaleza son también liberados por las comunidades algales al medio, ya sea en forma de gases o de partículas (Moss, 1980).

Tanto los océanos como los lagos poseen un gran conjunto de organismos microscópicos y macroscópicos que permanecen suspendidos en el agua. Estos organismos constituyen el plancton que incluye vegetales (fitoplancton) y animales (zooplancton), (Margalef, 1983)

Los organismos acuáticos sobreviven a las presiones externas de acuerdo a su capacidad para crear un ambiente interno que los proteja, de tal manera que su metabolismo no esté bajo tensión aun cuando el ambiente externo sea muy tensionante. Un ejemplo de este mecanismo es la acumulación de proteínas alteradas, llamadas proteínas de estrés, (Bidwel, 1979).

Las condiciones estresantes del medio se ven reflejadas con mayor claridad en los organismos del fitoplancton, tanto eucariontes como procariontes (Lindquist, 1986). Esto se observa por ejemplo en la producción de proteínas específicas como las denominadas de choque térmico (por siglas en inglés HSP), lo cual es considerado un mecanismo de supervivencia en todos los organismos. La respuesta al estrés los provee de un sistema universal de adaptación contra agresores ambientales, incluido el reconocimiento de antígenos exógenos o toxinas peptídicas, (Welch y Feramisco 1984; Welch y Mizzen 1988).

Otro de los beneficios de la producción de proteínas de este tipo es *prevenir la inducción de anormalidades morfológicas* de los organismos vivos. (Lindquist y Craig; 1988; Welch y Feramisco, 1984).

El manejo adecuado de los ecosistemas acuáticos urbanos requiere del conocimiento de su dinámica y de las condiciones de los organismos que los habitan. El estudio de las proteínas de las poblaciones fitopláncticas y zoopláncticas de dos lagos urbanos (Chapultepec y Xochimilco) permitirá conocer su capacidad de respuesta a condiciones ambientales estresantes. Se pondrá especial énfasis en los organismos fotosintéticos, cuya actividad de

producción de oxígeno juega un importante papel en la salud de todo el ecosistema.

Este trabajo se realizó dentro del proyecto de investigación "Estudio biometeorológico de dos lagos urbanos" apoyado por la DGAPA (Proyecto IN 206396) y por el Centro de Ciencias de la Atmósfera de la UNAM.

ANTECEDENTES

Diversos investigadores han observado que los tejidos vivos de diferentes organismos inducen a la síntesis de grupos específicos de proteínas en condiciones ambientales estresantes, principalmente ante cambios drásticos de temperatura (Ritosa, 1962; Vanbogegele y Neidhardt, 1990; Yost y Lindquist, 1986; Lindquist, 1986; Lindquist y Craig 1988; Young y Ellinoit, 1989). Estas proteínas tienen pesos moleculares que van de 15 a 25 kilodaltones (Michel y Key, 1987) y de 44 a 96 kilodaltones (Thirunavukkarasu *et al.* 1987), determinados por el método de electroforesis.

El porcentaje de proteínas y carbohidratos presentes en las poblaciones algales representan una fuente importante de energía para los organismos heterótrofos, que se incorpora en la red alimenticia (Lechuga *et al.* 1989 a y b).

Thirunavukkarasu *et al* (1987), evaluaron la respuesta del choque térmico en *Chorella protothecoides* bajo condiciones de nutrimentos diferentes, así como en medios térmicamente modificados (25°C a 35°C), en donde el objetivo principal fue observar la síntesis de proteínas. Los autores concluyen que la formación de éstas se dio como defensa de la célula ante cambios de temperatura, registrando proteínas con los siguientes pesos moleculares: 96, 92, 80, 71, 70, 68, 44, y 19 kDa.

Por su parte Barlow (1980) evalúa la composición bioquímica del fitoplancton, analizando las variaciones en la concentración de clorofila "a", ATP, proteínas y carbohidratos. Concluye que las condiciones ambientales fueron las responsables de los aumentos o disminuciones de éstos en las comunidades pláncnicas en la región del Sur de África.

La respuesta fotosintética a diversas condiciones ambientales se ha evaluado construyendo experimentalmente curvas de capacidad de fotosíntesis en relación con la cantidad de luz recibida (curvas irradianza-fotosíntesis). Al ser la fotosíntesis un proceso metabólico fundamental en las microalgas y que se relaciona directamente con la captura y transformación de energía, numerosos autores sugieren la evaluación de este proceso para conocer el funcionamiento de las especies y comunidades algales (Michel y Key, 1987).

En lo que se refiere al área de estudio sólo se han realizado trabajos sobre las características físicas y químicas del agua y la composición específica de las comunidades que ahí se encuentran.

En el lago de Chapultepec Pérez. (1985) realizó la comparación fisicoquímica morfométrica. Robles (1986) hizo una caracterización fisicoquímica; Alcocer (1986 a, b y c) evaluó las condiciones fisicoquímica del lago; Alcocer y Kato (1987 a y b) analizaron la textura y contenido de materia orgánica de los sedimentos; Alcocer (1988) realizó un estudio preliminar del efecto de degradación de materia orgánica sobre el estado trófico del lago.

Para el lago de Xochimilco los trabajos que se realizaron en fitoplancton son de tipo taxonómico como los de Sámano (1933) quien reportó 23 especies de las divisiones Euglenofita, Flores (1980) listó 129 especies pertenecientes a las divisiones Cianofita, Clorofita, Euglenofita y Bacilliarofita; Reynoso- Alvarez (1986) estudió y analizó la composición y abundancia del fitoplancton en un ciclo anual de muestreo identificando un total de 31 especies pertenecientes a 23 géneros, siendo los géneros más abundantes *Oscillatoria* y *Euglena*.

Se ha elaborado una cartografía basada en datos climatológicos actuales, así como en la proyección hacia el futuro de la temperatura, para mostrar como se calentará el aire de la ciudad tanto por la urbanización creciente como por la posible influencia de un calentamiento global (Jáuregui, 1990).

LAS PROTEÍNAS

El término proteínas (del griego protos, primero) fue propuesto por Berzelius a Mulder, quien lo aplicó en 1938 a sustancias complejas nitrogenadas encontradas en las células de todos los animales y vegetales. Las proteínas ocupan una posición central en la composición y la función de la materia viva. Las actividades físicas y químicas que constituyen la vida de la célula están catalizadas por enzimas, las cuales son todas de naturaleza proteica. Algunas proteínas tienen un papel como elementos estructurales, otras actúan como hormonas o como transportadoras de oxígeno; en otros casos participan en la contracción muscular, se asocian con los genes, están relacionadas con los mecanismos de defensa inmunológica en forma de anticuerpos, etc. Por otro lado, desde un punto de vista cuantitativo las proteínas constituyen el principal componente de los tejidos animales, representando un 75% de la materia seca de los mismos. (White, 1983.)

Actividad biológica y estructura proteica

Las proteínas con una función biológica específica, por ejemplo, hormonas y/o enzimas, presentan una relación muy estrecha entre su conformación y su función, de forma que los cambios morfológicos pueden conducir a una pérdida de actividad biológica. Así, una proteína nativa es aquella que presenta la conformación que le confiere su actividad biológica específica. Diversos cambios en las condiciones ambientales, entre los que se incluyen variaciones de pH, cambios en la temperatura o exposición a soluciones acuosas de algunos compuestos orgánicos, tales como detergentes, etanol, urea y guanidina-HCl, pueden alterar esta

conformación. Las proteínas sometidas a estas condiciones sufren una desnaturalización; la conformación de una proteína desnaturalizada está alterada drásticamente con respecto a la proteína nativa y carece de actividad biológica (White, 1983).

Biología molecular de la respuesta al estrés

El término estrés fue originalmente descrito por Hans Selye (Kaufmann, 1990) para describir la respuesta estereotipada e inespecífica de macroorganismos a una amplia variedad de estímulos externos y se ha aplicado el mismo término a la reacción uniforme de la célula a varios estresores, tales como lesión oxidativa, etanol, infecciones bacteriales y virales, metales pesados, radicales de oxígeno libre, inhibidores del metabolismo energético, hipertermia, cambios de pH, isquemia, lesión e inflamación. En términos globales se considera que la respuesta al estrés es una reprogramación inmediata, compleja y transitoria de las actividades celulares ante estímulos externos (Finley *et al.* 1984; Kaufmann, 1990).

El mecanismo por el cual el estrés es registrado por la célula y las vías involucradas en la transducción de esta señal para la alteración y activación de factores transcripcionales, no está aún muy esclarecido. Se ha propuesto que la acumulación de proteínas anormales, juega un papel importante en la estimulación de la respuesta al estrés (Lindquist, 1986; Lindquist y Creig, 1988). Otros autores sugieren que la disrupción del balance en la oxido-reducción y el transporte de electrones en la mitocondria puede ser el primer blanco de muchos agentes involucrados en dicha respuesta (Vanbogelen y Neidhardt, 1990; Nover *et al.*, 1988).

Proteínas de estrés

Los trabajos experimentales sobre la respuesta al choque térmico en glándulas salivares de *Drosophila busckii* y *Drosophila melanogaster*, condujeron al descubrimiento de genes activos (puffs) o sitios de transcripción activa en el cromosoma, que eran inducidos por el choque térmico, el dinitrofenol y el salicilato de sodio, y cuyas variaciones comprometían bandas involucradas en actividades metabólicas específicas. Dichos genes fueron llamados genes de choque térmico (Ritosa, 1962 y 1964).

En los años 70's, la respuesta al choque térmico fue estudiada básicamente a nivel celular, lográndose llegar a importantes observaciones sobre los genes involucrados en dicha respuesta, estos inducidos en pocos minutos por muchos tipos de estrés celular. Su inducción da lugar a la síntesis de nuevo ARN; previa desaparición de genes activados antes del choque térmico (Jamrich *et al.* 1977; Ashbuner y Bonner, 1979). Por la misma época, Tissieres y colaboradores (1979), estudiaron la respuesta a nivel molecular y reportaron que este fenómeno estaba asociado a la síntesis de un grupo de proteínas que fueron denominadas proteínas de choque térmico o HSP (heat shock proteins) y a la inhibición de la síntesis normal de proteínas.

La naturaleza universal de esta respuesta fue gradualmente descubierta y en 1985 Craig acuñó el término genérico de proteínas de estrés, al demostrar que muchos otros estresores ambientales, tales como anoxia, peróxido de hidrógeno, metales pesados, drogas, desacopladores

de la fosforilación oxidativa, aminoácidos análogos, etc.; pueden inducir la síntesis de las proteínas de choque térmico (Craig, 1985; Linqvist, 1986) y no solamente en *Drosophila* sino también en otros organismos como levaduras, células aviarias y *Tetrahymena*, dicha respuesta fue reportada en una gran variedad de organismos (Linqvist, 1986).

Investigaciones posteriores condujeron al hallazgo de que las proteínas de choque térmico también estaban involucradas en importantes funciones fisiológicas y que muchas de estas proteínas están presentes y activas en las células normales. Se introdujo entonces el término de chaperones moleculares o gobernadores moleculares, para describir un papel más general como proteínas que custodian y protegen a la célula (Ellis, 1987; Ellis *et al.*, 1989).

Se llegó a la conclusión de que la respuesta al estrés es universal; es decir, que existen proteínas con esta función en todos los tipos de organismos (Linqvist, 1986); y figuran entre las moléculas más conservadas que se conocen en la filogenia, tanto estructural como funcionalmente, representando por lo tanto un sistema adaptativo ancestral común en la evolución (Lewis y Pelham, 1986; Ellis *et al.*, 1989).

En los últimos años, ha crecido el interés por las proteínas de choque térmico, por el hallazgo de que estas proteínas son antígenos dominantes de muchas enfermedades infecciosas y autoinmunes en la respuesta inmune (Welch *et al.*, 1989; Alvarez y Palacios, 1989).

Las proteínas de choque térmico (HSP) constituyen una superfamilia de proteínas, cuyo nombre deriva de su inducción específica durante el estudio de la respuesta celular al choque térmico en todos los organismos. Sin embargo, muchos de los miembros de esta familia son expresados constitutivamente en ausencia de cualquier tipo de estrés y son esenciales para la actividad y el crecimiento celular; además, muchas de estas proteínas, incluyendo aquellas que no responden significativamente al choque térmico, son inducidas por otras condiciones de estrés, cuyo común denominador es quizás la acumulación de proteínas alteradas en su estructura terciaria y cuaternaria o desdobladas en la célula. Su función en muchos casos está relacionada con la hidrólisis del ATP para facilitar los procesos de ensamble y desdoble de complejos proteicos oligoméricos y posiblemente el deterioro de la agregación o del plegamiento incorrecto de polipéptidos nacientes, durante la traducción en la membrana de organelos, como la mitocondria y el retículo endoplásmico en la célula (Botero, 1992).

Las HSP imprimen un carácter de supervivencia en todos los organismos. La respuesta al estrés provee de un sistema universal de protección contra agresores ambientales, incluido el reconocimiento de antígenos exógenos o toxinas peptídicas (Welch y Feramisco, 1984; Welch y Mizzen, 1988).

La termotolerancia previene de la inducción de anomalías morfológicas en los organismos vivos. Choques térmicos severos en etapas específicas del desarrollo, inducen anomalías denominadas fenocopias, las cuales aparecen como consecuencia del bloqueo en el ARN y de la expresión normal de genes en su secuencia. Tratamientos térmicos suaves, administrados antes del choque térmico severo previenen la inducción de dichas anomalías (Lindquist y Craig, 1988; Welch y Feramisco, 1984). El papel de las HSP, y en particular de las ubicuitinas en la proteólisis de péptidos anormales acumulados en la respuesta al choque térmico, hace pensar que dicha respuesta ha evolucionado como medida para prevenir la acumulación citoplasmática de productos transcritos anormalmente, y con ello limitar la síntesis de polipéptidos irrelevantes para el metabolismo celular (Finley *et al.* 1984; Nover y Scharf, 1989).

Clasificación

Las HSP puede ser agrupadas en familias con base a su peso molecular (Nover y Neumann, 1989).

⇒ Familia HSP 110-kDa (100-110 kDa)

⇒ Familia HSP 90-kDa (80-94 kDa)

⇒ Familia HSP 70-kDa (65-78 kDa)

HSP 70-kDa o HSX 70-kDa

HSP 70-kDa o P 72

HSP 72-kDa o GRP 75 kDa o P 70

GRP 78-kDa o BiP

⇒ Familia HSP 60 - kDa (56-61 kDa)

HSP 58.6-kDa

HSp 56 -kDa o P 56

⇒ Familia HSP 20-kDa (10-46 kDa) o sHSP

HSP-H2B

HSP 28-kDa

ORP 32- kDa

HSP 47- kDa

⇒ Familia HSP 8.5-kDa

Ubiquitinas

CLOROFILAS

La determinación de concentración de pigmentos fotosintetizadores tanto en muestras de agua dulce como en marinas, se realiza para estimar aproximadamente la biomasa y capacidad de fotosíntesis del fitoplancton. La relación entre las distintas clases de pigmentos es indicativa tanto de la composición taxonómica de la muestra como del estado fisiológico de la comunidad.

La cuantificación de los distintos tipos de pigmentos se basa en la lectura, mediante un espectrofotómetro, de la densidad óptica a las longitudes de onda en las que la absorbancia de la luz es máxima para un determinado pigmento. Al obtener el registro en continuo de absorbancias ópticas entre dos límites de longitud de onda, en realidad se obtiene un sumatorio de todos los pigmentos que absorben dichos límites.

Se utilizan una serie de coeficientes para transformar estas densidades ópticas en concentraciones pigmentarias. Las fórmulas más utilizadas son Richards and Thompons 1952; Parsons and Strickland, 1963, Jeffrey and Humphrey, 1975 (citados por Margalef, 1980).

Generalmente se centra la atención en la clorofila "a", ya que es la más abundante e importante. En los organismos de agua dulce, como los que aquí se analizan. Algunos productos de la degradación de los diferentes pigmentos pueden interferir en las determinaciones espectrofotométricas, por presentar picos de absorción muy próximos a los de los pigmentos sin degradar (Margalef, 1980).

CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos constituyen un importante grupo de compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se encuentran en todos los seres vivos y representan un componente fundamental del sistema ecológico, ya que las plantas verdes y otros organismos fotosintéticos utilizan la energía solar para incorporar CO_2 a moléculas de carbohidratos iniciando, así la transferencia de energía a otros niveles tróficos.

