



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**BIOENSAYOS CON *Allium cepa* PARA EL MONITOREO DE
GENOTOXICIDAD EN EL ACUÍFERO DE YUCATÁN**

TESIS

**QUE PARA OBTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
(Química Acuática)**

PRESENTA:

LOREMY YEHUDÍ CAUICH SUÁREZ

TUTOR(A) O TUTORES PRINCIPALES:

**Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán**

COMITÉ TUTOR:

**Dra. Elsa Noreña Barroso
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán
Dra. María Patricia Guadarrama Chávez
Facultad de Ciencias, UMDI Sisal, Yucatán
Dra. Flor Árcega Cabrera
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán
Dr. Miguel Betancourt Lozano
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Mazatlán**

Sisal, Yucatán, México, noviembre 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



BIOENSAYOS CON *Allium cepa* PARA EL MONITOREO DE
GENOTOXICIDAD EN EL ACUÍFERO DE YUCATÁN

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
(Química Acuática)**

PRESENTA:

LOREMY YEHUDÍ CAUICH SUÁREZ

TUTOR(A) O TUTORES PRINCIPALES:

**Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán**

COMITÉ TUTOR:

**Dra. Elsa Noreña Barroso
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán
Dra. Patricia
Facultad de Ciencias, UMDI Sisal, Yucatán
Dra. Flor Árcega Cabrera
Facultad de Química, Unidad de Química en Sisal, Yucatán
Dr. Miguel Betancourt Lozano
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Mazatlán**

Sisal, Yucatán, México, noviembre 2022

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de tan honorable institución.

En segundo lugar, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por brindarme la beca que me permitió realizar mis estudios de maestría.

Al proyecto UNAM-DGAPA-PAPIIT IN203321 “C-BOYA: Ciencia Ciudadana utilizando el BiOensayo con *Allium cepa* en Yucatán para la evaluación de la genotoxicidad del Agua subterránea” por el financiamiento de este trabajo.

A la Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes que me brindó la confianza desde el primer momento para poder trabajar con ella. Por su paciencia al explicarme las cosas y por motivarme a aprender cada día un poco más.

A la Dra. Elsa Noreña Barroso que siempre que lo necesité estuvo con la mejor disposición para compartirme su conocimiento y proporcionarme su ayuda.

A la Dra. Patricia Guadarrama, Dra. Flor Árcega y Dr. Miguel Betancourt miembros de mi comité tutorial. Agradezco el tiempo brindado a la revisión de este proyecto y las aportaciones hechas para enriquecerlo.

A las personas que durante el proceso estuvieron apoyándome con sus palabras y acciones.

A mis familia y amigos. Una dedicatoria especial para mi sobrina Ángela Sofía.

ÍNDICE GENERAL

1	RESUMEN.....	1
2	ABSTRACT	3
3	INTRODUCCIÓN.....	4
4	ANTECEDENTES.....	5
4.1	Acuífero de Yucatán	5
4.2	Contaminación del acuífero	6
4.3	Genotoxicidad.....	10
4.4	Bioensayos con <i>A. cepa</i> para la evaluación de genotoxicidad	13
5	JUSTIFICACIÓN	16
6	HIPÓTESIS.....	16
7	OBJETIVOS.....	17
7.1	Objetivo general	17
7.2	Objetivos específicos	17
8	ZONA DE ESTUDIO	18
8.1	Sierra Papacal.....	19
8.2	Chuburná	20
8.3	Tetiz	20
8.4	Hunucmá.....	21
8.5	Sisal	21
9	MATERIALES Y MÉTODOS	23
9.1	Bioensayos con <i>Allium cepa</i>	23
9.2	Preparación y tinción de las muestras para análisis microscópico	24
9.3	Muestreo	24
9.4	Cuantificación de los contaminantes	25
9.4.1	Plaguicidas	25
9.4.2	Nutrientes	27
10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
11	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32

11.1	Parámetros fisicoquímicos.....	32
11.2	Contaminantes.....	39
11.2.1	Nutrientes	39
11.2.2	Plaguicidas organoclorados y cafeína	45
11.2.3	Hidrocarburos policíclicos aromáticos	62
11.3	Largo de raíz, índice mitótico y aberraciones nucleares	71
12	CONCLUSIONES.....	79
13	REFERENCIAS	81
14	ANEXOS.....	91
14.1	Anexo 1. Parámetros fisicoquímicos medidos <i>in situ</i> en septiembre y octubre de 2021. 91	
14.2	Anexo 2. Cuantificación de nutrientes en septiembre y octubre de 2021.....	92
14.3	Anexo 3. Cuantificación y límites de detección de plaguicidas y cafeína en septiembre y octubre de 2021. Valores expresados en ng/L.	93
14.4	Anexo 4. Cuantificación y límites de detección de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) en septiembre y octubre de 2021. Valores expresados en ng/L.	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Acuífero Península de Yucatán (señalado en contorno azul) (CONAGUA, 2022)....	5
Figura 2. Estructura de los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Reizer, 2022).	8
Figura 3. Escala de tiempo contra nivel de organización biológica en la aparición de efectos toxicológicos causados por contaminantes (Wang, 2019).	13
Figura 4. <i>Allium cepa</i> (cebolla común).....	14
Figura 5. Ubicación de los pozos empleados en el estudio (globos azules) (Google Earth, 2022).....	19
Figura 6. Pozo SP-Chuburná ubicado en la zona de ciénega con manglar a su alrededor, donde se puede observar abundante basura (Fotografía tomada por Loremy Cauch en septiembre de 2021).....	20
Figura 7. Pozo perteneciente a la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENEMECA) de la CONAGUA (Fotografía tomada por Loremy Cauch en septiembre de 2021).....	21
Figura 8. Diagrama general de diseño experimental.	23
Figura 9. División de los sitios de muestreo por zonas de acuerdo a su distancia de la costa para el análisis multivariado (Dentro >10 Km (color rojo); medio 2-10 km (color verde); costa <2 km (color azul).	30
Figura 10. Parámetros fisicoquímicos medidos <i>in situ</i> en septiembre y octubre de 2021. .	33
Figura 11. Sólidos disueltos totales registrados durante el mes de septiembre de 2021. ..	35
Figura 12. Sólidos disueltos totales registrados durante el mes de octubre de 2021.	35
Figura 13. Cuantificación de nutrientes durante el mes de septiembre y octubre de 2021.	39
Figura 14. Análisis de coordenadas principales (PCO) para las variables parámetros fisicoquímicos y nutrientes.	44
Figura 15. Plaguicidas y cafeína detectados en septiembre de 2021.	46
Figura 16. Plaguicidas y cafeína detectados en octubre de 2021.	46
Figura 17. Plaguicidas detectados durante septiembre y octubre de 2021. Los que fueron analizados en total se presentan en la Tabla 4.	48

Figura 18. Distribución de los plaguicidas organoclorados agrupados por isómeros a) HCHs y c) DDTs, organofosforados b) clorpirifos y d) plaguicidas totales. Pozos ordenados de mayor a menor distancia de la costa.	49
Figura 19. Ubicación del Anillo de Cenotes en Yucatán (tomado de Aguilar-Duarte, 2016)	55
Figura 20. Mapa de vulnerabilidad intrínseca del acuífero kárstico yucateco a la contaminación (tomado de Aguilar-Duarte, 2016).	56
Figura 21. Mapa integral de flujos regionales de agua subterránea (Tomado de Bauer-Gottwein, 2011).	57
Figura 22. Cuantificación de cafeína durante el mes de septiembre y octubre de 2021.....	58
Figura 23. Análisis de coordenadas principales de la cuantificación plaguicidas y cafeína en septiembre y octubre de 2021.	60
Figura 24. Resultados de la cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos analizados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.	63
Figura 25. PAHs detectados en septiembre de 2021.	64
Figura 26. PAHs detectados en octubre de 2021.	64
Figura 27. Distribución de los PAHs totales.	67
Figura 28. . Análisis de coordenadas principales de la cuantificación de PAHs en septiembre y octubre de 2021.	69
Figura 29. Fases de la mitosis.	71
Figura 30. Gráfico de caja y bigotes del largo de raíz (cm) en los diferentes sitios de estudio.	72
Figura 31. Gráfico de caja y bigotes del índice mitótico (%).	72
Figura 32. Análisis de coordenadas principales para las variables largo de raíz e índice mitótico.....	73
Figura 33. Análisis de coordenadas principales para las variables nitratos, nitritos, amonio, cafeína y contaminantes totales.	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Listado de estudios recientes realizados en el estado de Yucatán cuyo objetivo ha sido la búsqueda de contaminantes en ambientes acuáticos, animales y seres humanos. ...9	9
Tabla 2. Estudios recientes realizados empleando <i>A. cepa</i> para fines de monitoreo ambiental.....15	15
Tabla 3. Información general de los pozos empleados en el presente estudio.....18	18
Tabla 4. Plaguicidas buscados durante el análisis de análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), se incluye también la cafeína.....26	26
Tabla 5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos buscados durante el análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).27	27
Tabla 6. Reactivos empleados para la preparación de las curvas de calibración.....28	28
Tabla 7. Curvas de calibración para la cuantificación de ortofosfatos, amonio, silicatos y nitritos.28	28
Tabla 8. Curva de calibración para la cuantificación de nitratos.30	30
Tabla 9. Escala de clasificación de calidad de agua subterránea de la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENAMECA).....37	37
Tabla 10. Límites permisibles de fosforo total de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-202141	41
Tabla 11. Límites permisibles de compuestos nitrogenados de acuerdo a normas nacionales e internacionales para agua de uso y consumo humano. Valores expresados como mg N/L.42	42
Tabla 12. Resultados obtenidos de la cuantificación de plaguicidas y límites permitidos en agua para uso y consumo humano. Valores expresados en ng/L.....47	47
Tabla 13. Información general de los plaguicidas detectados.54	54
Tabla 14. Resultados de la cuantificación de PAHs por CG-EM.62	62
Tabla 15. Información general de los PAHs analizados por CG-EM.66	66
bTabla 16. Índices empleados para determinar el origen de los PAHs (Alam, 2014; Zhang, 2008).....66	66
Tabla 17. Límites permitidos para PAHs en agua para consumo humano.....68	68

1 RESUMEN

La única fuente de agua dulce en Yucatán es subterránea, particularmente vulnerable a la contaminación debido al tipo de suelo kárstico característico de la Península. Este suelo es altamente permeable por lo que los contaminantes de la superficie fácilmente pueden alcanzar al agua subterránea. El objetivo de este estudio fue evaluar a través de bioensayos con *Allium cepa* (cebolla común), el probable efecto genotóxico y citotóxico de contaminantes presentes en agua del acuífero de Yucatán. Para lo anterior, se realizó el análisis de siete pozos localizados en la región noroeste del estado, que se emplean con fines de monitoreo de la calidad del agua, durante los meses de septiembre y octubre de 2021. Además de evaluar el efecto del agua en *A. cepa*, se realizó la cuantificación de plaguicidas, hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs), nutrientes y el trazador de contaminación antropogénica cafeína con la finalidad de correlacionarlos con los resultados del bioensayo. Se midieron parámetros fisicoquímicos, destacando el pozo de Chuburná con agua salobre y los de Sierra Papacal, Tetiz, Hunucmá y UNAM-Sisal con agua ligeramente salobre. Los nutrientes evaluados fueron fosfatos, silicatos y los compuestos nitrogenados, amonio, nitritos y nitratos. En el pozo de UNAM-Sisal se sobrepasaron los límites establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 para el amonio y para nitritos en el de SP-Chuburná. Para los plaguicidas e hidrocarburos fue posible detectar su presencia en todos los pozos analizados. Se detectaron los plaguicidas organoclorados hexaclorociclohexano (isómeros alfa, beta, gama y delta), heptacloro, aldrín y DDT (y su isómero DDD) además del plaguicida organofosforado clorpirifos. Aunque en ningún pozo se sobrepasó el límite establecido por la norma tanto para compuestos individuales y totales, todos los compuestos organoclorados detectados se encuentran prohibidos o restringidos en México por su elevada toxicidad y persistencia en el ambiente, por lo que es preocupante su detección. El pozo que presentó la mayor cantidad de plaguicidas fue el pozo de Chuburná en el mes de septiembre con 467.90 ng/L, cercano los 500 ng/L señalado como límite permisible por la Unión Europea. Se detectaron PAHs de dos a seis anillos, con la mezcla del B(b)fluoranteno y B(k)fluoranteno la que se presentó con una mayor concentración de 14.26 ng/L. La concentración de PAHs totales fue bastante similar a lo largo de los sitios con una concentración que osciló entre 9.08-17.44 ng/L. Es de llamar la atención la detección de 2.88 ng/L de benzo(a)pireno en el pozo SP-Chuburná debido a su conocida acción como carcinogénico a humanos. La cafeína se detectó en 6 de los 7 pozo monitoreados con un rango de 5.41-10.21 ng/L, siendo el pozo UNAM-Sisal el único que no lo presentó en ninguno de los meses. El máximo detectado fue en el pozo de Tetiz 10.21 ng/L durante el mes de septiembre. Su detección implica una fuente antropogénica, de manera que otros contaminantes que tengan un comportamiento similar pueden estar llegando al acuífero. De los bioensayos se tomaron los parámetros toxicológicos largo de raíz, índice mitótico y frecuencia de micronúcleos. Durante este estudio no se detectó la presencia de células con aberraciones nucleares. Los análisis multivariados realizados para correlacionar los datos toxicológicos y ambientales no arrojaron diferencias significativas entre los sitios muestreados y los meses. Los análisis de correlación entre variables tampoco arrojaron una interacción. En conclusión, se puede decir que el agua de la zona monitoreada es buena en términos de daño genotóxico y citotóxico en *A. cepa*, a pesar de la detección de

contaminantes en la zona. En futuros bioensayos se plantea utilizar extractos orgánicos de muestras ambientales de agua para poder evitar la posible baja biodisponibilidad del contaminante en una muestra sin previo tratamiento, además de realizar bioensayos con concentraciones conocidas de diversos contaminantes de interés para determinar la sensibilidad de la prueba.