Desde el punto de vista químico los sacáridos o carbohidratos se definen como *polihidroxialdehídos o cetonas y sus respectivos derivados*.

Clasificación

De acuerdo con su complejidad estructural y con su peso molecular, los carbohidratos se dividen en cuatro categorías (Díaz, 1995):

1. Monosacáridos
2. Oligosacáridos
3. Glucosaminglicanos
4. Polisacáridos

Las proteínas y carbohidratos pueden considerarse como una expresión de biomasa y juegan un papel en la evaluación del estado fisiológico del fitoplancton (Parsons *et al.* 1961; citado por Sakshaug, 1980).

HIPÓTESIS

Si las comunidades pláncticas al ser sometidas a diferentes condiciones de estrés producen proteínas específicas, entonces la identificación y cuantificación de dichas proteínas permitirá conocer las condiciones para la vida que ofrecen los cuerpos de agua que las contienen. Así mismo, la síntesis proteica como respuesta a condiciones de estrés adicional, indicará el grado de vulnerabilidad fisiológica en que se encuentran estas comunidades.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración y producción de proteínas en las comunidades pláncticas de dos sistemas acuáticos urbanos tanto en campo como a diferentes condiciones de temperatura.

OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar los parámetros físicos (temperatura y luz) y químicos (nutrimentos, pH y O₂ disuelto) de los sistemas acuáticos, en época de lluvias y secas.

Contar e identificar los organismos fitopláncnicos presentes en los lagos de Chapultepec y Xochimilco a lo largo del estudio.

Evaluar la presencia del componente fotosintético de las comunidades pláncnicas, a través de la determinación de clorofila a y su comportamiento, en diferentes condiciones de temperaturas.

Determinar la concentración de carbohidratos en comunidades pláncnicas expuestas a diferentes condiciones de temperatura.

Determinar la concentración de proteínas en comunidades pláncnicas expuestas a diferentes condiciones de temperatura controlada.

Determinar los pesos moleculares de las proteínas presentes.

Analizar el papel que juega la síntesis de proteínas como bioindicador de condiciones ambientales estresantes en Chapultepec y Xochimilco.

ÁREA DE ESTUDIO

CHAPULTEPEC

Localización:

El bosque de Chapultepec está situado en el oeste-sureste de la Ciudad de México y comprende un área de 6.7 km² (Anónimo, 1985), ubicado entre los 19° 24' y 19° 26' de latitud norte y los 99° 11' y 99° 13' de longitud oeste (figura 1) a una altura de 2,240 m.s.n.m. (Molina-Enriquez, 1979); incluye tres lagos: el Lago viejo, Lago Mayor y el Lago Menor.

La alimentación de los Lagos de Chapultepec proviene de tres fuentes. El Lago Viejo recibe agua del río Hondo, de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec y al igual que los otros lagos, pequeñas descargas de aguas crudas provenientes de los locales comerciales asentados en la periferia. Los Lagos Mayor y Menor reciben agua de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec. (Alcocer, 1988)

CLIMA:

El clima de la región del Bosque es templado con lluvias en verano, caracterizado como Cwl (w) b (i') (García, 1981). La estación meteorológica de Tacubaya determinó valores medios anuales de precipitación de 672 mm, evaporación de 965 a 1,910 mm y una temperatura de 14.7 °C (Villalobos *et al.*, 1982).

Chapultepec se encuentra dentro de una área de la ciudad en donde se manifiesta el fenómeno de isla de calor según Jáuregui (1990) y que consiste en una elevación de la temperatura del aire a nivel superficial en zonas centrales de núcleos urbanizados.

XOCHIMILCO

Localización:

El reducto del lago de Xochimilco se encuentra localizado en la delegación del mismo nombre, perteneciente al Distrito Federal, quedando comprendido entre los 99° 09' 41" y 99° 01' 21" longitud oeste y los 19° 17' 35" y 19° 08' 57" latitud norte (figura 1) a una altura de 2,274 metros sobre al nivel del mar, actualmente este reducto se alimenta con aguas negras provenientes de la planta de tratamientos de Iztapalapa, además del manantial San Gregorio y está formado por canales primarios, secundarios, terciarios y zanjas, ocupando una área cuyos diámetros mayor y menor son 9,600 y 3, 800 metros, respectivamente. La profundidad varía entre 2.5 y 3 metros y el ancho de 6 a 10 metros (Flores, 1980).

CLIMA:

El clima de Xochimilco, de acuerdo a la clasificación de Köppen modificada por García, (1981) se clasifica como C (wo) (w) b (i), o sea, clima templado húmedo. Presentándose los meses más lluviosos de junio a septiembre y los más secos de febrero a marzo, con veranos frescos, largos, con una temperatura media del mes más caliente y más frío de 22 y 6.5°C. respectivamente, la temperatura media mensual presenta una oscilación entre 5 y 7 °C. (Flores, 1980).

De acuerdo a Jáuregui (1990) este cuerpo de agua esta fuera de la isla de calor identificada en la ciudad de México y llega a presentar diferencias de temperatura respecto al centro de la ciudad de entre 6 y 8 °C.

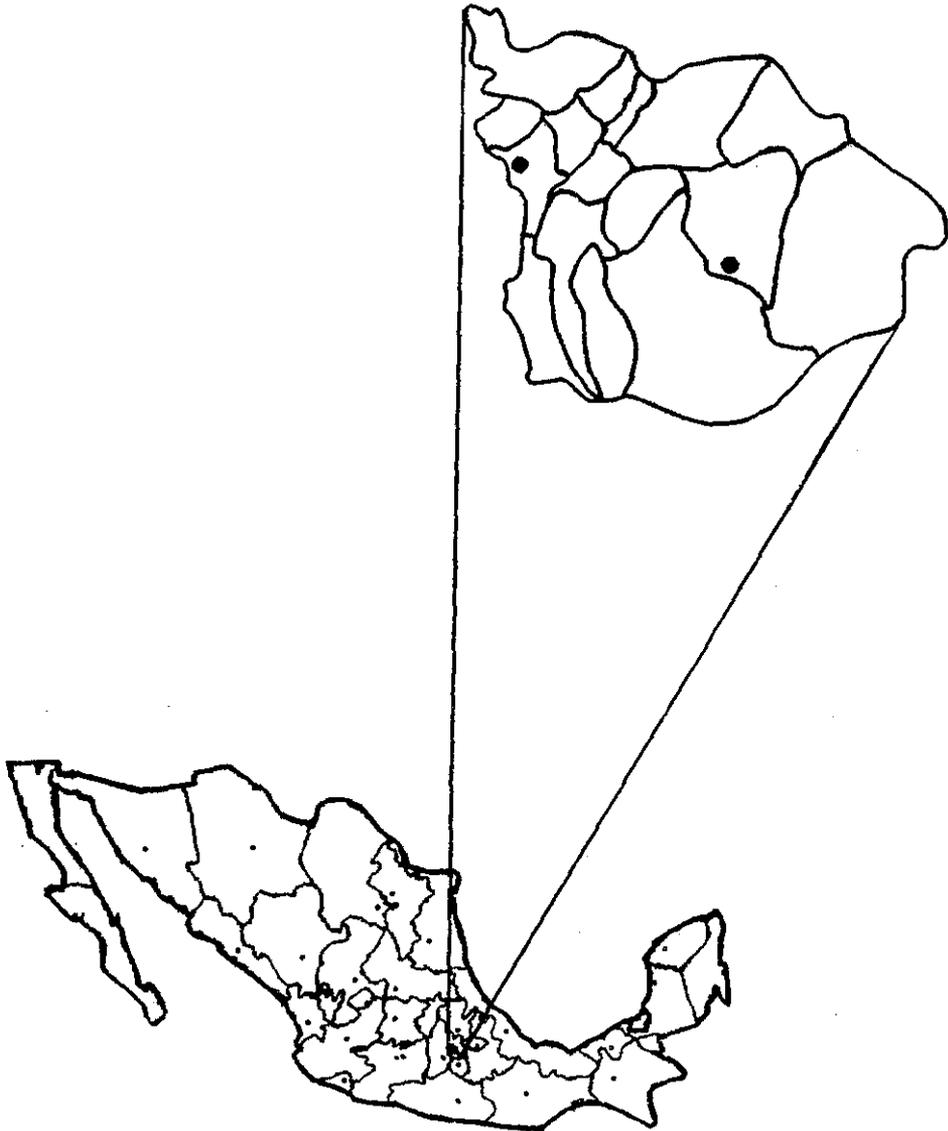


Figura 1. Localización de los Lagos de Chapultepec y Xochimilco, en el Distrito Federal.

MATERIAL Y MÉTODOS

TRABAJO DE GABINETE

Se realizó una investigación bibliográfica, sobre lagos urbanos, proteínas de estrés, clorofila "a", carbohidratos y plancton. Se consultaron técnicas y métodos adecuados para la determinación de los parámetros físicos y químicos del agua. Finalmente se analizaron los datos y se realizó la discusión de los resultados.

TRABAJO DE CAMPO.

Para elegir las estaciones de muestreo, se realizó una salida piloto tomando en cuenta la morfología de cada uno de los Lagos y la representatividad de los sitios. Se establecieron 4 estaciones en el Lago de Chapultepec (figura 2) y 7 estaciones en el Lago de Xochimilco (figura 3). Posteriormente se llevaron a cabo 8 campañas de muestreo y experimentación en cada uno de los lagos, durante las siguientes fechas, en el mes de junio de 1997 en el Lago de Chapultepec y en el mes de julio de 1997 en el Lago de Xochimilco (época lluvias), y en el mes de marzo de 1998 en ambos lagos (época seca).

En cada estación se realizaron las mediciones de variables físicas: profundidad y temperatura en la superficie y químicas: pH en la superficie y el oxígeno se determinó a diferentes profundidades, en el lago de

Chapultepec fue en la superficie y a 0.5 m, y en el lago de Xochimilco en la superficie, 0.5 y 1.0 m

Se tomaron las muestras biológicas experimentales a 50 cm de profundidad para el caso de Chapultepec y a 70 cm para Xochimilco, con botella Van Door de 3 litros de capacidad. Se fijaron 250 ml de muestra con solución acetato de lugol, esta solución preserva la muestra, permite la sedimentación y tiñe las estructuras del fitoplancton, facilitando la identificación y el conteo (al microscopio invertido), según lo indica el método de Utermöhl 1958 (Schwoerbel, 1975). Temperatura y oxígeno disuelto, se determinaron por medio de oxímetro de campo (YSI Modelo 58), pH con un potenciómetro (pHmvOR meter 5938-00), luz con un cuantómetro (LICOR 192SA Y 193SA) a lo largo de la columna de agua; además se midió la profundidad con una cuerda previamente marcada. Posteriormente las muestras se transportaron en botellas de plástico al laboratorio para su posterior análisis y tratamiento experimental.

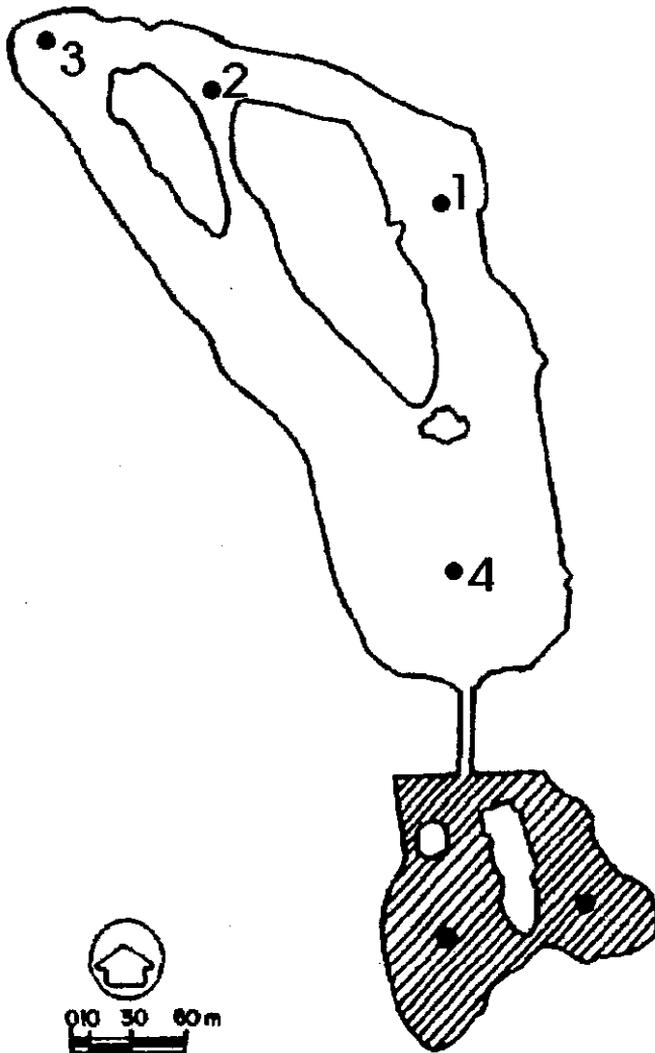


Fig 2. Estaciones de muestreo en el Lago de Chapultepec.



Fig. 2.- Xochimilco, se señalan los sitios de muestreo

TRABAJO DE LABORATORIO

Las muestras obtenidas de cada estación se homogeneizaron perfectamente y se subdividieron para el análisis de proteínas, clorofila "a", carbohidratos y análisis de nutrimentos. (nitratos, nitritos, amonio y fosfatos).

Conteo e identificación de los organismos

De la muestra fijada en campo con lugol se hizo la determinación taxonómica y abundancia de los organismos, mediante un microscopio invertido Olympus (modelo CK) por medio de conteo celular, utilizando el método de Utermöhl; así como en un Microscopio Compuesto Karl Zeiss (modelo M1); en el cual se usaron los objetivos 40X y 100X, para observar preparaciones frescas y permanentes (Schwoerbel, 1975). La identificación fue por medio de claves de Needham y Needham, (1972).

Análisis de nutrimentos

De cada una de las muestras de campo se filtraron 250 ml en papel Whatman del número 42 para su análisis de nitratos por el método de ácido fenoldisulfónico, nitritos por el método de ácido sulfanílico, ortofosfatos por el método de fosfomolibdato y amonio por el método de fenato; las muestras se trataron por triplicado (Wetzel y Likens, 1991).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para observar el efecto de condiciones estresantes en la concentración de clorofila "a", carbohidratos y proteínas de organismos plácticos, (fitoplancton) se estableció un diseño experimental para todas las muestras de cada período de muestreo y en cada uno de los lagos.

Las muestras homogeneizadas de cada lago, en época de lluvias y época de secas se dividieron en siete submuestras de 1.5 litro, colocándolas en baños térmicos (marca HAAKED D8) a las temperaturas y tiempos de exposición que se describen en la tabla 1.

Tabla 1: Diseño experimental

Submuestra	TRATAMIENTOS						
	Tem. amb.	10°C/2h	30°C/2h	40°C/2h	10°C/4h	30°C/4h	40°C/4h
1	■						
2		■					
3			■				
4				■			
5					■		
6						■	
7							■

ANÁLISIS DE CLOROFILA "a"

Después de ser sometidas al tratamiento se filtraron 10 ml de cada muestra a través de papel filtro de fibra de vidrio Whatman GF/F (con una abertura de poro de 0.7 μm y 45mm de diámetro), para su análisis por el método de extracción con acetona al 90%; se leyeron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 552A, utilizando la fórmula de Strickland y Parson (1977).

Análisis de carbohidratos

Las muestras tanto las experimentales como las de campo posteriormente de ser sometidas al tratamiento se filtraron (500 ml) a través de papel filtro de fibra de vidrio tipo Whatman GF/C, (con abertura de poro de 1.2 μm y 45 mm de diámetro), el plancton retenido en el filtro, se colocó en tubos Eppendorf; se realizó una liofilización con la finalidad de eliminar el agua contenida en las muestras, además de que con este procedimiento se inicia el rompimiento de células.

La pastilla resultante se congeló en nitrógeno líquido y se maceró en un mortero de porcelana, para continuar con el rompimiento de células, la proteína se extrae con 1 ml de regulador TRIS-HCl pH 8.5 (Pater *et al.* 1996). El extracto se centrifuga a 15000 rpm por 10 minutos a 4°C, con el sobrenadante se determinan carbohidratos totales (Dubois *et al.* 1956), ver anexo II. Cada una de las muestras se trató por triplicado.

Análisis de proteínas

Las muestras sometidas al tratamiento y el control, fueron filtradas (500 ml) a través de papel filtro de fibra de vidrio tipo Whatman GF/C, (con abertura de poro de 1.2 μm y 45 mm de diámetro), el plancton retenido en el filtro, se colocó en tubos Eppendorf (Lechuga *et al* 1989 a y b); se realizó una liofilización con la finalidad de eliminar el agua contenida en las muestras, además de que con este procedimiento se inicia el rompimiento de células.

La pastilla se congeló en nitrógeno líquido y maceró en un mortero de porcelana, para continuar con el rompimiento de células, la proteína se extrae con regulador TRIS-HCl pH 8.5 (1 ml) (Pater *et al.* 1996). El extracto se centrifuga a 15000 rpm por 10 minutos a 4°C. Con el sobrenadante se determina la concentración de proteína por el método de Lowry modificado (Paterson, 1977), ver anexo I. Cada una de las muestras se trató por triplicado.

Determinación del peso molecular

Posteriormente se realizó electroforesis en gel de policrilamida al 10% (SDS-PAGE), se extrajeron las proteínas totales de las células de plancton recolectadas en el lago de Chapultepec y Xochimilco expuestas a diferentes temperaturas (Tabla 1). Utilizando marcadores de peso molecular estándar (miosina, 200 KDa, galactosida, 116 KDa, fosforiladsa b, 97 KDa, BSA, 66 KDa, ovoalbúmina, 45 KDa, anhídrica carbonica, 31 KDa, inhibidor de tripsina, 21 KDa, lizosima, 14 KDa, apotrinina, 6.5 KDa). Ver anexo III.

Finalmente, a los resultados experimentales se les aplicó una prueba de significancia estadística (ANOVA); utilizando el paquete estadístico STATA, ver apéndice.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros físicos y químicos del lago de Chapultepec

El lago de Chapultepec recibe agua proveniente de la planta de tratamiento construida en 1956, la problemática de eutroficación del agua del lago se agudizó con la introducción de esta descarga, debido a que si bien se redujeron los aportes de materia orgánica se incrementaron ostensiblemente los de nitrógeno y fósforo (Villalobos, *et al.* 1982).

El lago de Chapultepec es un cuerpo de agua somero, durante el periodo de estudio se registró una profundidad máxima de un metro en su efluente (estación 4) y una mínima de 0.60 m (estación 3). Cabe mencionar que la profundidad del lago esta regulada artificialmente (tanto en época de lluvias como en secas) a través del control de entradas y salidas de agua.

El lago presenta aguas templadas con temperaturas en junio ligeramente menores (18.9°C) con respecto a marzo (19.3 °C). Dicha diferencia no fue estadísticamente diferente entre una fecha y otra ($p=0.0554$ y $f=3.97$), ver apéndice. El horario de muestreo fue de 9.00 a.m. a 12 p.m. aproximadamente.

Para el lago de Chapultepec en época de lluvia el valor promedio de pH, en todas las estaciones fue de 9.2 estadísticamente diferente ($p=0.0000$ y $f=93.17$) con respecto a la época de secas 9.7. En general el pH tuvo un carácter básico, rebasando ligeramente los límites permisibles

según Thurston *et al.* (1979) el cual menciona que para la vida dulceacuícola el pH debe estar entre 6.5 y 9.0. Además, su aumento o disminución propicia la liberación ó precipitación de ciertos elementos alterando su biodisponibilidad.

El proceso de fotosíntesis aunado a la aireación mecánica que produce las barcas de remos, permitió que las capas superficiales del lago de Chapultepec presentaran elevadas concentraciones de oxígeno disuelto que van de 11.2 a 17.0 mg/l (con un porcentaje de saturación de 120% y 183% respectivamente), presentándose éste mismo comportamiento en todas las estaciones, lo que confirma lo mencionado por Geider y Osborne (1992) que en agua eutroficadas el rango de porcentaje de saturación va de 10 a 200% como consecuencia de una alta biomasa y alta actividad biológica, a mayor profundidad la concentración de oxígeno disminuye notablemente. Esto se debe a que la descomposición de la materia orgánica ocurre en capas profundas de manera constante, además posiblemente se deba también al gran aporte de terrígenos, (Margalef, 1976).

El límite mínimo ecológicamente depende del medio y según Thurston *et al.* (1979) en aguas dulces debe estar entre 3.5 y 5.0 mg O₂ /l. La sobresaturación observada en este estudio ocurre también en cuerpos de agua naturales (Geider y Osborne, 1992).

La penetración de luz a 0.5 metros de profundidad, fue de 7.8% para la época de lluvias y 2.5% en época de secas en promedio, esto indica que contiene una gran cantidad de materia orgánica y sólidos suspendidos además a la poca profundidad del lago (Tabla 2).

TABLA 2 PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL LAGO DE CHAPULTEPEC

EPOCA	ESTACION	PROF. (m)	Tº DEL AGUA (°C)	Tº AMBIENTE (°C)	pH	O ₂ (mg/l) Superficie	O ₂ (mg/l) A 0.5 m	PENETRACIÓN DE LUZ A 0.5m (%)
LLUVIAS	1	0.70	19.2	20.0	9.2	16.4	4.23	6.6
	2	0.70	18.7	20.0	9.1	13.8	3.73	8.3
	3	0.60	18.6	20.4	9.1	16.0	5.33	5.0
	4	1.00	19.2	20.5	9.3	17.0	4.32	11.2
SECAS								
	1	0.80	19.3	26.6	9.8	13.2	2.7	1.9
	2	0.87	18.6	25.4	9.6	11.2	2.5	1.2
	3	0.75	19.5	26.0	9.7	11.3	1.8	0.9
	4	1.00	19.7	25.8	9.7	14.5	3.3	6.0

Parámetros físicos y químicos del lago de Xochimilco

El lago de Xochimilco es un cuerpo acuático que ha venido sufriendo la introducción de contaminantes. Los productos de actividades domésticas, agrícolas y turísticas han ido enriqueciendo paulatinamente las concentraciones de nutrimentos en el ecosistema acuático.

La tabla 3 contiene los resultados de la caracterización física y química promedio de los parámetros evaluados en el lago de Xochimilco. La profundidad mayor se presentó en la estación 7 (2.2 m en época de lluvias y 1.95 en secas) y la profundidad menor en la estación 6 (1.4 m en

lluvias y 1.35 m en secas). Al igual que el lago de Chapultepec, Xochimilco presenta aguas templadas con temperatura promedio en época de lluvias de 18.8°C sin diferencia estadística ($p=0.0086$ y $f=7.43$) con respecto a la época de secas de 18.0 °C. Presentándose una temperatura ambiente en época de lluvias 21.1 °C y en secas 20.9 °C. El horario de muestreo fue de 9:00 a.m. a 14:00 p.m.

El pH del lago de Xochimilco va de 7.7 a 9.2 lo cual indica un problema, ya que se ha observado que a pH variado se van disolviendo los materiales sólidos hasta cierto punto, sin embargo a medida que el pH se eleva de manera gradual la descomposición se retarda. El oxígeno disuelto presenta concentraciones altas que fluctúan entre 12.2 a 18.6 mg/l (con un porcentaje de saturación de 131 a 200% respectivamente) para todas las estaciones en la superficie del lago; y disminuye conforme aumenta la profundidad presentándose valores de 1.1 a 8 mg/l a un metro de profundidad. Los niveles de oxígeno disuelto en aguas dulces dependen de la actividad fisicoquímica y bioquímica del sistema, que de acuerdo a las características del cuerpo acuático eran los valores que se esperaban.

La penetración de luz es muy poca, fluctúa entre $16.4 \pm 2.4\%$ en época de lluvias estadísticamente diferente ($p= 0.0001$ y $f= 18.63$) con respecto a la época de secas $12.5 \pm 3.1\%$, esto debido a la gran cantidad de materia orgánica y a la gran cantidad de sólidos suspendidos, que se observaron durante los muestreos.

TABLA 3. PARAMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL LAGO DE XOCHIMILCO

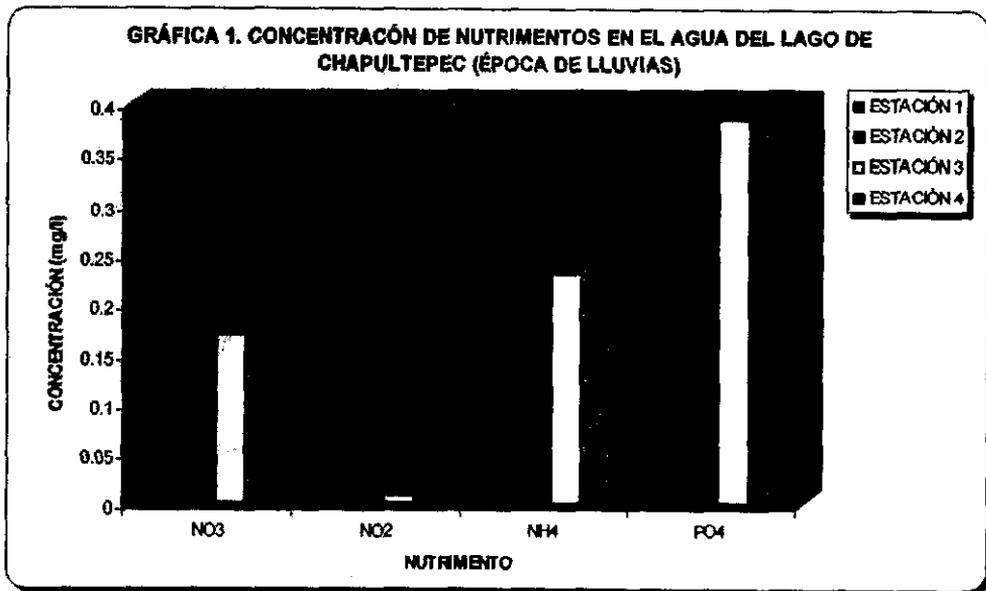
ÉPOCA	ESTACIÓN	PROF (m)	T° DEL AGUA (°C)	T° AMBIEN-TE (°C)	pH	O ₂ (mg/l) superficie	O ₂ A 0.5 m (mg/l)	O ₂ A 1 m (mg/l)	PENETRA-CIÓN DE LUZ A 0.5 m (%)
LLUVIAS	1	1.5	18.5	21.0	8.4	16.9	9.0	1.7	16.5
	2	1.7	20.0	21.0	8.1	15.2	4.5	1.4	18.6
	3	1.8	19.5	20.8	8.2	13.0	6.3	1.2	11.9
	4	1.6	19.5	22.0	8.2	12.2	8.0	5.8	16.9
	5	1.5	19.0	21.0	7.7	6.9	5.0	2.4	15.0
	6	1.4	17.5	21.0	8.0	14.2	7.1	1.1	17.0
	7	2.2	17.5	21.0	8.6	18.6	10.2	7.4	18.7
SECAS	1	1.30	17.0	19.7	9.2	14.8	9.43	1.8	7.8
	2	1.80	17.5	21.0	8.7	16.0	6.30	2.0	
	3	1.80	18.0	21.3	8.4	17.1	7.60	1.7	14.2
	4	1.70	18.0	21.5	8.9	16.2	10.60	8.0	
	5	1.40	19.0	22.0	8.9	15.6	10.20	5.3	14.3
	6	1.35	18.0	21.0	8.6	14.2	11.40	7.7	
	7	1.95	19.0	20.0	8.8	14.6	8.90	3.8	13.6

Concentración de nutrientes en el lago de Chapultepec

La gráfica 1, muestra los resultados de nutrientes (Nitratos, nitritos y amonio), en época de lluvias para el lago de Chapultepec se presentan los intervalos de concentración de 0.1930 a 0.2227 mg/l (42%), para nitratos, 0.008 mg/l (1.7%), en nitritos, 0.2320 a 0.2697 mg/l (56%) de amonio; de acuerdo con Margalef (1980) estas concentraciones presentan una proporción de un gradiente vertical en relación con la distribución de los valores del potencial del redox, por ejemplo en el epilimnión de los lagos se

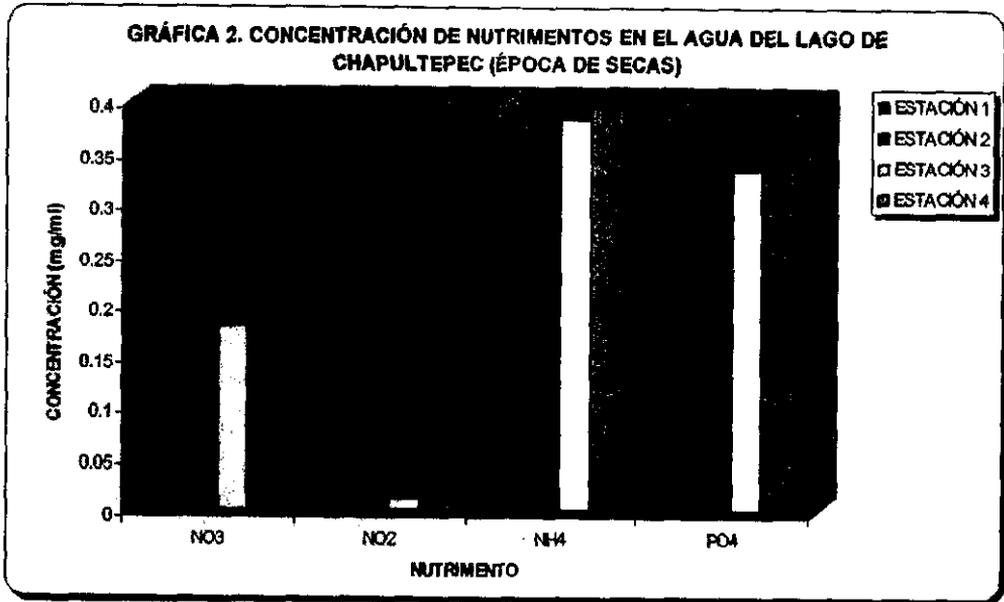
tiene alrededor de 89% de nitratos, 2% de nitritos y 9% de amonio, mientras que en las aguas profundas y anóxicas del mismo lago los respectivos por cientos podrían ser de 20%, 1% y 79%.

En aguas fuertemente alcalinas y pobres en calcio como es el caso del lago de Chapultepec, generalmente presentan poca profundidad por lo que sus gradientes verticales son muy acusados y retienen en solución cantidades elevadas de fosfatos (0.3501 a 0.387 mg/l).



En época de secas se observaron los siguientes intervalos de concentración en los nitratos (0.1413 a 0.1958 mg/l) y nitritos (0.0063 a 0.123 mg/l) teniendo un ligero aumento en la concentración de amonio (0.3623 a 0.3962 mg/l) con respecto a la época lluvias, con diferencia estadística ($p = 0.0000$ y $f = 486.06$) hubo una disminución en la

concentración de fósforo (0.3310 a 0.3420 mg/l), gráfica 2. Debido a las descargas de agua por la planta de tratamiento y vertidos de aguas sin tratar de los comercios aledaños.



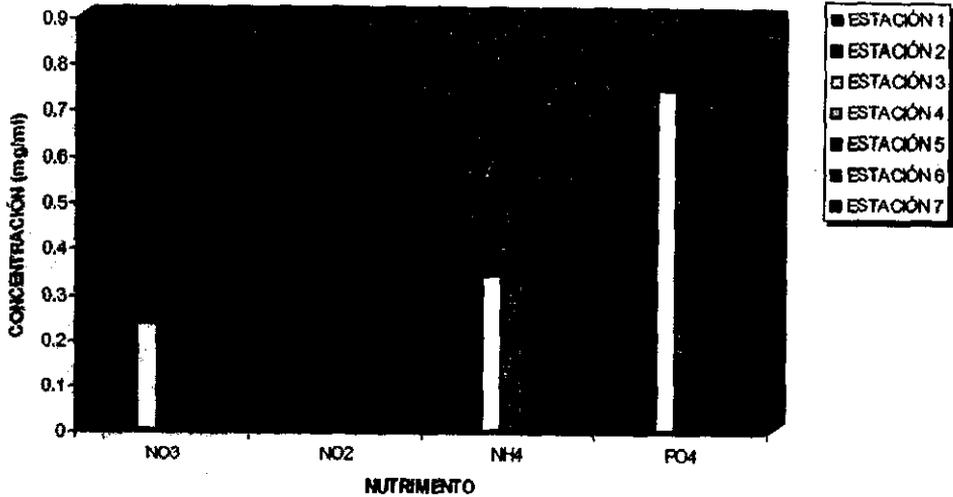
Concentración de nutrimentos en el lago de Xochimilco

En la gráfica 3 se observa la concentración de los nutrimentos en el lago de Xochimilco para la época de lluvias. La concentración más alta de nitratos se presentó en la estación 5 (0.3993 mg/l) y amonio en la estación 1 con 0.3960 mg/l, mientras que los nitritos presentaron el valor más altos (0.0096 mg/l), en la estación 5. Con respecto a la concentración de fósforo esta fue mayor en la estación 3 (0.7463 mg/l), esto posiblemente se deba a las descargas de detergentes, fertilizantes, y desechos de animales.