2 ABSTRACT

Groundwater is the only source of drinking water in Yucatan, which is particularly vulnerable to contamination due to its high permeable karstic geology, which is why pollutants on the surface may reach it. This study aimed to evaluate using *Allium cepa* bioassays (common onion) the probable genotoxic and cytotoxic effects of ground water pollutants in the Yucatan aquifer. Therefore, seven wells used for quality monitoring were studied during September and October 2021. Additionally, to evaluate the effect of groundwater in *A. cepa*, quantification of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nutrients and the anthropogenic marker caffeine were made to correlate them with bioassays results. Physicochemical parameters were measured; particularly, Chuburná's well was noticed due to the presence of brackish water; meanwhile, Tetiz, Hunucmá, and UNAM-Sisal contained slightly brackish water. Nutrients measured were phosphates, silicates, and nitrogenated compounds (ammonium, nitrite, and nitrate). UNAM-Sisal well exceeded the limit established by the NOM-127-SSA1-1994 for ammonium.

On the other hand, SP Chuburná exceeded the limit established for nitrites mentioned in the same NOM. Pesticides and hydrocarbons were detected in all wells analyzed. The organochloride pesticides hexachlorocyclohexane (alfa, beta, gamma, and delta isomers), heptachlor, aldrin, and DDT (and its isomer DDD) were detected, and also the organophosphate pesticide, chlorpyrifos. In any case, limits established by the law were exceeded for individual or total compounds. Nevertheless, all organochloride pesticides are forbidden or restricted in Mexico due to their high toxicity and persistency in the environment, the reason why their detection is of concern. Chuburná's well presented the highest amount of pesticides during September with 467.90 ng/L, near the limit established by the European Union of 500 ng/L. PAHs from two to six rings were detected, with the mixture of B(b)fluoranthene and B(k)fluoranthene as the highest with 14.26 ng/L. Total PAHs were similar alongside all wells, with concentrations ranging from 9.08-17.44 ng/L. Detection of 2.88 ng/L of benzo(a)pyrene in the SP-Chuburná well draws attention due to its well-known carcinogenic action on humans. Caffeine was detected in 6/7 monitored wells ranging from 5.41-10.21 ng/L, with the UNAM-Sisal well as the only one in which it was absent in both months. The maximum detected was at the Tetiz well with 10.21 ng/L during September. Its detection suggests an anthropogenic source, meaning that other pollutants with similar behavior may be reaching the aquifer. From the bioassays were taken the toxicologic parameters root length, mitotic index, and micronuclei frequency. During this study, no nuclear abnormalities were detected. Multivariate analyses correlating toxicologic and environmental data did not show significant differences along sampling sites and months. Correlation analysis between variables did not show any interaction. In conclusion, we can say that the water in the evaluated zone has good quality in toxicological terms (genotoxic and genotoxic damage) in *A. cepa*, despite of the pollutant detection in the area. In future bioassays it is suggested to use organic extracts of the environmental samples to avoid low bioavailability, it is also suggested to do bioassays using known concentrations of pollutants of interest to determine test sensibility.

3 INTRODUCCIÓN

El estado de Yucatán carece de corrientes superficiales de agua dulce por lo que su única fuente de abastecimiento de este recurso es el agua subterránea. El tipo de suelo hace que el acuífero, donde se almacena el agua, sea altamente permeable por lo cual es especialmente vulnerable a la contaminación (Durán, 2010; Salik, 2018).

El agua subterránea requiere cumplir estándares de calidad para poder ser empleada como fuente de abastecimiento humano, que consisten en la medición de parámetros físicos, químicos, organolépticos y bacteriológicos. Las normas contemplan la medición de parámetros más no evalúan el efecto de algún contaminante presente en el agua sobre los organismos que puedan entrar en contacto con ella (NOM-127-SSA1-1994).

En Yucatán existen estudios sobre la presencia de contaminantes con posibles efectos genotóxicos como los plaguicidas organoclorados e hidrocarburos policíclicos aromáticos en agua subterránea, animales y en seres humanos. Específicamente los estudios realizados en seres humanos se llevan a cabo una vez que se detecta algún efecto sobre la población, como una mayor aparición de enfermedades como el cáncer (Polanco, 2017; Polanco, 2015). La realización de un biomonitoreo constante sobre el estado de la calidad del agua en términos de compuestos con potencial genotóxico podría identificar de manera temprana el problema y así evitar una mayor afectación en los siguientes niveles de organización biológica (Wang, 2019).

El empleo de *Allium cepa* (*A. cepa*), cebolla común, para la realización de monitoreo ambiental se emplea actualmente en diversas partes del mundo demostrando ser una buena alternativa para la detección temprana de contaminantes con efectos genotóxicos y citotóxicos. Entre las ventajas sobre otras pruebas de genotoxicidad, como la prueba de Ames, se encuentran su bajo costo, rapidez y el hecho de no requerir de una infraestructura compleja (Dimuthu, 2019; Pereira, 2020; OECD, 2016).

Debido a lo anterior se plantea en el presente estudio la evaluación del agua proveniente del acuífero de Yucatán con *A. cepa*, ello con el objetivo de medir un posible efecto genotóxico y citotóxico causado por contaminantes y así poder detectar de manera temprana el daño que puedan causar.

4 ANTECEDENTES

4.1 Acuífero de Yucatán

La Península de Yucatán no cuenta con fuentes de abastecimiento de agua más que subterráneas, contenida en lo que se conoce como acuífero de Yucatán (**Figura 1**). De acuerdo a sus características geológicas el acuífero es considerado de tipo libre y kárstico (Durán, 2010). Se considera libre porque el movimiento del agua se da de zonas donde existe una mayor precipitación (sur del Estado) hacia las costas, dispersándose hacia el noroeste, noreste y norte, lugares donde realiza su descarga natural del agua rumbo a Celestún, Dzilam de Bravo y San Felipe. Y kárstico porque su composición incluye rocas relativamente solubles como dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), evaporita (NaCl) y calizas (dominadas por CaCO_3) lo que resulta en un suelo altamente permeable (Bauer-Gottwein, 2011; Derrien2015; Estrada, 2019). En la **Figura 1** se muestra lo que se conoce como acuífero Península de Yucatán, los límites que se señalan en la imagen son para fines de administración del agua subterránea, siendo este acuífero uno de los 653 existentes en México (CONAGUA, 2022). Aunado a ello, Yucatán tiene un clima húmedo tropical por lo cual presenta una elevada precipitación, sobretodo entre los meses de mayo a octubre (Árcega, 2021). Debido a todo lo anterior, el agua del acuífero presenta una mayor vulnerabilidad a los contaminantes, pues la elevada precipitación se infiltra rápidamente en el suelo altamente permeable resultando en un posible arrastre de los contaminantes que se encuentren en la superficie del terreno (Salik, 2018).