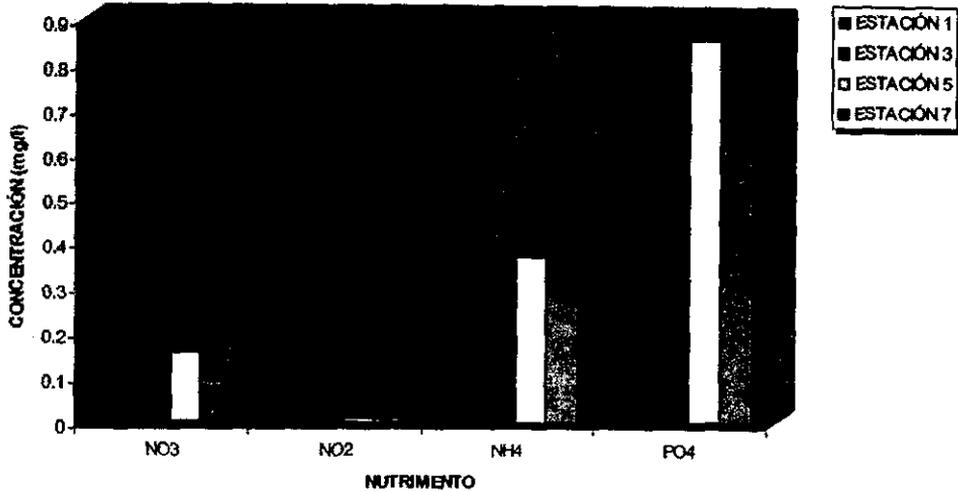
En relación a la época de secas (Gráfica 4) la concentración de nitratos es más alta en la estación 3 (0.3422 mg/l), y amonio en la estación 5 (0.3736 mg/l), el amonio que es superior a 0.02 mg/l, puede ser tóxico, (Margalef, 1983) pero no hay criterios propuestos en el libro rojo para la vida acuática, (Thurston et al. 1979), mientras que los nitritos presentaron su valor más alto en la estación 7 (0.0950 mg/l). Los fosfatos nuevamente superaron a los demás nutrimentos, sin embargo este parámetro fue más alto en la estación 3 (0.8839 mg/l) siendo esto lo que se esperaba al obtener pH alcalino y un lago con poca profundidad, además del gran aporte de detergentes y fertilizantes fosforados en el lugar, ya que se trata de una zona urbana y agropecuaria.

Al realizar las pruebas estadística se observa que en el lago de Chapultepec, existe diferencia significativa ($p= 0.0011$ y $f= 13.99$) en los nitratos, de la época de lluvias a la época de secas, sin embargo en el lago de Xochimilco no hay diferencia ($p= 0.8757$ y $f= 0.03$) en este parámetro de una época y otra. Con respecto a los nitritos en el lago de Chapultepec no hubo diferencia significativa ($p= 0.8341$ y $f= 0.04$), para el lago de Xochimilco ocurrió lo contrario, si existió diferencia ($p= 0.0201$ y $f= 6.28$), al comparar una época y otra. En el caso del amonio en ambos lagos existió diferencia significativa ($p= 0.0000$ y $f= 486.06$) en lago de Chapultepec y ($p= 0.0211$ y $f= 6.17$) en el lago de Xochimilco. Finalmente la concentración de fósforo presenta diferencia estadística en el lago de Chapultepec ($p= 0.0000$ y $f= 48.53$), pero en el lago de Xochimilco no hubo diferencia significativa ($p= 0.0704$ y $f= 3.62$)

GRÁFICA 3. CONCENTRACIÓN DE NUTRIMENTOS EN EL AGUA DEL LAGO DE XOCHIMILCO (ÉPOCA DE LLUVIA)



GRÁFICA 4. CONCENTRACIÓN DE NUTRIMENTOS EN EL AGUA DEL LAGO DE XOCHIMILCO (ÉPOCA DE SECAS)



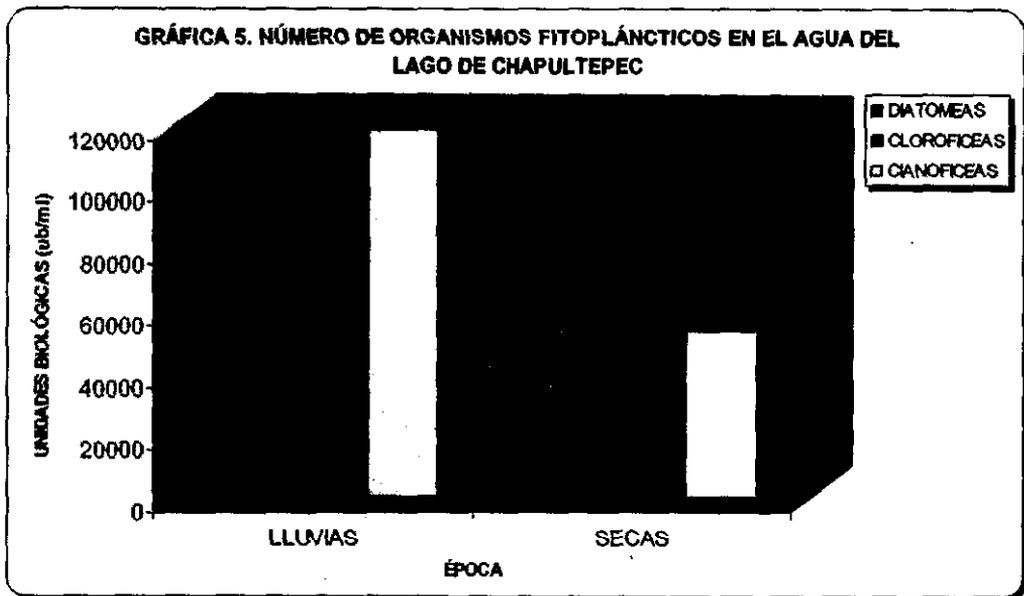
Organismos fitoplácticos en el lago de Chapultepec

La gráfica 5 muestra la abundancia fitopláctica observados durante ambas épocas de muestreo.

Como resultado de la riqueza en nutrimentos, se genera una alta producción fitopláctica según Hutchinson (1975). En ambas épocas predominó la división Cianofita. En la época de lluvias se encontraban 119729 ub/ml, (unidades biológicas) mientras que en la época de secas se encontraron 54227 ub/ml, siendo diferentes estadísticamente ($p= 0.0000$), del género *Microcystis*, se observó una disminución en la época de secas con respecto a la de lluvias.

En segundo lugar estuvo la división Clorofita con 34055 ub/ml para la época de lluvias y 50298 ub/ml para la de secas, con diferencia significativa ($p=0.0000$) predominado *Scenedesmus*. El género *Scenedesmus* es característico de cuerpos de agua contaminados con desechos orgánicos (Reynoso-Alvarez, 1982) y el estudio realizado en este cuerpo de agua lo confirma.

Por último el grupo de las Diatomeas tuvo 3912 ub/ml en la época de lluvias siendo estadísticamente diferente ($p= 0.0000$) con respecto a la época de secas (20249 ub/ml), registrando los géneros dominantes, el de *Navicula* y *Synedra*. Al sumar el total de organismos de cada una de las divisiones se obtuvo 157696 ub/ml para la época de lluvias y 130773 ub/ml en época de secas. Aun cuando el número de organismos en época de lluvias es estadísticamente diferente ($p= 0.0000$) y con un valor mayor, esta cantidad puede variar inclinándose por época de lluvias ó secas debido a la alimentación con aguas residuales de la planta de tratamiento (Villalobos 1982).



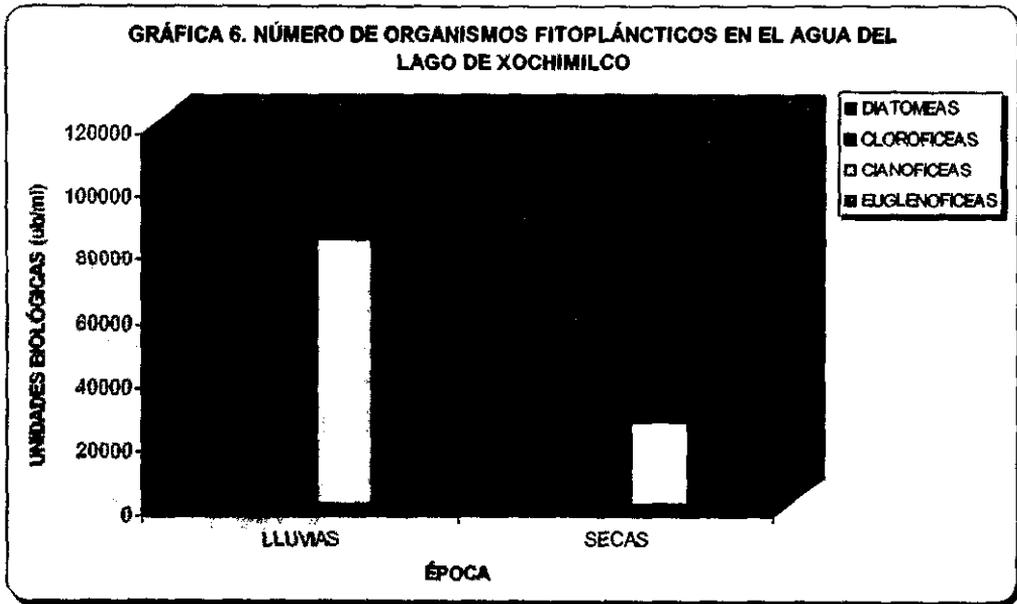
Organismos fitoplácticos en el lago de Xochimilco

En la gráfica 6 podemos observar el número de organismos fitoplácticos presentes en el lago de Xochimilco, para ambas épocas del año.

La división predominante fue Cianofita (83231 ub/ml), en época de lluvias, con los géneros *Oscillatoria* y *Microcystis*; mientras que en la época de secas dominó la división Clorofita (38580 ub/ml) con mayor número de unidades biológicas del género *Chorella*, y en segundo lugar *Crucigenia* (22352 ub/ml) y *Kirchneriella*, y Cianofita (26038 ub/ml) *Oscillatoria* y *Microcystis*. La importante presencia de Cianofita refleja una tendencia a la eutroficación.

Se encontraron Diatomeas con 5128 ub/ml, en la época de lluvias con una predominio de los géneros *Cyclotella* y *Navicula*, sin diferencia estadística ($p= 0.0601$) con respecto a la época de secas con 6903 ub/ml donde sobresale el género *Navicula*.

Además se encontró *Euglena* en la época de lluvias con 512 ub/ml. El total de organismos fue de 106601 ub/ml para la época de lluvias con diferencia estadística (0.7890) con respecto la época de secas 71521 ub/ml.



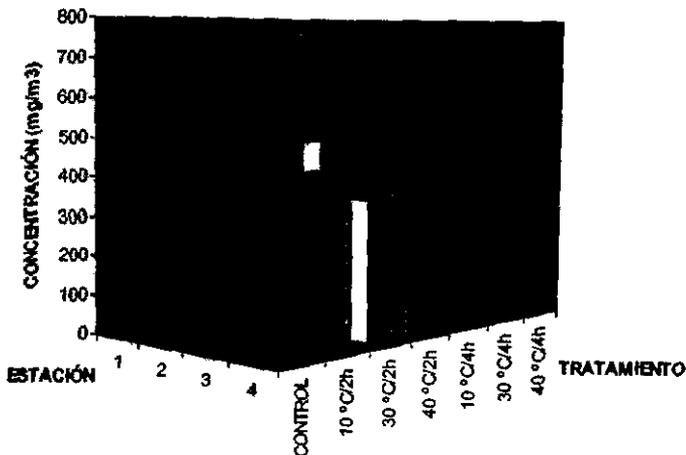
Clorofila "a" en el lago de Chapultepec

Para estimar la biomasa y capacidad fotosintética la determinación de pigmentos fotosintetizadores en agua dulce y marina es una herramienta muy importante (Margalef, 1980).

La máxima concentración de clorofila "a" en el lago de Chapultepec durante la época de lluvias fue de $706.5 \pm 57 \text{ mg/m}^3$ presentado diferencia estadística ($p= 0.0000$ y $f= 8.27$) con respecto a la época de secas de $515 \pm 83 \text{ mg/m}^3$ (gráficas 7 y 8), esto no superó el valor registrado por Uhlman (1975) para el lago de Chapultepec que es más de 2000 mg/m^3 , y a lo reportado por Alcocer 1986, (850 mg/m^3).

De acuerdo a Margalef (1983) las concentraciones mayores de 400 mg/m³ se presentan cuando existe un florecimiento algal, especialmente de Cianofitas, lo cual se corrobora, con la cantidad presentes en el lago de Chapultepec.

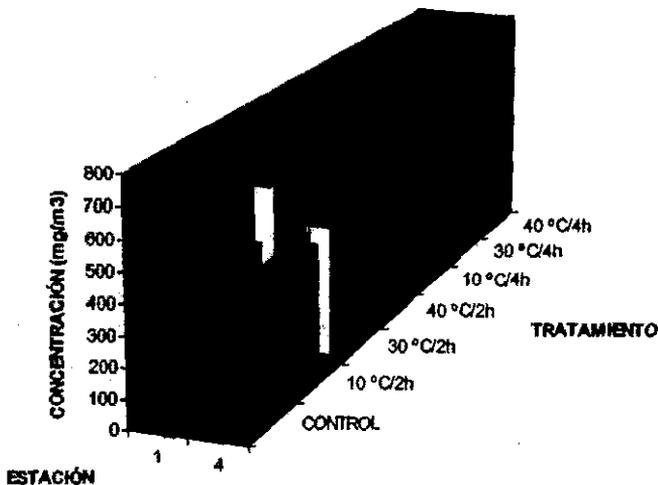
GRÁFICA 7. CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA "a" EN LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE LLUVIAS)



En los experimentos realizados en este trabajo de exposición de las muestras de plancton a diferentes temperaturas, se determinó también la concentración de clorofila "a" en todas las muestras. Sólo se presentó una variación significativa a los 40 °C y 4 horas de exposición con una concentración de 407 ± 45 mg/m³ en época de lluvias disminuyendo un 43% y por ende presentándose diferencia significativa ($p= 0.000$) con respecto al control (706.5 ± 57 mg/m³). En la época de secas, se presentó el mismo comportamiento, es decir en el control la concentración fue de

515 \pm 83 mg/m³ y 260 \pm 48 mg/m³ a 40°C por 4 horas con diferencia estadística (p= 0.000) entre ellos, teniendo una disminución del 50%. Esto hace suponer que la temperatura de 40°C y 4 horas provoca un cambio fisiológico en los organismos presentes.

GRÁFICA 8. CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA "a" EN LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE SECAS)



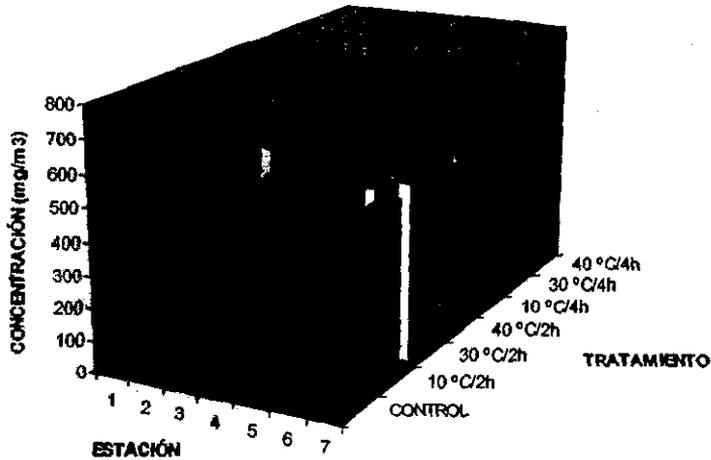
Clorofila "a" en el lago de Xochimilco

En las gráficas 9 y 10 se muestran los resultados de las concentraciones de clorofila "a" del lago de Xochimilco, en época de lluvias y de secas, podemos notar que la concentración más alta fue de 634.96 mg/m³ a temperatura ambiente en época de lluvias y el más bajo 436.03 mg/m³ a 40 °C / 2 h, por lo que este resultado nos permite realizar la

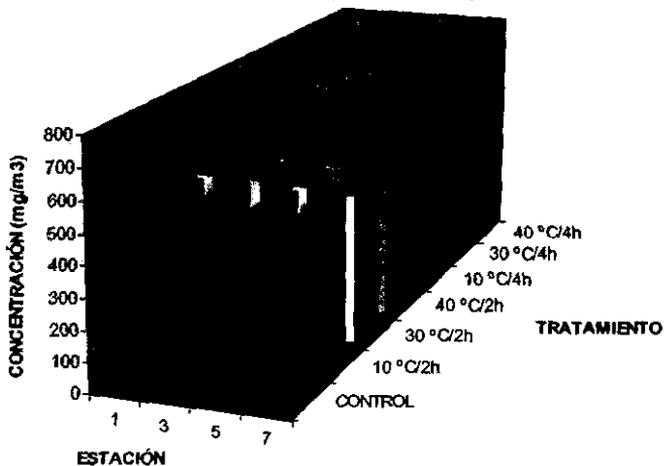
comparación estadística no solo una época y otra sino entre un tratamiento y con condiciones naturales (temperatura ambiente) y un ambiente alterado (40 °C/2 h), y así establecer cuales son las posibles condiciones que afectan la fisiología de las poblaciones al aumentar o disminuir su concentración de clorofila "a", como en este caso. En la época de secas nuevamente la concentración de clorofila "a" a temperatura ambiente se registró el valor superior (560.31 mg/m³), con diferencia estadística ($p=0.000$) con respecto al valor inferior 431.0 mg/m³a 10°C por 4 horas, observándose que no existe diferencia estadística entre ambas épocas ($p=0.3459$ y $f=0.89$); esto hace suponer que en la época de lluvias el tratamiento de 40 °C/2h provoco una disminución, al igual que en la época de secas, la temperatura de 10°C durante 4 horas, este comportamiento señala, que para ambas épocas la variación de temperatura con respecto al control es desfavorable para los organismos.

Se considera que en estos dos lagos el florecimiento algal es moderadamente alto de acuerdo al criterio de Margalef (1983), al presentar concentraciones superiores a 400 mg/m³ de clorofila "a". Tanto la presencia del gran número de organismos fitoplácticos como las concentraciones de clorofila "a" confirman esta apreciación.

GRÁFICA 9. CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA "a" EN LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE LLUVIAS)



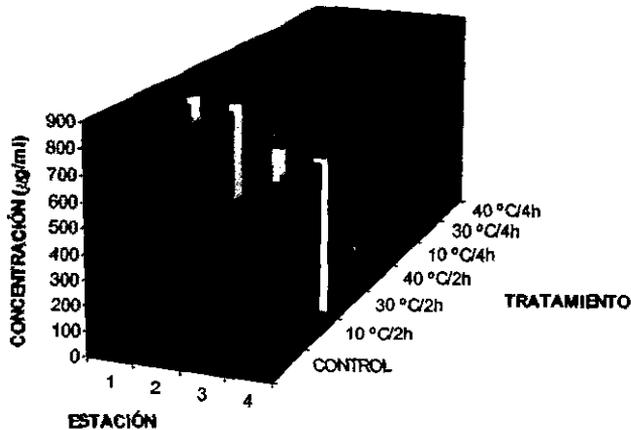
GRÁFICA 10. CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA "a" EN LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA SECA)



Concentración de carbohidratos en el lago de Chapultepec

Para el lago de Chapultepec podemos observar que la concentración de carbohidratos en la época de lluvias (gráfica 11), presenta el valor más alto a 40°C/4h ($846 \pm 30 \mu\text{g/ml}$), con respecto al control ($700 \mu\text{g/ml}$), existiendo diferencia estadística significativa ($p = 0.001$) aún cuando en los demás tratamientos hay variación, la diferencia no es estadísticamente significativa.

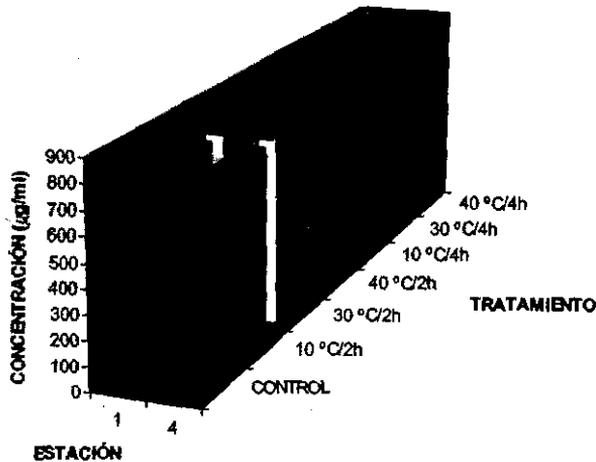
GRÁFICA 11. CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE LLUVIAS)



En la gráfica 12 se muestran los resultados de la concentración de carbohidratos para la época de secas en lago de Chapultepec. Los tratamientos que presenta diferencia estadística, es el control ($776 \pm 1 \mu\text{g/ml}$) con respecto al tratamiento de 40°C por 2 horas ($779 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$) cuya diferencia es de $p = 0.004$, así también el control presenta diferencia

estadística ($p= 0.020$) con respecto al tratamiento de 40°C por 4 horas ($762 \pm 18 \mu\text{g/ml}$), en el caso de los demás tratamientos se presenta diferencia estadística entre el tratamiento de $40^{\circ}\text{C}/2\text{h}$ con respecto a los tratamientos de $10^{\circ}\text{C}/2\text{h}$ y $30^{\circ}\text{C}/2\text{h}$ ($p= 0.001$ y $p= 0.050$ respectivamente), igualmente esta diferencia se presenta entre $40^{\circ}\text{C}/4\text{h}$ y $10^{\circ}\text{C}/2\text{h}$ ($p= 0.005$), esto nos permite decir que la temperatura de 40°C en ambos tiempos de exposición alteran el metabolismo de los organismo.

GRÁFICA 12. CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE SECAS)



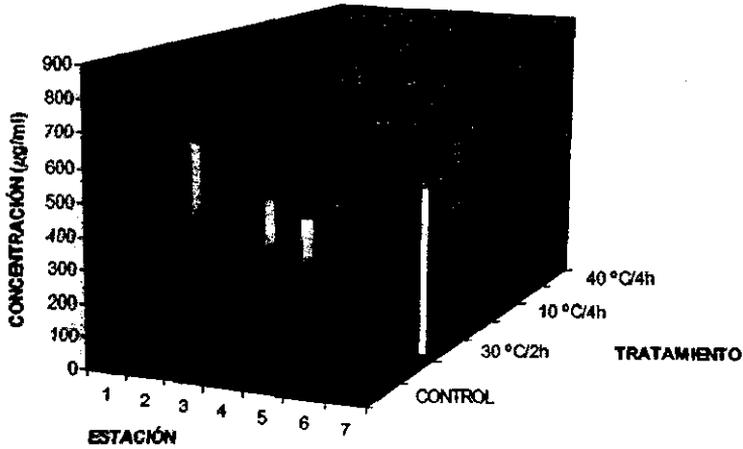
Concentración de carbohidratos en el lago de Xochimilco

La concentración de carbohidratos en el lago de Xochimilco (gráfica 13), en la época de lluvia, presenta los valores superiores a 10°C/2h (17%) y a 30°C/2h (11%) con relación al control (392 ± 132), no existiendo diferencia estadística entre ellos ($p = 0.2245$ y $f = 1.39$). Con respecto a los demás tratamientos la diferencia fue mínima (de 5 a 0.5%), por otro lado hubo una disminución a 40°C/4h (386 ± 159) con una diferencia del 2% en comparación al control, pero sin diferencia estadística.

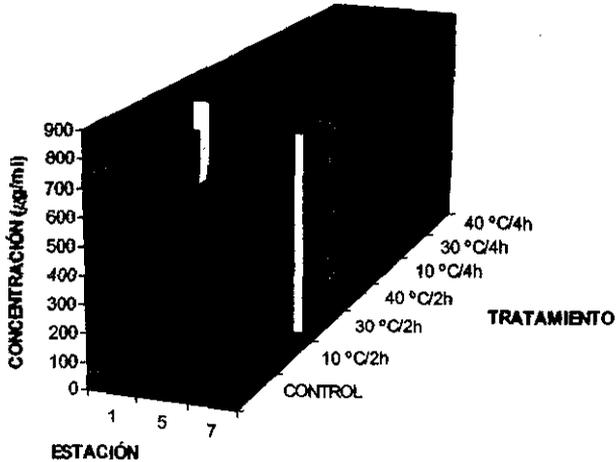
En la época de secas la concentración de carbohidratos en el lago de Xochimilco, presento el valor más bajo a 40°C/2h (673 ± 233), teniéndose una diferencia del 6% con respecto al control (713 ± 77), sin diferencia estadística ($p = 1.000$). Sin embargo la diferencia se presenta entre el tratamiento de 40°C/4h y los tratamientos de 30°C y 40°C durante 2 horas ($p = 0.0032$ y 0.006 respectivamente). Pero se presentó un aumento en el tratamiento de 10°C/4h (729 ± 249) con una diferencia del 2% con respecto al control (gráfica 14).

La concentración de carbohidratos puede variar al ser sometidos a diferentes condiciones de estrés ya que se ve limitado su metabolismo (White, 1983).

GRÁFICA 13. CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE LLUVIAS)



GRÁFICA 14. CONCENTRACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE SECAS)



Concentración de proteínas en el lago de Chapultepec

El objetivo principal de éste estudio fue determinar la producción de proteínas en las comunidades de dos sistemas acuáticos urbanos tanto en campo como a diferentes condiciones de temperatura.

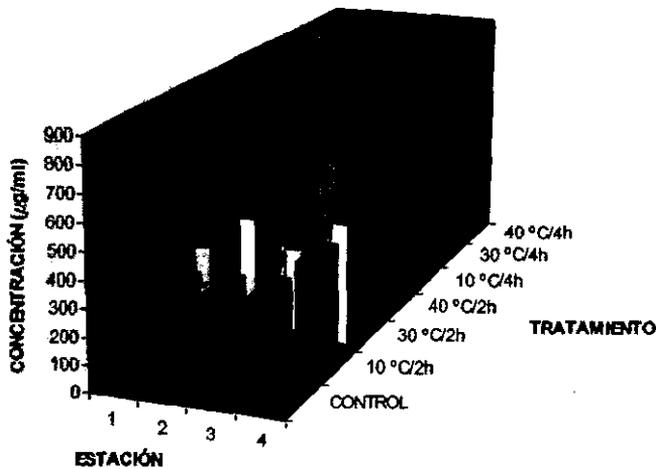
Sin embargo este parámetro no es independiente de los demás, ya que existe una relación muy importante, por ejemplo con los carbohidratos, que con el mismo extracto de proteína cruda se pueden determinar y según Hutchinson (1975) al incrementarse los carbohidratos existen un decremento en la proteína cruda.

Por otro lado el conteo de organismos es muy importante, ya que nos permite establecer el número y tipo de especies lo cual se refleja en la concentración de proteínas, que puede variar de una especie a otra (Lindquist y Craig, 1988).

La concentración de proteínas en el lago de Chapultepec para la época de lluvias se observa en la gráfica 15, presentándose el valor más alto ($746 \pm 109 \mu\text{g/ml}$) en el tratamiento de 40°C por cuatro horas y el más bajo ($152 \pm 39 \mu\text{g/ml}$) en el control, existiendo una diferencia estadística entre estos de $p=0.000$. Se observa un aumento en la concentración de proteínas al aumentar la temperatura y el tiempo de exposición, como se observa en los tratamientos de 10 , 30 y 40°C por periodos de 2 y 4 horas, existiendo una diferencia estadística entre tratamientos con una $p=0.0000$

y una $f = 58.58$, (ver apéndice). La función principal de este aumento, (concentración de proteínas) es proteger a las células de diferentes condiciones térmicas trayendo consigo una posible disminución en la fotosíntesis (Lindquist y Craig, 1988), lo cual puede relacionarse con la disminución observada que se presentó al determinar la concentración de clorofila "a".

GRÁFICA 15. CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE Lluvias)

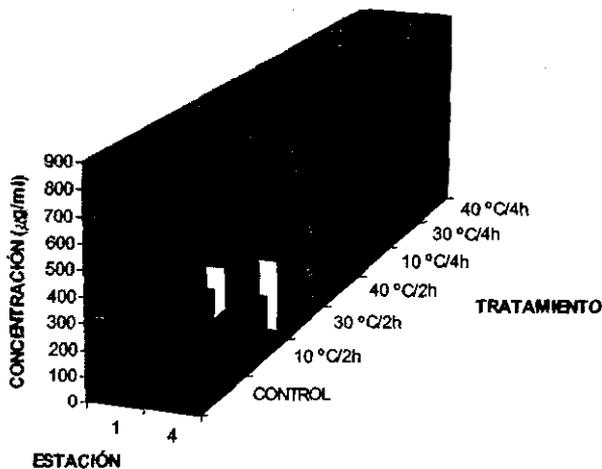


En la época de secas, gráfica 16; el comportamiento fue similar a de lluvias; a 40 °C por cuatro horas, se observó una concentración de $686 \pm 159 \mu\text{g/ml}$ y el control (temperatura ambiente) $152 \pm 20 \mu\text{g/ml}$, existiendo una diferencia estadística ($p = 0.000$) entre ambos. Además de que los demás tratamientos existió una diferencia estadística con una $p = 0.0000$ y

una $f = 32.68$, ya que se observó un aumento en la concentración de los tratamientos en comparación con el control.

En ambas épocas y en todas las estaciones la variación de los parámetros físicos y químicos, así como la concentración de clorofila "a" y carbohidratos fueron similares por lo que la variedad de estresores se reduce a que la temperatura es una de las principales condiciones, así como el tiempo de exposición a temperaturas altas y bajas, es decir diferentes al control (la temperatura ambiente del cuerpo de agua), que afecta a la concentración de proteínas. Otro aspecto importante que puede afirmar lo anterior es que la variedad de especies entre una estación y otra no es muy marcada.

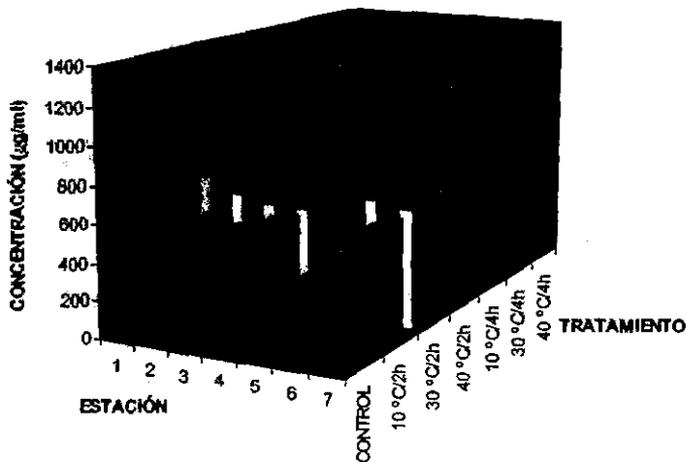
GRÁFICA 16. CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE CHAPULTEPEC EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE SECAS)



Concentración de proteínas en el lago de Xochimilco

Para el lago de Xochimilco en la época de lluvia (gráfica 17), existió una respuesta similar al lago de Chapultepec ya que a 40 °C por cuatro horas la concentración fue de $879 \pm 96 \mu\text{g/ml}$ la más alta con una diferencia significativa ($p= 0.000$) con respecto al control $397 \pm 105 \mu\text{g/ml}$, la cual fue la concentración más baja, existiendo diferencia estadística entre un tratamiento y otro con una $p= 0.000$ y una $f= 49.30$.