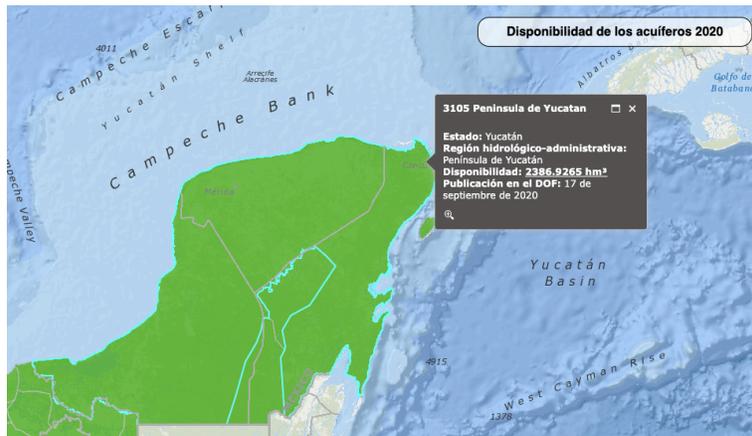


Figura 1. Acuífero Península de Yucatán (señalado en contorno azul) (CONAGUA, 2022)

4.2 Contaminación del acuífero

Algunos de los problemas que resultan en contaminación del acuífero incluyen, que la mayoría de los desechos de tipo doméstico se descargan en el subsuelo por medio de tanques sépticos y pozos someros abandonados, debido a la falta de un sistema de drenaje sanitario. Otra problemática presente, es el vertido directo del agua de la lluvia en pozos de absorción de entre 15-18 metros de profundidad, sin permitir el filtrado natural del agua antes de que pueda llegar al acuífero. El uso de fertilizantes y plaguicidas, intrusión salina y un mal manejo de residuos sólidos también contribuyen al deterioro de la calidad del agua en Yucatán (Durán, 2010).

La Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) es el organismo encargado de preservar las aguas nacionales en México y entre sus funciones se encuentra realizar el monitoreo de la calidad del agua de fuentes superficiales y subterráneas. Lo anterior lo realiza a través de la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENAMECA), encargada de obtener resultados de la calidad del agua en sus 5034 sitios de monitoreo y de difundir la información para que autoridades, usuarios y público en general puedan tomar decisiones sobre el manejo del agua (RENAMECA, 2022).

Entre los indicadores de calidad del agua medidos en esta red de monitoreo se contemplan los siguientes: fluoruros, coliformes fecales, nitrógeno de nitratos, arsénico, cadmio, cromo, mercurio, plomo, alcalinidad, conductividad, dureza, sólidos disueltos totales (SDT), manganeso total y hierro (RENAMECA,2022). De los parámetros contemplados en esta red, no se consideran los plaguicidas, los hidrocarburos o los denominados contaminantes emergentes, de manera que el panorama que se tiene en Yucatán con respecto a la contaminación por estos compuestos se ha realizado gracias al esfuerzo de diversos grupos de investigación como lo señala la **Tabla 1**. La importancia de monitorear estos compuestos se debe a su potencial daño a la salud de los organismos que entran en contacto con ellos. Los plaguicidas organoclorados fueron utilizados por más de 40 años por el sector agrícola, ganadero y de salud en México (Giacoman-Vallejos, 2018) y, a pesar de que hoy en día su uso está prohibido, aún es posible detectarlos en el ambiente debido a su alta resistencia a la biodegradación pues pertenecen al grupo de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) (SEMARNAT, 2015). Su presencia en el ambiente se ha ligado a efectos neurológicos

y enfermedades como asma, malformaciones congénitas, cáncer y alteración endócrina. Estos compuestos tienen una estructura formada de carbono e hidrógeno con un número variable de átomos de cloro (Van Maele-Fabry, 2006; Cohn, 2007; Mustafa, 2010 Manahan, 2010).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos o PAHs, por sus siglas en inglés, al igual que los plaguicidas organoclorados, pertenecen al grupo de los COPs (Reizer, 2022). En su estructura únicamente contienen átomos de carbono e hidrógeno y están conformados por dos o más anillos de benzeno unidos (WHO/IARC, 2005). Su presencia en el ambiente es natural, pues se forman durante la combustión incompleta de materia orgánica como carbón y madera, también pueden ser sintetizados por plantas, bacterias o formarse durante la degradación de materia vegetal, sin embargo, la acción antropogénica ha incrementado la presencia de estos compuestos en el ambiente por el uso de gasolina en los automóviles, aceites en sistemas de calentamiento o accidentes, como derrames petroleros (Abdel-Shafy, 2016).

Los PAHs engloban a más de 400 compuestos más sus ramificaciones, pero desde 1976 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) seleccionó a 16 que son considerados como prioritarios con base a su toxicidad, frecuencia e información disponible al momento (**Figura 2**). Algunos PAHs han sido identificados como carcinogénicos y mutagénicos, además tienden a bioacumularse en los tejidos debido a que son altamente liposolubles (Mojiri, 2019).