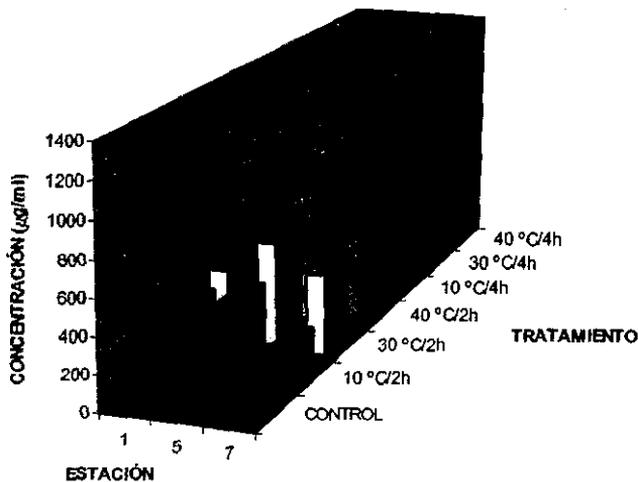
GRÁFICA 17. CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE LLUVIAS)



La bibliografía indica que el tipo de proteína sintetizada depende del estresor, que en este caso fue la temperatura. La concentración depende del nivel de estrés, por lo que al estar mayor tiempo en condiciones estresantes la concentración aumenta (Bradley, 1990) siendo éste el comportamiento que se observó en todos los tratamientos.

En la época de secas (gráfica 18) en las muestras del lago de Xochimilco se presenta un comportamiento similar al de la época anterior a 40 °C /4h (1156 ± 148 µg/ml) por cuatro horas, esta fue la concentración superior con diferencia estadística (p= 0.000) en comparación al control (288 ± 10 µg/ml). Lindquist y Craig (1988) mencionan que muchas moléculas proteicas sólo retienen su actividad biológica dentro de una fluctuación muy limitada de temperatura y tiempo, por lo que es difícil determinar dentro de lo establecido esta; sin embargo al aumentar esta condición aumenta la concentración de proteína.

GRÁFICA 18. CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS DE PLANCTON DE XOCHIMILCO EXPUESTAS A DIFERENTES TEMPERATURAS POR 2 Y 4 HORAS (ÉPOCA DE SECAS)



CHAPULTEPEC

La determinación de los pesos moleculares indica la presencia (tanto en el control como en las muestras tratadas) de proteína caracterizadas como de estrés térmico, y a su producción puede deberse los grandes aumentos de concentración proteica registrada (Nover y Neumann, 1989), como lo reportado en este trabajo.

Para los organismos del lago de Chapultepec (figura 4) las proteínas presentaron diferentes pesos moleculares, el más representativo fue 83 Kilodaltones (KDa), lo que hace suponer que tal vez sea una proteína estructural de los organismos de este lago específicamente de *Scenedesmus* siendo estos organismos los predominantes ó bien que esta proteína esté presente debido a que los organismos están sometidos en su propio ambiente a diferentes condiciones de estrés.

Así también en esta figura podemos notar la respuesta a temperaturas bajas y diferentes tiempo como fue a 10°C/2h. en el carril 3 la banda se torna más marcada que a temperatura ambiente (carril 2), sin embargo a esa misma temperatura a un tiempo de exposición de 4 horas la banda se presenta más tenue que a dos horas, lo que hace suponer que, o bien los organismos se adaptaron a esta temperatura o murieron y por ende la síntesis de estas proteínas se vio abatida, este comportamiento corrobora lo observado al determinar la concentración de las proteínas.

(gráfica 15 y 16). Daniels *et al.* (1984) mencionan que todos los organismos producen proteínas de choque térmico que va de 70 a 110 KDa. como mecanismo de termotolerancia.

Además de la proteína de 83 KDa. se presenta una de 36 KDa. que se observa en los carriles 3 y 6 la cual no está presente en el carril 2, correspondiente al control, lo cual indica que se formó debido a los tratamientos aplicados.

Respuesta a la exposición a altas temperaturas, se presenta la proteína de 83 KDa., en todos los carriles, observándose a mayor tiempo de exposición de los organismos plácticos, bandas con una mayor concentración de proteínas. Esto confirma la inducción a la formación de proteínas que producen condiciones ambientales estresantes ante la temperatura.

Además existe una proteína de 11.8 KDa, que se presenta en todos los carriles esto hace suponer que es una proteína que producen los organismos tanto, a condiciones estresantes, como en condiciones normales, y debe corresponder a las proteínas estructurales que juegan un papel vital en el funcionamiento de células normales (Daskal *et al.*, 1980).

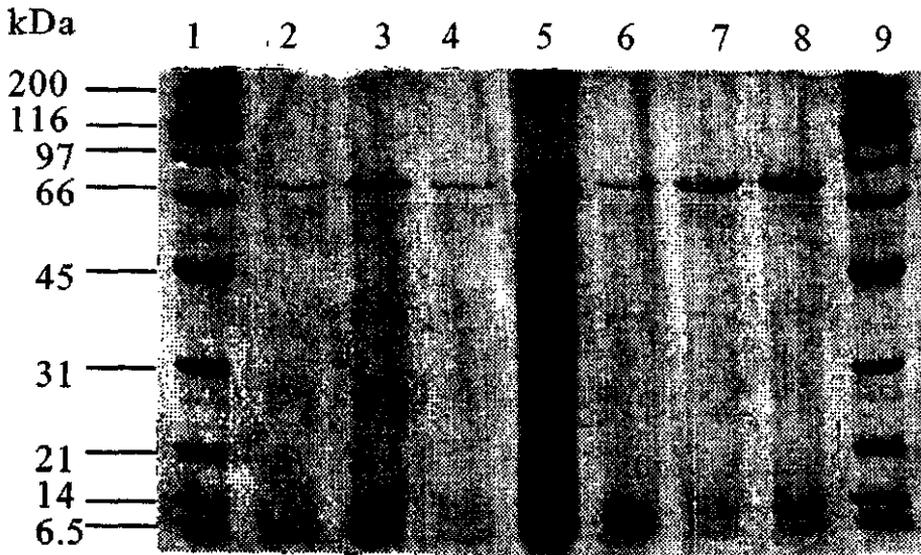


Figura 4 Electroforesis en gels de policrilamida al 10% (SDS-PAGE), se extrajeron las proteínas totales de las células de plancton recolectadas en el lago de Chapultepec y expuestas a diferentes temperaturas en el laboratorio, Carril 1 y 9, marcadores de peso molecular estándar carril 2, temperatura ambiente (control, 20-25°C), carril 3, 10°C/2 hrs, carril 4, 30°C/2 hrs., carril 5 40°C/2 hrs., carril 6, 10°C/4hrs., carril 7, 30°C/4hrs., carril 8, 40°C/4hrs.

XOCHIMILCO

En la figura 5 se observa una electroforesis en gel de policrilamida al 10% de las proteínas totales de las células en plancton recolectadas en el lago de Xochimilco. Se encontraron pesos moleculares que van de 108 KDa a 59.2 KDa, resaltan por su mayor concentración las proteínas de peso molecular con 108.9 KDa, 84.8 KDa y 59.2 KDa. Podemos notar que después de un tiempo de exposición de 2 horas a las temperaturas descritas, la concentración de las bandas es más notoria, comparada con

el control, sin embargo la diferencia de temperatura no muestra un cambio en la concentración de las bandas de cada uno de los carriles 3, 4 y 5.

A las 4 horas de exposición, la concentración de las bandas (carriles 6, 7 y 8) es más notable con respecto al control, así también existe diferencia de las bandas, respecto a los tratamientos de 2 horas, excepto a 30°C/2hrs. (carril 7) que presenta las bandas más tenues.

Carper *et al.*, 1987 y Gante *et al.*, 1987 mencionan que existe una correlación entre la síntesis de proteínas de choque térmico y la termotolerancia siendo paralela la termotolerancia al rango de acumulación de proteínas de choque térmico.

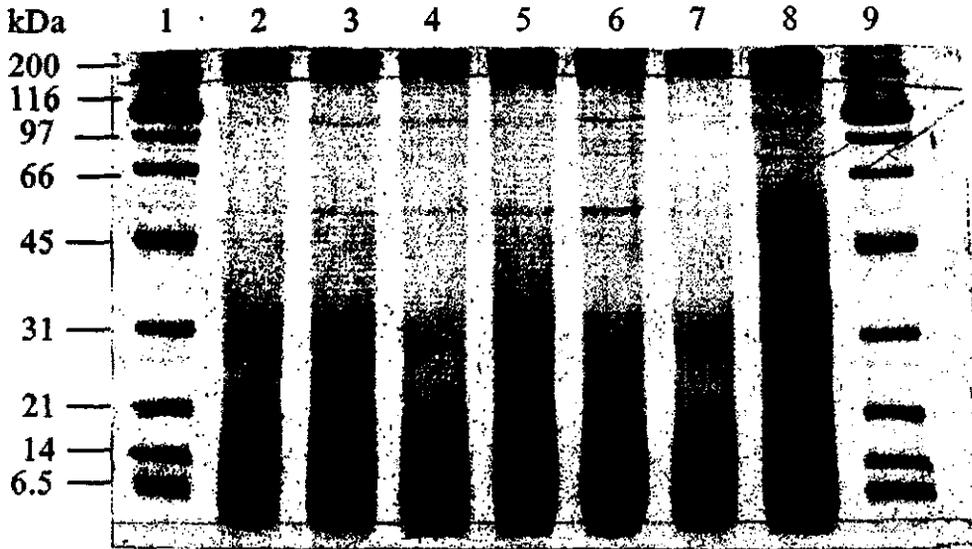


Figura 5 Electroforesis en gels de policrilamida al 10% (SDS-PAGE), se extrajeron las proteínas totales de las células de plancton recolectadas en el lago de Xochimilco y sometidas a diferentes temperaturas, Carril 1, marcadores de peso molecular carril 2, temperatura ambiente (20-25°C), carril 3, 10°C/2 hrs, carril 4, 30°C/2 hrs., carril 5 40°C/2 hrs., carril 6, 10°C/4hrs., carril 7, 30°C/4hrs., carril 8, 40°C/4hrs, carril siguiente, marcadores de peso molecular estándar.

CONCLUSIONES

- Los lagos de Chapultepec y Xochimilco se caracterizaron por sus elevadas concentraciones de nutrimentos y su baja penetración de luz, principales características de los lagos eutróficos.
- Los organismos fitoplácticos predominantes en los dos sistemas acuáticos fueron Cianofitas (*Microcystis*) y Clorofitas (*Scenedesmus*).
- De acuerdo a las altas concentraciones de clorofila "a" presente, se observó un florecimiento algal en los dos sistemas acuáticos y en todos los periodos de muestreo.
- Los organismos estresados termicamente mostraron una ligera disminución en la concentración de clorofila "a".
- No se encontró relación entre la concentración de carbohidratos y las condiciones de estrés analizadas.
- La exposición de los organismos de ambos lagos a 40°C durante cuatro horas presentaron un notable aumento en la concentración de proteínas siendo evidente la relación causa efecto.
- En los organismos expuestos a 10°C durante cuatro horas se inhibió la síntesis proteínas.

- Las proteínas de estrés aumentaron su concentración de acuerdo al tiempo de exposición térmica.
- Los cuerpos acuáticos urbanos en su naturaleza están estresados ya que presentan proteínas consideradas como de estrés.
- Los organismos pláncnicos de los lagos de Chapultepec y Xochimilco conservan la capacidad de respuesta a estresores ambientales

Se recomienda realizar estudios de este tipo con organismos de laboratorio de una sola especie o en especies por separado, para poder observar claramente este comportamiento, ya que en comunidad no se aprecia si la respuesta es de una población o del grupo de poblaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo 1985. Programa de reintegración ecológica del Bosque de Chapultepec. D.D.F. Delegación Miguel Hidalgo. México
- Alcocer J. 1986a. Situación actual del lago de Chapultepec En: Memorias del Simposio de la ciudad de México: hoy y mañana. UNAM. México.
- Alcocer J. 1986b. Chapultepec: una reminiscencia de México. En Memorias del Primer Simposio Internacional sobre áreas protegidas en México. UNAM-SEDUE-CONACyT. México pp 51
- Alcocer J., 1986c Una gota en el desierto de asfalto. El lago viejo de Chapultepec. En: Memorias de VI Coloquio de investigación en ciencias de la salud, el medio ambiente y la educación. UNAM-SEDUE. México. pp 51.
- Alcocer J. y Kato. 1987a. Evaluación de la restauración de un lago eutrófico mexicano. En: Memorias del Curso y Simposio sobre biología de la contaminación. AMICA, SAS. UNAM. México. pp 79.
- Alcocer J. y Kato. 1987b Análisis textural y contenido de materia orgánica de los sedimentos del lago de Chapultepec, México. En: memorias del VIII Coloquio de investigación, UNAM. México.

- Alcocer J. 1988. Estudio preliminar del efecto del grado sobre el estado trófico del Lago Viejo de Chapultepec. *Contaminación Ambiental*, 4: 35-56.
- Alvarez. O., Palacios, B.A. 1989. Las proteínas de choque térmico. Su importancia Clínica. *Rev. Invest. Clin.* 43:195-201.
- Ashburner, M., Bonner, J. 1979. The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock. (Review). *Cell* 17: 241-254.
- Barlow, R. 1980. The biochemical composition of phytoplankton in an upwelling region off South Africa. *Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 45:83-95.
- Bidwel, R.G. 1979. Fisiología vegetal. AG Editores 2a ed. México. pp 784
- Botero, C. 1992. Proteínas de choque térmico. Tesis de Especialización en bioquímica clínica, Edificio E del Anexo de posgrado de Química. UNAM pp 120
- Bradley B.P., 1990 Stress proteins: Their detection and uses in biomonitoring, aquatic toxicology and risk assessment: Thirteenth , volume ASTM STM 1096 W. G. Landis and W.H. Vander Schalie Eds. American Society For Testing and Materials, Philadelphia, pp 338-347
- Carper, S. W. Duffy, J.J., Gerner, E. W. 1987. Heat-shock proteins in thermotolerance and other cellular process. *Cancer Res.* 47:5249-55.