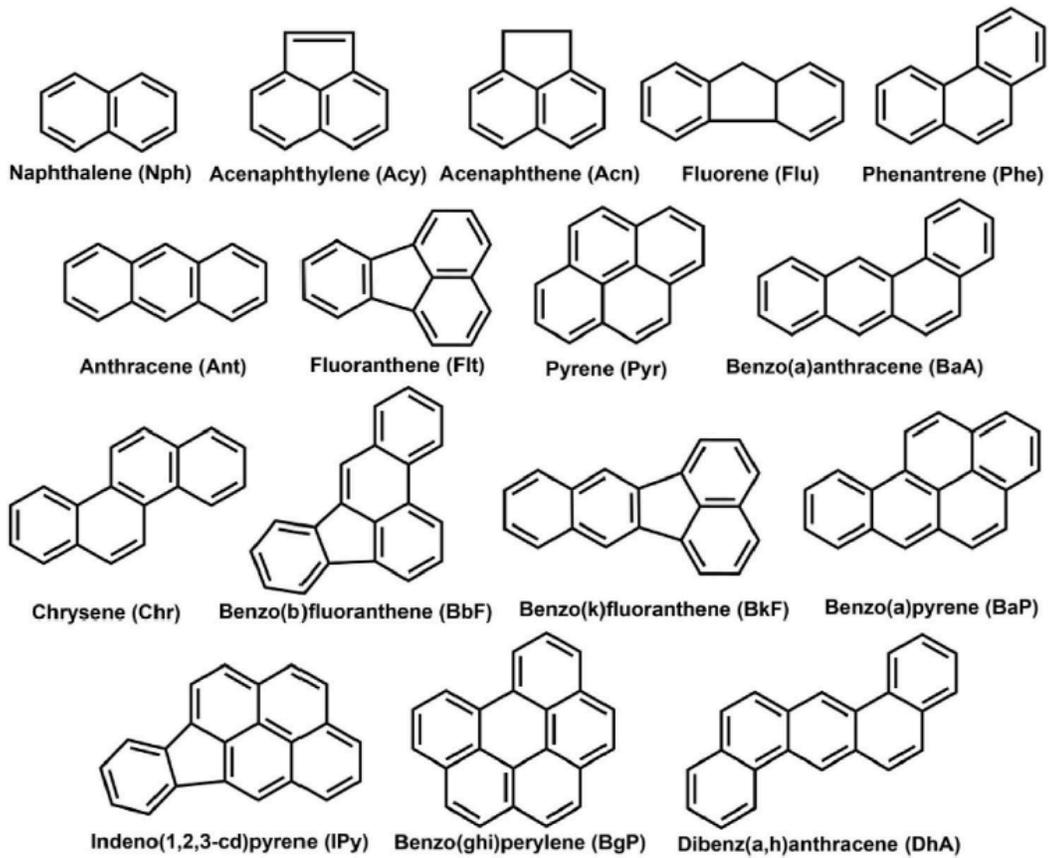


Figura 2. Estructura de los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Reizer, 2022).

Tabla 1. Listado de estudios recientes realizados en el estado de Yucatán cuyo objetivo ha sido la búsqueda de contaminantes en ambientes acuáticos, animales y seres humanos.

Título de artículo	Medio de estudio	Contaminantes detectados	Referencia
Presence of DDT and Lindane in a Karstic Groundwater Aquifer in Yucatan, Mexico	Agua subterránea	DDT , DDD , DDE , a-HCH , b-HCH , d-HCH , g-HCH	Giácoman-Vallejos, G. et. al. 2018
Contamination by organochlorine pesticides in the aquifer of the Ring of Cenotes in Yucatán, México	Agua subterránea	a-endosulfán, b-endosulfan, dieldrín , DDT , DDE , DDD , endrín , endrín aldehído, endosulfán sulfato, DDT , heptacloro , a-lindano, b-HCH , g-HCH , d-HCH.	Polanco, A. et. al. 2015
Spatial distribution of nitrate health risk associated with groundwater use as drinking water in Merida, Mexico	Agua subterránea	Nitratos	Rojas, A. et. al. 2015
Profiles of environmental contaminants in hawksbill turtle egg yolks reflect local to distant pollution sources among nesting beaches in the Yucatan, Peninsula, Mexico	Huevos de tortuga Carey	Bifenilospoliclorados (PBC 101, PCB 110, PCB 201...) Plaguicidas organoclorados (a-HCH, heptacloro, endosulfán II, DDT, endrín...) Hidrocarburos policíclicos aromáticos (pireno, perileno, b(a)pireno, antraceno...)	Muñoz, C y Vermeiren, P. 2018
Monitoring of organochlorine pesticides in blood of women with uterine cervix cancer	Sangre	Endosulfán, aldrín, DDD , hetacloro, endrín aldehído, dieldrín, DDE , a-HCH , g-HCH ...	Polanco, A. et. al. 2017
Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls Levels in Human Milk from Chelem, Yucatán México	Leche materna	Clorobenzenos, a-HCH, b-HCH, d-HCH, g-HCH, a-clordano, g-clordano, heptacloro, heptacloro epóxido, aldrín, dieldrín, endrín, DDE , DDD , DDT , endosulfán II, PCB 44, PCB 8, PCB, 18, PCB 44, PCB, 87 entre otros.	Rodas-Ortíz, J. et. al. 2008

Los contaminantes señalados con negritas indican que fueron detectados por arriba de lo permitido por la NOM-127-SSA1-1994.

Los compuestos nitrogenados (nitrato, nitrito y amonio) son empleados por plantas y animales para poder vivir y crecer. Debido a que el nitrógeno es un elemento nutritivo esencial para las plantas, es ampliamente utilizado en abonos inorgánicos para la producción de alimento, lo cual lleva a su excesivo uso, generando así, un foco de contaminación para el agua subterránea (ATSDR, 2013; Prakasa, 2000). El nitrato es un parámetro importante en cuanto a la calidad del agua y se emplea como un indicador de la vulnerabilidad a la contaminación de agua subterránea (Rojas, 2015). Se ha asociado a problemas de salud como algunos tipos de cáncer y la metahemoglobinemia (Prakasa, 2000).

El fósforo es un elemento esencial para la vida, pues es componente de los ácidos nucleicos y fosfolípidos, además está involucrado en procesos relacionados a la generación de energía (Amare, 2020). En los ecosistemas su principal fuente es la erosión de las rocas, sin embargo, en la actualidad es ampliamente utilizado como fertilizante para diversos cultivos. A pesar de que el fósforo se retiene en gran medida en los suelos, una vez que su capacidad de absorción se excede, el fósforo disuelto en agua (presente como ion ortofosfato, PO_4^{3-}) puede infiltrarse hacia cuerpos de agua como ríos, lagos y acuíferos. (Domagalski, 2012)

El incremento de nutrientes, como compuestos nitrogenados y fósforo, en los ecosistemas puede generar lo que se denomina eutrofización de los cuerpos de agua, ésta se caracteriza por el crecimiento excesivo de plantas y algas, generando la degradación del ambiente acuático mediante cambios en la composición de especies, disminución en la penetración de la luz y generando un ambiente anóxico debido a la degradación de la materia orgánica (Chislock, 2013; Maier, 2009).

4.3 Genotoxicidad

La genotoxicidad es la capacidad de un agente de inducir daño en el DNA y es una característica que pueden poseer los compuestos carcinogénicos, es decir los que pueden inducir la aparición de neoplasia de tipo maligno o cáncer (Baan 2019; Carey, 2020).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) a través del Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS) identifica compuestos químicos que puedan ocasionar daños a la salud y se encuentren presentes en el medio ambiente. De igual

manera, la Organización Mundial de la Salud a través del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) identifica posibles carcinógenos para el ser humano. Ambas instituciones contemplan en sus estudios a los plaguicidas organoclorados y a los hidrocarburos policíclicos aromáticos, debido a su potencial carcinogénico (USEPA, 2021; IARC, 2022).

El daño en el DNA puede generarse a través de varios mecanismos como la ruptura de una o ambas de sus hebras, formación de especies reactivas de oxígeno, generando daño oxidativo o a través de la unión covalente del compuesto genotóxico al DNA. Para la evaluación del daño que pueden generar ciertos compuestos en el material genético, se ha desarrollado lo que se conoce como toxicología genética. Ésta realiza estudios que buscan un daño permanente o no en el DNA y se pueden dividir en estudios *in vitro* e *in vivo*, cada uno puede subdividirse en pruebas de mutaciones en genes específicos o en la búsqueda de anormalidades cromosómicas (Wexler, 2014).

Dentro de las pruebas *in vitro* se encuentra el llamado test de Ames, prueba que detecta mutaciones en bacterias, específicamente en algunas cepas de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, que contienen una mutación que no les permite sintetizar un aminoácido esencial, de manera que la reversión de esta mutación resulta en la restauración en la función del gen y esto es considerado como una prueba positiva de genotoxicidad. Un inconveniente de esta prueba es que al tratarse de células procariontas difieren en factores como metabolismo y estructura del DNA con las células eucariotas, por lo que tiene algunas limitaciones para reflejar el efecto en mamíferos incluyendo a los seres humanos (OECD, 2016).

Otra prueba realizada para evaluar genotoxicidad *in vitro*, son los cultivos celulares empleando células de mamíferos. El fundamento de estas pruebas es la identificación de compuestos químicos que induzcan mutaciones en genes específicos que, a diferencia del test de Ames, inactiva la función del gen en cuestión. Entre las pruebas *in vitro* que evalúan las anormalidades cromosómicas, existen las que determinan directamente aberraciones en los cromosomas, aneuploidías (número anormal de copias de los cromosomas) y la formación de micronúcleos. Pueden realizarse en líneas celulares provenientes de

humanos, roedores, u otros mamíferos. Por ejemplo, la prueba que evalúa la formación de micronúcleos busca compuestos que induzcan la ruptura de los cromosomas y aneuploidía. Los micronúcleos son un tipo de aberración que se forman cuando un fragmento o el cromosoma completo no es capaz de migrar hacia alguno de los polos de la célula durante la anafase, por lo que no se incorpora al núcleo de la nueva célula, quedando por fuera de éste pero siendo mucho más pequeño y de ahí su nombre (OECD, 2016).

Como se mencionó con anterioridad, también es posible realizar pruebas *in vivo* para la evaluación toxicológica de determinados compuestos. Estas pruebas involucran, a diferencia de las anteriores, al organismo completo y vivo, en su mayoría roedores con mutaciones específicas en algún gen. Existen pruebas con animales para la evaluación de aberraciones cromosómicas, una de ellas es la realizada en eritrocitos en la búsqueda de químicos que puedan inducir la formación de micronúcleos en eritroblastos de roedores, o incluso otras especies como perros y primates. También existen pruebas que identifican compuestos capaces de inducir daño genético, a tal grado que pueda causar muerte embrionaria en roedores o inducir cambios en células germinales, que generarán cambios cromosómicos en la progenie del roedor expuesto (OECD, 2016).

La realización de pruebas para la identificación de daño en los primeros niveles de organización biológica (macromolecular y celular) es importante debido a que es de los primeros daños que pueden aparecer en una comunidad, es decir, el efecto es rápido y, por lo tanto, su detección oportuna permitiría ejercer acciones para frenar su avance a niveles de organización mayores (**Figura 3**) (Wang, 2019).

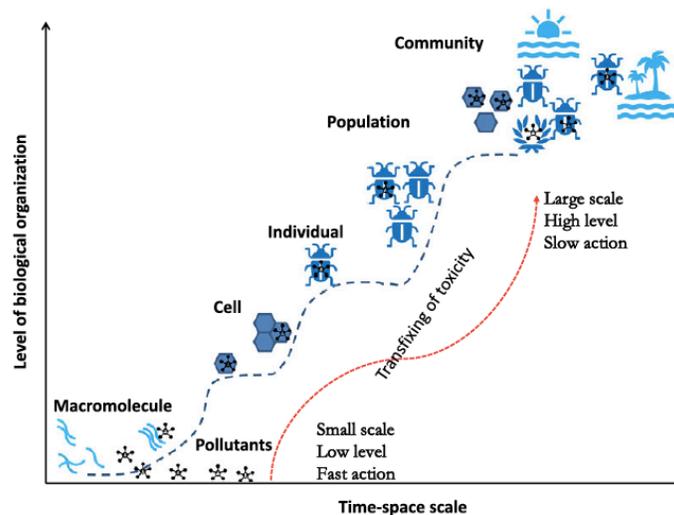


Figura 3. Escala de tiempo contra nivel de organización biológica en la aparición de efectos toxicológicos causados por contaminantes (Wang, 2019).

Las pruebas mencionadas con anterioridad son alternativas eficaces para demostrar la genotoxicidad de compuestos químicos, pero sin duda requieren de infraestructura especializada y de recursos económicos considerables para llevarse a cabo, por lo que su implementación a nivel masivo para llevar a cabo la búsqueda de compuestos genotóxicos de manera rutinaria no es algo viable.

4.4 Bioensayos con *A. cepa* para la evaluación de genotoxicidad

Una alternativa para el monitoreo de compuestos ambientales que pueden ser genotóxicos es el empleo de plantas superiores. Algunas de las que ya se han empleado con anterioridad para este fin son: *Tradescantia paludosa*, *Arabodopsis thaliana*, *Bordeal vulgare*, *Pisum sativum*, *Crepis capillaris*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Glycine max* y *Allium cepa* (Barbério, 2013; Ma, 1999).

Las plantas presentan ventajas en comparación con otros métodos de prueba (cultivos celulares y mamíferos) entre las que se encuentran su bajo costo, sencillez, rapidez, fácil almacenamiento, se pueden emplear para evaluar muestras ambientales con una alta sensibilidad, además han demostrado mantener una buena correlación con las pruebas previamente mencionadas (Morais, 2009; Grant, 1994; Fiskesjo, 1985; Barbério, 2013).

Allium cepa (cebolla común) ha sido descrita como un buen bioindicador de genotoxicidad y citotoxicidad por sus características como, elevada proliferación celular, rápido crecimiento de sus raíces, reducido número de cromosomas de gran tamaño, presencia de mecanismos enzimáticos de activación y, además, es resistente a diferentes condiciones de cultivo, está disponible durante todo el año y es de fácil manejo (Fiskesjo, 1985; Fiskesjo, 1988; Carey, 2020).

El bioensayo con *A. cepa* permite evaluar el daño genotóxico a través de la observación de micronúcleos y aberraciones cromosómicas, además es posible evaluar citotoxicidad a través de la medición del largo de raíz e índice mitótico (Fiskesjo, 1993; Barbério, 2013).

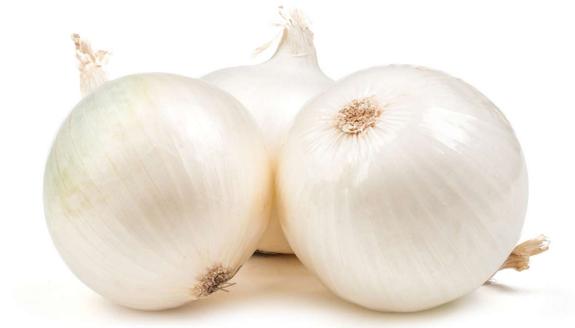


Figura 4. *Allium cepa* (cebolla común).

Este sistema de prueba fue reportado por primera vez en 1938 por Levan, quien evaluó el efecto de la colchicina (un inhibidor de la mitosis) en las raíces (Levan, 1938). En 1985 Fiskesjo lo propuso como un método estándar para el monitoreo ambiental y desde entonces ha sido ampliamente utilizado para este fin. En la **Tabla 2** se señalan algunos estudios que se han realizado empleando *A. cepa* para monitoreo ambiental

Tabla 2. Estudios recientes realizados empleando *A. cepa* para fines de monitoreo ambiental.