- Craig, E.A. 1985. Crit. The shock response. *Crit. Rev. Biochem.* 18: 239-280.
- Daniels, C.J., Mckee, A. H. Z., Doolittle, W.F. 1984. Archaeobacterial heat shock proteins. *EMBO J.* 3:745-49.
- Daskal, Y. Smetana, K., Busch, h. 1980. Evidence from studies on segregated nucleoli that nucleolar silver staining proteins C23 and B23 are in the fibrillar component. *Exp. Cell Res.* 127:285-91.
- Díaz. Z. 1995 *Bioquímica, Interamericana 2a Ed México.* pp 750.
- Dubois, M; Gille; Hamilton, Rebers and Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28 No 3
- Ellis, R.J. 1987 Proteins as molecular chaperones. *Nature* 332:776-777.
- Ellis, R. J. Van der vies S. M. And Hemmingsen S.M. 1989. The molecular chaperones concept. *Biochemical soc. Symp.* 55:145.
- Finley, D., Crechanover, A., Varshavsky, A. 1984. Thermolability of ubiquitin-activating enzyme from mammale response. *Immunology Today* 11:129-135

- Flores, G.C. 1980. Variaciones estacionales en la composición florística del fitoplancton de los canales de Xochimilco, D.F. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN. México D.F. 56p.
- Gaidner R.J. & Osborne B.A. 1992. Algal photosynthesis. Ed. Chapman and Hall. New York. pp. 256
- Gante, A.M., Cooper, D.N., Hall, C., Leung, T.K.C., Solomon, E., Lim, L. 1987. Localization of a human heat shock HSP70 gene sequence to chromosome 6 and detection of two other loci by somatic-cell hybrid and restriction fragment length polymorphism analysis. *Hum. Genet.* 75:123-28.
- García, E. 1981. Modificación al sistema de clasificación de Koppen. Inst. de Geografía UNAM.
- Hutchinson, G.E., 1975 A treatise on limnology,. Vol. 1(b). Ed John Wiley and Sons. USA pp. 1015
- Jamrich. H., Greenkf, A. L. and Bautz, E.K.F. 1977 Localization of RNA polymerase in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:2079-2083.
- Jáuregui, E.1990. Effects of revegetation and artificial water bodies on the climate of northeast city. *Energy and buildings* 15-16:447-455

- Kaufmann, S.H.E. 1990. Heat-shock proteins: a missing link in the host-parasite relationship?. *Med Microbiol. Immunol.* 179:61-66.
- Lechuga-Devéze, C., Ayala-Rocha, B., Gárate-Lizárraga, Y. 1989a.
Proteínas, carbohidratos y clorofila a en tres diferentes ambientes oceánicos: Mar de Portugal, Golfo de California y NW de Baja California Sur. *An. Inst. Cien. del Mar y Limnol. UNAM.*, 16(1): 147-156 México
- Lechuga-Devéze, C.; Bustillos Guzmán, J. López-Cortés, D. 1989b.
Proteínas y carbohidratos de la materia orgánica particulada fotosintética y no fotosintética en la costa occidental de Baja California Sur, México. 16(2): 147-156 México
- Lewis, M.J., Pelham, H. R. 1986. Involvement of ATP in the nuclear and nucleolar functions of the 70Kd heat shock protein. *EMBO J.* 4: 3137-3143.
- Lindquist, S. 1986. The heat-shock response. *Ann Rev. Biochem.* 55: 1151-1191.
- Lindquist, S. and Craig, E. A. 1988. The heat-shock proteins. *Ann. Rev. Genet.* 22:631-677
- Margalef, R. 1976 *Ecología*, Omega, Barcelona pp 951

- Margalef, R. 1980. La biosfera, entre la termodinámica y el juego. Omega, Barcelona, 236 p.
- Margalef, R. 1983. "Limnología". Ed. Omega. Barcelona, España. pp 1010.
- Michel A. M. & Key L. J. 1987. "Synthesis of the low Molecular Weight Heat Shock Proteins in Plants" *Plant Physiol.* 84:1007-1017.
- Molina-Enríquez, M.J. 1979. Algunos aspectos del deterioro ambiental en el bosque de Chapultepec. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias. UNAM, 58p.
- Moss, B. 1980. Ecology of fresh waters. Blackwell Sci. Publ. pp 332.
- Needham, J.G., Needham P.R., 1972. Los seres vivos de las aguas dulces. Ed. Reverté.
- Nover, L., Munshe, D., Neumann, D. 1988. Control of ribosome biosynthesis in plant cell cultures under heat-shock condition. Ribosomal RNA. *Eur. J. Biochem.* 160:297-304.
- Nover, L., & Neumann, D. 1989. "Heat shock and other Stress Response Systems of Plants. Ed. Springe-Verlag: Berlin Heidelberg, New York. pp 155.

- Nover, L. Scharf, K-D 1989. Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and are associated with a specific set of mRNAs. *Molecular and Cellular Biology* 9(3): 1298-1308.
- Pérez, 1985. Evaluación de la variación biométrica de 2 poblaciones de *Cabarellus montezumae* (Sussure 1857), en la Goleta, Estado de México y Chapultepec, D.F. En: memorias de VII Congreso de Zoología. SOMEXZOO. México. pp. 519-532.
- Pater, R; Shewry. and Roger, J. 1996 Protein extraction from plant tissue. In Protein purification protocols. Ed. Shawn Doonan. Humana Press. USA pp 23-112.
- Peterson, G.L. 1977 A simplification of the protein assay method of Lowry *et. al.* which is more generally applicable. *Anal Biochem* 83: 346
- Reynoso-Alvarez A.L. 1986. Estudio del fitoplancton del lago del lago de Xochimilco, D.F. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias. UNAM. pp 108.
- Ritosa, F. 1962. A new purifying pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18: 571-573.
- Ritosa, F. 1964. Experimental activation of specific loci in polytene chromosomes of *Drosophila*. *Exp. Cell. Res.* 35: 601-607.

- Robles 1986. Características fisicoquímicas de los lagos de Chapultepec. En: Memorias del IV curso y Simposio Internacional sobre biología de la contaminación. UNAM-UPN-SEDUE. México. pp 32.
- Rosell, V. A. González H.J., Del Toro A. J. y Galván G. M. 1981. Manual de técnicas de muestreo y análisis de plancton y perifiton. SARH. 3 ed. México.
- Sakshaug, E. 1980. Problems in the methodology of studying phytoplankton. In the physiological Ecology of phytoplankton. Edit. Morris. pp 625.
- Sámamo, B.A. 1933. Algunas cianofíceas del lago de Xochimilco. *An.Inst. Biol. UNAM.* 4:29-31. México.
- Schwoerbel, J. 1975. Métodos de hidrobiología. Ed. blume. Madrid. pp 262.
- Strickland and Parson T.R. 1977. A practical hanbook of seawater analysis. Sec. Ed. Edit. Minister of Supply and Services.
- Thirunavukkarasu V., Arumugham G. and Kuppamuthu D. 1987. Heat Shock response in *Chorella protothecoides*. *Plant. Cell. Physiol.* 28(6):975-985.
- Tissieres, A., Mitchell, H.K., Tracey, U.M. 1979. Protein synthesis in salivary glands of *D. melanogaster*. Relation to chromosome puffs. *J. Mol. Biol.* 84: 389-398.

- Thurston, R.V. Ruso, R.C.; Felterolf, C.N. 1979. A review of the EPA. Red book. Quality critery for water. Water quality section. American Fisheries Society, Bethesdan. Maryland pp 313.
- Vanbogelen, R.A., Neidhardt, F.C. 1990. Ribosomes as sensors of heat and cold shock in *Escherichia coli*. 1990. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 5589-5593.
- Villalobos, G. G; Fernández A..M. y Velasco H.G.1982. El sistema hidráulico del Distrito Federal, D.D.F. México.
- Welch, W. J. and Feramisco, J.R. 1984. Nuclear and nucleolar localization of the 72.00 Da heat shocked mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 259: 4501-4513.
- Welch, W. J. Mizzen, L. A. 1988. Characterization of the thermotolerant cell. II Effects on the intracellular distribution of hsp70, intermediate filament, and small nuclear ribonucleoprotein complexes. *J. of Cell Biol.* 106:1117-1130.
- Welch, W., Mizzen LA, Arrigo AP. 1989. Stress-induced proteins. *Mol. Cell. Biol.* 96:187-202.
- Wetzel, R.G. and Likens, E. L. 1991. Limnological analysis. 2d. Edit. Springerkerlag U.S.A.

White, A. 1983 Principios de bioquímica, 6a edición McGraw-Hill México.
pp1582

Yost, H.J., Lindquist, S. 1986. RNA splicing is interrupted by heat shock proteins synthesis. *Cell* 45:185-193.

Young, R.A. Ellinoit, T.J. 1989. Stress proteins, Infection and Immune Surveillance. *Cell* 59: 5-8.

ANEXO I

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

Las muestras se liofilizaron por 72 horas a temperatura de -240°C (Lyophilisateurs RP2V) para eliminar el contenido de agua, e iniciar el rompimiento de células.

La pastilla se congeló en nitrógeno líquido y maceró en un mortero de porcelana, para el rompimiento de células, la proteína se extrae con regulador TRIS-HCl pH 8.5 (1 ml). El extracto se centrifuga a 15000 rpm por 10 minutos a 4°C . Con el sobrenadante se determina proteína por Lowry.

Lowry

Del sobrenadante se toma 250 μl con agitación continua (vortex) se le agrega 250 μl de solución A* y se deja reposar 10 minutos a temperatura ambiente; al término de este tiempo se agrega 125 μl de solución B** con agitación continua y se deja desarrollar la reacción durante 30 minutos (la muestra se torna azul claro); posteriormente se lee la absorbancia a 750 nm. La reacción es estable hasta los 120 minutos.

Este procedimiento se realizó por triplicado y con blanco. Además de preparar una curva patrón con ASB.

Finalmente se calculó la concentración, con una curva de concentración vs absorbancia.

SOLUCIONES

a) Solución CTC (Carbonato de Sodio, Tatrato de Potasio, Sulfato de Cobre. $5H_2O$)

concentraciones finales

Na_2CO_3 10%

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.1%

Tetrato de K 0.2%

b) Solución NaOH 0.8N PM 40

c) Solución SDS (dodecysulfato de sodio) al 10% pesar 10g de SDS y aforar a 100 ml.

*SOLUCIÓN A

Se mezclan volúmenes iguales de CTC, NaOH y SDS en este orden

**SOLUCIÓN B

Reactivo Folin-Ciocalteu-Fenol (marca Sigma) hacer una dilución 1:6 con agua bidestilada. Se prepara antes de desarrollar la reacción. (Paterson, 1977).

ANEXO II

DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS

Las muestras se liofilizaron por 72 horas a temperatura de -240°C (Lyophilisateurs RP2V) para eliminar el contenido de agua, e iniciar el rompimiento de células.

La pastilla se congela con nitrógeno líquido y macera en un mortero de porcelana, para el rompimiento de células, la proteína se extrae con regulador TRIS-HCl pH 8.5 (1 ml.). El extracto se centrifuga a 15000 rpm por 10 minutos a 4°C . Con el sobrenadante se determina carbohidratos por el método de Dubois.

Del sobrenadante se toma 250 μl con agitación continua (vortex) se le agrega 120 μl de Fenol al 5% y se deja reposar 10 minutos a temperatura ambiente; al termino de este tiempo se agrega 720 μl de ácido sulfúrico concentrado con agitación continua y se deja desarrollar la reacción durante 30 minutos. (la muestra se torna naranja); posteriormente se lee la absorbancia a 480 nm La reacción es estable hasta los 120 minutos.

Este procedimiento se realizó por triplicado y con blanco. Además de preparar una curva patrón con Dextrosa.

Finalmente se calculó la concentración con una curva de concentración vs absorbancia.(Dubois *et al* 1956).

ANEXO III**METODO DE ELECTROFORESIS EN GEL****SOLUCIONES MADRE.**

Nota: Se usan las formas básicas libres de Tris y glicina, cuando se trabajan estas soluciones. El termino TRIS-Cl usado en estas formulaciones es una indicación que el pH de la solución es ajustada con HCl.

1.- Solución Monomérica (T 30%, Cbis 2.7)

Acrilamida 58.4g
Bis 1.6g
H₂O a 200ml

La acrinamida es neurotóxica y debe ser manejada con cuidado.

Almacenarse a 4°C en la oscuridad.

2.- Buffer de corrimiento 4X (1.5M Tris-Cl pH 8.8)

Tris 36.3g
H₂O a 200ml

Ajustase a pH 8.8 con HCl

3.- Buffer de gel concentrado 4X (0.5M Tris-Cl pH 6.8)

Tris 3.0g
H₂O a 50ml

Ajustase a pH 6.8 con HCl

4.- SDS al 10%

SDS 50g
H₂O a 500ml

5.-Iniciador (Persulfato de amonio al 10%)

Persulfato de amonio 0.5g
H₂O a 5.0ml

6.-Gel de corrimiento para recubrir (0.375 M Tris-Cl pH 8.8, SDS 0.1%)

Tris 25ml (2)
SDS 1.0ml (4)
H₂O a 100ml

7.-Buffer de tratamiento 2X (Tris-Cl 0.125M pH 6.8, SDS 4%, Glicerol 20%, 2-Mercaptoetanol 10%).

Tris 2.5ml (3)
SDS 4.0 ml (4)
Glicerol 2.0ml
2-Mercaptoetanol 1ml
H₂O a 10ml

Divídase en alícuotas y congele

8.-Buffer de tanque (Tris 0.025M pH 8.3, Glicerol 0.192M, SDS 0.1%)

Tris 12g
Glicerol 57.6g
SDS 40ml (4)
H₂O a 4 litros

El pH de esta solución no necesita ser ajustada

9.-Tinción (Azul de Coomassie R-250 0.025%, Metanol 40%, Ácido acético 7%).

Azul de coomassie R250 0.5g

Metanol 800ml

agitar hasta disolver

Ácido acético 140 ml

H₂O a 2 litros

10.- Solución desteñidora I (Metanol 50%, Ácido acético 10%)

Metanol 500ml

ácido acético 100ml

H₂O a 1litro

11.- Solución desteñidora II (ácido acético 7%, Metanol 5%)

Ácido acético 700ml

Metanol 500ml

H₂O a 10 litros

12.- n-butanol, agua saturada

n-butanol 50ml

H₂O 5ml

TABLA DE PREPARACIÓN

	Gel separador T10%, Cbis 2.7%	Gel concentrados T 4%, Cbis 2.7%
T 30%, Cbis 2.7% (1)	20ml	2.66ml
Buffer (2)	15ml	-----
Buffer (3)	-----	5.0ml
SDS 10% (4)	0.6ml	0.2ml
H2O	24.1ml	12.2ml
Persulfato de amonion (5)	300 μ l	100 μ l
TEMED	20 μ l	10 μ l

PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DEL GEL SEPARADOR

Ensamblar la unidad SE 600 Vertical Slab Gel, usando separadores de 1.5 mm

En un frasco de 125 ml colocar 60 ml de solución de gel separador de acuerdo a la tabla, sin agregar el Persulfato de amonio y TEMED, colocar un magneto.

Tapar el frasco y aplicar vacío por uno minutos en una placa de agitación.

Adicionar TEMED y Persulfato de amonio y mezclarlo sin generar burbujas.

Con una pipeta colocar la solución en los sándwichs a un nivel de 4cm del tope

Adicionar con una pipeta agua para que el gel de acrilamida sea parejo y que permita una buena polimeración.

Quitar el agua

Adicionar un ml de solución (gel de corrimiento) en la superficie (6).

PREPARACIÓN DEL GEL CONCENTRADOR

Verter el líquido de la superficie del gel.

En un frasco de 50 ml mezclar 20 ml de gel concentrador de acuerdo a la tabla, sin agregar el Persulfato de amonio y TEMED colocar un magneto.

Adicionar TEMED y Persulfato de amonio y mezclarlo sin generar burbujas.

Insertar un peine en cada sándwich teniendo cuidado de no formar burbuja debajo de los dientes del peine, ya que el oxígeno puede inhibir la polimerización, causando un disturbio local en la superficie del gel

Adicionar de 1-2 ml de gel concentrador a cada sándwich

Permitir el asentamiento del gel por lo menos media hora

Quitar los peines de los geles en forma recta y hacia arriba para evitar disturbios en los pozos

Enjuagar la superficie de los geles invertir el aparato para secar los pozos y posteriormente enderezar dicho aparato

Combine en partes iguales las muestras de proteínas con Buffer de tratamiento 2X (7) en un tubo testigo.

Poner el tubo en un baño María por 90 seg.

Llenar los pozos con las muestras usando una jeringa de 50 μ l

Ensamblar los sándwichs en la cámara superior.

Llenar la cámara inferior con regulador de tanque.

Ensamblar la cámara inferior con la cámara superior

Llenar la cámara superior con regulador de tanque (8), tener cuidado de no verter el regulador en los pozos de las muestras; porque estas serán lavadas. Si hay burbujas atrapadas de bajo de los sándwichs deshacerlas con una pipeta.

Poner la tapa sobre la unidad y conectarla a la fuente de poder PS 500 XT. El cátodo puede ser conectado a la cámara superior.

Poner la fuente de poder a una corriente constante.

Girar la fuente de poder y ajustar la corriente a 30 mA/1.5mm de grueso del gel. Si se tienen dos geles de 1.5 mm se ajusta la fuente de poder a 60 mA. Al tiene un gel de 1.5 mm y uno de 0.75 mm. puede ser de 45 mA. El voltaje puede ser estándar de 70-80 V., pero será aumentado durante el corrimiento. Conserve una marca de voltaje y flujo de corriente.

Cuando el tinte llega al fondo, al rededor de 5 horas apagar la fuente de poder y apagar los cables.

TEÑIMIENTO Y DESTEÑIMIENTO DE GELES

Desensamblar los sándwichs y poner los geles en el teñidor (9).

Con cuidado mover los geles de dos a cuatro horas en el rotomotor.

Remover los geles y ponerlos en solución destiñidora I (10) Mover por una hora.

Remover los geles y ponerlos en solución destiñidora II (11), mover por una hora.

Para montar los geles se utiliza papel celofán dulce y glicerol.