Título de artículo	Muestra	Lugar	Referencia
Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effect of <i>Allium cepa</i> L. (Amaryllidaceae) root cells after exposure in water samples of five lakes of Alta Floresta, State of Mato Grosso	Agua de lagos	Brazil	Pereira, L. et. al. 2020
Cytotoxic evaluation of glyphosate, using <i>Allium cepa</i> L. as bioindicator	Concentraciones conocidas de glifosato (5, 10, 15, 25 y 30 mg/L)*	Colombia	Salazar, S. y Quintero, J. 2020
<i>Allium cepa</i> Bio Assay to Assess the Water and Sediment Cytogenotoxicity in a Tropical Stream Subjected to Multiple Point and Nonpoint Source Pollutants	Agua y sedimentos	Sri Lanka	Dimuthu, W. y Wadasinghe, G. 2019
Genotoxicity assessment of three industrial effluents using the <i>Allium cepa</i> bioassay	Agua de desechos industriales	Nigeria	Ibeh, O. y Umeham, N. 2018
Endosulfan: A potential genotoxicant on <i>Allium cepa</i> root tip cells	Concentraciones conocidas de endosulfán (7.8×10^{-6} , 7.8×10^{-5} , 1.56×10^{-4} , 3.12×10^{-4} , 7.8×10^{-4} mg/L)**	India	Tripathy, S. et. Al. 2013
The evaluation of Surface and wastewater genotoxicity using the <i>Allium cepa</i> test	Agua de desechos	Croacia	Radic, S. et. al. 2010
Genotoxic effects of industrial wastewater on <i>Allium cepa</i> L.	Agua de desechos industriales	Turquía	Sik, L, et. al. 2009
Induction of chromosome aberrations in the <i>Allium cepa</i> test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes	Efluente de una planta textil	Brazil	Caritá, R. y Marin-Morales, M. 2008

*Se observaron efectos de disminución del largo de raíz, inhibición del índice mitótico y aparición de anomalías a partir de la concentración más baja.

**Se observaron efectos genotóxicos a partir de la concentración de 7.8×10^{-5} mg/L.

5 JUSTIFICACIÓN

La falta de fuentes superficiales de agua para abastecimiento en el estado de Yucatán, y la naturaleza kárstica del acuífero, hacen especialmente importantes el cuidado del agua subterránea ante su posible contaminación.

La evaluación de la calidad del agua subterránea realizada de manera periódica en Yucatán, no contempla a los plaguicidas organoclorados e hidrocarburos policíclicos aromáticos, que son contaminantes potencialmente genotóxicos, por lo cual se desconoce el estado del agua en estos términos. El conocimiento que se tiene de estos compuestos en el estado se basa en la medición directa de sus concentraciones en muestras ambientales o biológicas, sin embargo, al día de hoy no se cuentan con estudios que evalúen el efecto de éstos provenientes de muestras ambientales.

Si bien existen un gran número de pruebas para medir el efecto genotóxico de los compuestos químicos, en su gran mayoría no son alternativas rápidas y baratas, además requieren infraestructura especializada para su realización.

Una alternativa económica, rápida, sensible y que es utilizada en muchas partes del mundo al día de hoy es el empleo de plantas para realizar pruebas de biomonitorio. *A. cepa* es una excelente alternativa para la evaluación de efectos genotóxicos en muestras provenientes del medio ambiente. Por lo cual se propone en este estudio para realizar bioensayos con el fin de detectar el posible efecto genotóxico y citotóxico de contaminantes presentes en agua del acuífero de Yucatán, y así poder detectar en los primeros niveles de organización biológica un posible daño y detección temprana del mismo.

6 HIPÓTESIS

Será posible medir un efecto genotóxico y citotóxico en *A. cepa* con una posible correlación con las concentraciones medidas de plaguicidas organoclorados, hidrocarburos policíclicos aromáticos, nutrientes y el trazador antropogénico cafeína, encontrando diferencias espaciales y temporales.

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Medir a través de la realización de bioensayos con *A. cepa* el efecto genotóxico y citotóxico generado por la presencia de plaguicidas e hidrocarburos policíclicos aromáticos en agua obtenida de pozos de monitoreo de la calidad del agua del acuífero de Yucatán comparando los resultados de dos muestreos y de diferentes zonas de obtención.

7.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto genotóxico y citotóxico empleando los indicadores largo de raíz, índice mitótico y presencia de aberraciones nucleares (detección de micronúcleos) a través de la realización de bioensayos con *A. cepa* empleando el agua recolectada durante los muestreos de los diferentes pozos.
2. Cuantificar los plaguicidas e hidrocarburos policíclicos aromáticos empleando cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas.
3. Cuantificar cafeína por medio de cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas y los nutrientes en las muestras recolectadas mediante técnicas colorimétricas en microplaca.
4. Realizar un análisis estadístico a fin de correlacionar los resultados toxicológicos (efecto genotóxico y citotóxico) con la cuantificación de los contaminantes y nutrientes.

8 ZONA DE ESTUDIO

Se seleccionaron siete pozos profundos para la recolección del agua y realización de los bioensayos. Todos los pozos empleados en este estudio forman parte de la red de monitoreo del acuífero costero en el noroeste del Estado de Yucatán (RNWY) establecido por el Laboratorio de Ingeniería y Procesos Costeros de la UNAM (LIPC) en conjunto con el Laboratorio Nacional de Resiliencia Costera (LANRESC) (OCS, 2021). Los pozos se emplean para monitoreo del nivel estático del acuífero y de la posición y evolución de la interface salina (Tabla 3 y Figura 5). Todos los pozos seleccionados únicamente son utilizados para monitoreo y no son empleados como fuente de abastecimiento, además, todos cuentan con protección (tapa y candado) a excepción del pozo SP-Chuburná.

Tabla 3. Información general de los pozos empleados en el presente estudio.

Nombre en la RNWY	Identificador del pozo	Ubicación	Coordenadas	Construcción	Distancia a la costa (km)
P4	Tetiz	Nohuayún Municipio: Tetiz	20.9747 N, 89.9689 W	CONAGUA	22.4
SP	Sierra Papacal	Comisaria de Sierra Papacal Municipio: Mérida	21.1228 N, 89.7277 W	CONAGUA	16.5
P8	Hunucmá	Carretera Hunucmá-Sisal Municipio: Hunucmá	21.0776 N, 89.9558 W	LIPC/LANRESC	12
P5	Sisal	Carretera Hunucmá-Sisal Municipio: Hunucmá	21.1205 N, 89.9995 W	CONAGUA	6
B1	SP-Chuburná	Carretera Sierra Papacal- Chuburná Municipio: Progreso	21.2174 N, 89.8285 W	LIPC/LANRESC	3.8
P7a	UNAM Sisal	Sisal Municipio: Hunucmá	21.1630 N, 90.0468 W	LIPC/LANRESC	0.33
B9	Chuburná	Chuburná Municipio: Progreso	21.2505 N, 89.8280 W	LIPC/LANRESC	0.26



Figura 5. Ubicación de los pozos empleados en el estudio (globos azules) (Google Earth, 2022).