En un vaso de 5 litros. Colocar 50 ml de glicerol (éste evita que se seque completamente el gel y se quiebre) y 3.5. litros de agua. El papel se baña con ésta solución y se coloca en un cristal evitando que queden burbujas, se colocan los geles y encima se coloca otro papel (evitando que queden atrapadas burbujas). Se colocan con unos broches, en unas molduras de madera. Finalmente estos se dejan en una campana para su secado.

APÉNDICE

A continuación se muestran las tablas que indican la presencia o ausencia de diferencia estadística significativa entre los parámetros y tratamientos.

CLAVES

1= Lago de Chapultepec
2= Lago de Xochimilco

ÉPOCA 1= ÉPOCA DE LLUVIA
ÉPOCA 2= ÉPOCA DE SECAS

TRATAMIENTOS

3= Control
4= 10°C/2h
5= 30°C/2h
6= 40°C/2h
7= 10°C/4h
8= 30°C/4h
9= 40°C/4h

LAGO DE CHAPULTEPEC

Parámetros físicos y químico

. oneway Tagua epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.979999466	1	.979999466	3.97	0.0554
Within groups	7.40000038	30	.246666679		
Total	8.37999985	31	.270322576		

Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 0.0001 Prob>chi2 = 0.992

Comparison of Tagua by epoca (Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	1
2	.35	
	0.055	

. oneway pH epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	2.2049998	1	2.2049998	93.17	0.0000
Within groups	.71000172	30	.023666672		
Total	2.91499997	31	.094032257		

Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 1.9215 Prob>chi2 = 0.166

Comparison of pH by epoca
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	
		1
2	.525	
	0.000	

. oneway no3 epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.008385081	1	.008385081	13.99	0.0011
Within groups	.013187978	22	.000599454		
Total	.021573059	23	.000937959		

Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 0.0545 Prob>chi2 = 0.815

Comparison of no3 by epoca
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	
		1
2	-.037383	
	0.001	

. oneway no2 epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	1.3500e-07	1	1.3500e-07	0.04	0.8341	
Within groups	.000066078	22	3.0036e-06			
Total	.000066213	23	2.8788e-06			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 43.3607$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of no2 by epoca (Bonferroni)	
Row Mean-	Col Mean
	1
2	.00015
	0.834

. oneway nh4 epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	.102298988	1	.102298988	486.06	0.0000	
Within groups	.004630253	22	.000210466			
Total	.106929241	23	.004649097			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.5622$ Prob> $\chi^2 = 0.453$

Comparison of nh4 by epoca (Bonferroni)	
Row Mean-	Col Mean
	1
2	.130575
	0.000

. oneway po4 epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	.007413134	1	.007413134	48.53	0.0000	
Within groups	.003360511	22	.00015275			
Total	.010773644	23	.000468419			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 12.7452$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of po4 by epoca (Bonferroni)	
Row Mean-	Col Mean
	1
2	-.03515
	0.000

CLOROFILA "a"

. oneway clorf trat if lago==1 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	779143.128	6	129857.188	42.73	0.0000	
Within groups	233984.622	77	3038.76133			
Total	1013127.75	83	12206.3584			
Comparison of clorf by trat (Bonferroni)						
Row Mean-						
Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	-214.667					
	0.000					
5	-247.833	-33.1667				
	0.000	1.000				
6	-275.25	-60.5833	-27.4167			
	0.000	0.183	1.000			
7	-311.667	-97	-63.8333	-36.4167		
	0.000	0.001	0.122	1.000		
8	-237.217	-22.55	10.6167	38.0333	74.45	
	0.000	1.000	1.000	1.000	0.017	
9	-292.972	-78.3056	-45.1389	-17.7222	18.6944	-55.7556
	0.000	0.039	1.000	1.000	1.000	0.396

oneway clorf trat if lago==1 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	284567.476	6	47427.9127	23.25	0.0000	
Within groups	71402.1667	35	2040.0619			
Total	355969.643	41	8682.18641			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 25.7369$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of clorf by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	-103.667						
	0.007						
5	-5.83333	97.8333					
	1.000	0.013					
6	-79	24.6667	-73.1667				
	0.096	1.000	0.171				
7	-141.167	-37.5	-135.333	-62.1667			
	0.000	1.000	0.000	0.476			
8	-48	55.6667	-42.1667	31	93.1667		
	1.000	0.837	1.000	1.000	0.022		
9	-256	-152.333	-250.167	-177	-114.833	-208	
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	

oneway clorf epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	91314.3214	1	91314.3214	8.27	0.0047	
Within groups	1369097.39	124	11041.108			
Total	1460411.71	125	11683.2937			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 1.5126$ Prob> $\chi^2 = 0.219$

Comparison of clorf by epoca (Bonferroni)	
Row Mean- Col Mean	1
2	-57.1071
	0.005

CARBOHIDRATOS

. oneway carb trat if lago==1 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	207237.043	6	34539.5071	4.36	0.0008
Within groups	609998.767	77	7922.0619		
Total	817235.81	83	9846.21457		

Bartlett's test for equal variances: chi2(6) = 20.6569 Prob>chi2 = 0.002

Comparison of carb by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	22.4167						
	1.000						
5	60.1667	37.75					
	1.000	1.000					
6	73.0833	50.6667	12.9167				
	1.000	1.000	1.000				
7	78.4167	56	18.25	5.33333			
	0.715	1.000	1.000	1.000			
8	108.683	86.2667	48.5167	35.6	30.2667		
	0.048	0.303	1.000	1.000	1.000		
9	173.75	151.333	113.583	100.667	95.3333	65.0667	
	0.001	0.005	0.104	0.258	0.367	1.000	

. oneway carb trat if lago==1 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	71.8928571	6	11.9821429	7.33	0.0000	
Within groups	57.2083333	35	1.63452381			
Total	129.10119	41	3.14880952			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 13.6970$ Prob> $\chi^2 = 0.033$

Comparison of carb by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	-.333333						
	1.000						
5	.666667	1					
	1.000	1.000					
6	3.08333	3.41667	2.41667				
	0.004	0.001	0.050				
7	1.83333	2.16667	1.16667	-1.25			
	0.377	0.123	1.000	1.000			
8	-.166667	.166667	-.833333	-3.25	-2		
	1.000	1.000	1.000	0.002	0.218		
9	2.66667	3	2	-.416667	.833333	2.83333	
	0.020	0.005	0.218	1.000	1.000	0.010	

. oneway carb epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	16888.7659	1	16888.7659	2.56	0.1120	
Within groups	817364.911	124	6591.65251			
Total	834253.677	125	6674.02941			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 277.5761$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of carb by epoca (Bonferroni)		
Row Mean- Col Mean	1	
2	24.5595	
	0.112	

PROTEÍNAS

. oneway prot trat if lago==1 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	2719639.50	6	453273.25	58.58	0.0000	
Within groups	595762.072	77	7737.16977			
Total	3315401.57	83	39944.5972			

Bartlett's test for equal variances: chi2(6) = 23.0815 Prob>chi2 = 0.001

Comparison of prot by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	142.833						0.003
5	233.417	90.5833					0.000 0.288
6	414.667	271.833	181.25				0.000 0.000 0.000
7	119.833	-23	-113.583	-294.833			0.027 1.000 0.047 0.000
8	360.067	217.233	126.65	-54.6	240.233		0.000 0.000 0.000 1.000 0.000
9	603.556	460.722	370.139	188.889	483.722	243.489	0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000

. oneway prot trat if lago==1 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	1315353.00	6	219225.50	32.68	0.0000	
Within groups	234814.833	35	6708.99524			
Total	1550167.83	41	37808.9715			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 61.9494$ Prob> $\chi^2 = 0.000$
 Comparison of prot by trat

(Bonferroni)

Row Mean-						
Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	39.5					
	1.000					
5	104.667	65.1667				
	0.703	1.000				
6	181	141.5	76.3333			
	0.011	0.106	1.000			
7	58.1667	18.6667	-46.5	-122.833		
	1.000	1.000	1.000	0.287		
8	322.667	283.167	218	141.667	264.5	
	0.000	0.000	0.001	0.105	0.000	
9	535.333	495.833	430.667	354.333	477.167	212.667
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002

. oneway prot epoca if lago==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	189366.921	1	189366.921	4.83	0.0299	
Within groups	4865569.40	124	39238.4629			
Total	5054936.33	125	40439.4906			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.0408$ Prob> $\chi^2 = 0.840$

Comparison of prot by epoca
 (Bonferroni)

Row Mean-	
Col Mean	1
2	-82.2381
	0.030

LAGO DE XOCHIMILCO

Parámetros físicos y químicos

. oneway Tagua época if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	9.44642857	1	9.44642857	7.43	0.0086
Within groups	68.6785714	54	1.2718254		
Total	78.125	55	1.42045455		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.2573$ Prob> $\chi^2 = 0.612$

Comparison of Tagua by época
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean
----- -----	1
2 -821429	
0.009	

. oneway luz época if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	106.150178	1	106.150178	18.63	0.0001
Within groups	307.73537	54	5.69880314		
Total	413.885548	55	7.52519178		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.2655$ Prob> $\chi^2 = 0.606$

Comparison of luz by época
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean
----- -----	1
2 -2.75357	
0.000	

. oneway no3 epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.000191535	1	.000191535	0.03	0.8757
Within groups	.168330103	22	.007651368		
Total	.168521637	23	.007327028		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.7769$ Prob> $\chi^2 = 0.378$

Comparison of no3 by epoca
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	
----- -----		1
2	-0.00565	
	0.876	

. oneway no2 epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.000056734	1	.000056734	6.28	0.0201
Within groups	.000198823	22	9.0374e-06		
Total	.000255556	23	.000011111		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 15.2526$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of no2 by epoca
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	
----- -----		1
2	.003075	
	0.020	

. oneway nh4 epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.006696698	1	.006696698	6.17	0.0211
Within groups	.023893403	22	.001086064		
Total	.030590101	23	.001330004		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 1.4408$ Prob> $\chi^2 = 0.230$

Comparison of nh4 by epoca
(Bonferroni)

Row Mean-	Col Mean	
----- -----		1
2	-0.033408	
	0.021	

. oneway po4 epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.075870023	1	.075870023	3.62	0.0704
Within groups	.461690294	22	.020985922		
Total	.537560317	23	.023372188		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 2.2553$ Prob> $\chi^2 = 0.133$

Comparison of po4 by epoca (Bonferroni)					
Row Mean-	Col Mean	1			
2	.11245				
	0.070				

COLOROFILE "a"

. oneway clorf trat if lago==2 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	925559.224	6	154259.871	18.59	0.0000
Within groups	1161606.10	140	8297.18639		
Total	2087165.32	146	14295.6529		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 12.4182$ Prob> $\chi^2 = 0.053$

Comparison of clorf by trat (Bonferroni)							
Row Mean-	Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	-129.238						
	0.000						
5	-168.524	-39.2857					
	0.000	1.000					
6	-202.381	-73.1429	-33.8571				
	0.000	0.216	1.000				
7	-192.19	-62.9524	-23.6667	10.1905			
	0.000	0.561	1.000	1.000			
8	-162.762	-33.5238	5.7619	39.619	29.4286		
	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
9	-281.048	-151.81	-112.524	-78.6667	-88.8571	-118.286	
	0.000	0.000	0.002	0.123	0.040	0.001	

. oneway clorf trat if lago==2 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	151033.302	6	25172.2169	184.81	0.0000
Within groups	7627.55556	56	136.206349		
Total	158660.857	62	2559.04608		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 49.2141$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of clorf by trat
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	-13.7778 0.319					
5	-31.1111 0.000	-17.3333 0.055				
6	-41.1111 0.000	-27.3333 0.000	-10 1.000			
7	-84.4444 0.000	-70.6667 0.000	-53.3333 0.000	-43.3333 0.000		
8	-30.6667 0.000	-16.8889 0.069	.444444 1.000	10.4444 1.000	53.7778 0.000	
9	-154.778 0.000	-141 0.000	-123.667 0.000	-113.667 0.000	-70.3333 0.000	-124.111 0.000

. oneway clorf epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	9636.5898	1	9636.5898	0.89	0.3459
Within groups	2245826.18	208	10797.2412		
Total	2255462.77	209	10791.6879		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 47.9909$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Comparison of clorf by epoca
(Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	1
2	14.7823 0.346

CABOHIDRATOS

. oneway carb trat if lago==2 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	111943.415	6	18657.2358	1.39	0.2245
Within groups	1885010.48	140	13464.3605		
Total	1996953.89	146	13677.7664		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 1.1520$ Prob> $\chi^2 = 0.979$

Comparison of carb by trat (Bonferroni)						
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	67.8571					
	1.000					
5	42	-25.8571				
	1.000	1.000				
6	13.619	-54.2381	-28.381			
	1.000	1.000	1.000			
7	6.52381	-61.3333	-35.4762	-7.09524		
	1.000	1.000	1.000	1.000		
8	3.2381	-64.619	-38.7619	-10.381	-3.28571	
	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
9	-22.0952	-89.9524	-64.0952	-35.7143	-28.619	-25.3333
	1.000	0.276	1.000	1.000	1.000	1.000

. oneway carb trat if lago==2 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	320985.873	6	53497.6455	4.45	0.0010	
Within groups	673551.556	56	12027.7063			
Total	994537.429	62	16040.9263			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 64.2422$ Prob> $\chi^2 \approx 0.000$

Comparison of carb by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	44.4444						
	1.000						
5	-12.2222	-56.6667					
	1.000	1.000					
6	-41	-85.4444	-28.7778				
	1.000	1.000	1.000				
7	143.778	99.3333	156	184.778			
	0.155	1.000	0.080	0.015			
8	56.2222	11.7778	68.4444	97.2222	-87.5556		
	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
9	160.222	115.778	172.444	201.222	16.4444	104	
	0.064	0.611	0.032	0.006	1.000	1.000	

. oneway carb epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	5613862.66	1	5613862.66	390.33	0.0000	
Within groups	2991491.32	208	14382.1698			
Total	8605353.98	209	41173.9425			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.5608$ Prob> $\chi^2 = 0.454$

Comparison of carb by epoca (Bonferroni)	
Row Mean- Col Mean	1
2	356.789
	0.000

PROTEÍNAS

. oneway prot trat if lago==2 & epoca==1, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	3209941.41	6	534990.236	49.30	0.0000	
Within groups	1519205.90	140	10851.4707			
Total	4729147.32	146	32391.42			

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(6) = 9.3876$ Prob> $\chi^2 = 0.153$

Comparison of prot by trat (Bonferroni)							
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8	
4	97.3333						
	0.062						
5	178.143	80.8095					
	0.000	0.275					
6	298.762	201.429	120.619				
	0.000	0.000	0.005				
7	89.0952	-8.2381	-89.0476	-209.667			
	0.133	1.000	0.134	0.000			
8	283.667	186.333	105.524	-15.0952	194.571		
	0.000	0.000	0.027	1.000	0.000		
9	469.857	372.524	291.714	171.095	380.762	186.19	
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

. oneway prot trat if lago==2 & epoca==2, bonferroni

Analysis of Variance						
Source	SS	df	MS	F	Prob > F	
Between groups	5329673.56	6	888278.926	98.04	0.0000	
Within groups	507387.333	56	9060.4881			
Total	5837060.89	62	94146.1434			

Bartlett's test for equal variances: chi2(6) = 31.3878 Prob>chi2 = 0.000

Comparison of prot by trat (Bonferroni)						
Row Mean- Col Mean	3	4	5	6	7	8
4	49.7778 1.000					
5	200.667 0.001	150.889 0.029				
6	302.222 0.000	252.444 0.000	101.556 0.578			
7	16.3333 1.000	-33.4444 1.000	-184.333 0.003	-285.889 0.000		
8	480.444 0.000	430.667 0.000	279.778 0.000	178.222 0.004	464.111 0.000	
9	867 0.000	817.222 0.000	666.333 0.000	564.778 0.000	850.667 0.000	386.556 0.000

. oneway prot epoca if lago==2, bonferroni

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	119954.649	1	119954.649	2.36	0.1259
Within groups	10566208.2	208	50799.0779		
Total	10686162.9	209	51129.9658		

Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 27.2804 Prob>chi2 = 0.000

Comparison of prot by epoca (Bonferroni)	
Row Mean- Col Mean	1
2	-52.1542 0.126