8.1 Sierra Papacal

El pozo se encuentra ubicado en Sierra Papacal, una localidad de la ciudad de Mérida ubicada a 32 km al norte de la capital. Colinda con las localidades de Suytunchén y Cosgaya. Su nombre significa “Fango de las Urracas”. De acuerdo a datos obtenidos del ayuntamiento de Mérida la comisaría tiene una población de 1,108 habitantes y cuenta con servicios básicos como agua potable, electricidad, recolección de basura, transporte y alumbrado público. El pozo muestreado se encuentra en el parque principal de la localidad a un costado de la Iglesia Nuestra Señora del Rosario (Ayuntamiento de Mérida, 2022). Este pozo fue construido por la CONAGUA y forma parte de la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENEMECA) (Canul, 2020; CONAGUA, 2022).

8.2 Chuburná

Dos de los pozos (SP-Chuburná y Chuburná) se encuentran ubicados sobre la carretera Sierra Papacal-Chuburná.

Chuburná es un puerto ubicado a 16 km al poniente del municipio de Progreso, que es su cabecera municipal con una población de 53,958 habitantes (Censo de 2010), y ubicado al norte de la ciudad de Mérida. Su nombre significa “lugar donde se inundan las casas”. El pozo SP-Chuburná se encuentra permanentemente abierto, es decir, está expuesto directamente al medio ambiente en una zona de ciénega con abundante basura a su alrededor. El pozo Chuburná se encuentra más cercano a la costa (Gobierno del Estado de Yucatán, 2022).



Figura 6. Pozo SP-Chuburná ubicado en la zona de ciénega con manglar a su alrededor, donde se puede observar abundante basura (Fotografía tomada por Loremy Cauch en septiembre de 2021).

8.3 Tetiz

Se encuentra en la localidad de Nohuyún perteneciente al municipio de Tetiz. Tetiz limita al norte con el municipio de Hunucmá, al sur con Kinchil, al este con Samahil y al oeste con Celestún. Cuenta con una población de 4,725 habitantes. El pozo se encuentra a un costado de una tortillería y cerca de la fosa séptica de ésta (Gobierno del Estado de Yucatán, 2022).



Figura 7. Pozo perteneciente a la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENEMECA) de la CONAGUA (Fotografía tomada por Loremy Cauch en septiembre de 2021).

8.4 Hunucmá

Hunucmá es un municipio ubicado al noroeste de la ciudad de Mérida, colinda al norte con el Golfo de México, al sur con Samahil y Tetíz, al este con Progreso y Ucú y al oeste con Celestún. Entre sus principales localidades se encuentra el puerto de Sisal. Cuenta con una población de 30,731 habitantes (al censo de 2010) (Gobierno del Estado de Yucatán, 2022). Los pozos Hunucmá y Sisal se encuentran a un costado de la carretera Hunucmá-Sisal. El pozo Hunucmá se construyó como parte de un trabajo de doctorado denominado “Dinámica de la interfase salina del acuífero de la costa noreste de Yucatán y escenarios frente al incremento del nivel medio del mar” (Canúl-Macario, 2020), este pozo se encuentra cerca de una granja avícola (Granja Crío).

El pozo Sisal pertenece a la RENEMECA de la CONAGUA y se encuentra a unos metros del pozo que se emplea como fuente de agua para abastecimiento del puerto de Sisal.

8.5 Sisal

Sisal es una localidad perteneciente al municipio de Hunucmá. Se encuentra dentro de la Reserva Estatal El Palmar, reserva que es considerada sitio Ramsar, es decir es un humedal

de importancia internacional, el cual es hábitat del flamenco rosa y dentro de la Reserva Estatal Ciénegas y Manglares de la Costa Norte de Yucatán (Ramsar, 2022; Gobierno de México, 2022; Gobierno de Yucatán, 2022). Este pozo se encuentra dentro del subcampus Sisal de la UNAM y se construyó como parte de un trabajo de doctorado (Canúl-Macario, 2020).

9 MATERIALES Y MÉTODOS

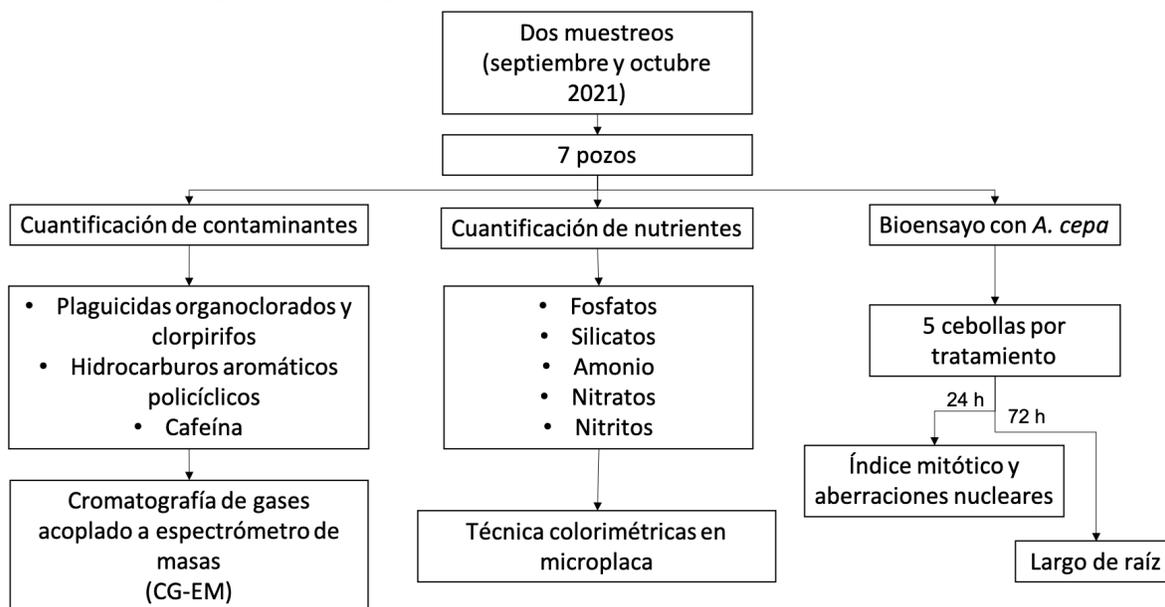


Figura 8. Diagrama general de diseño experimental.

9.1 Bioensayos con *Allium cepa*

Se inició el crecimiento de las raíces en 60 cebollas de tamaños similares y sin crecimiento de hojas. Para esto se removió la parte café inferior del bulbo para dejar expuesto el primordio de la raíz y se puso en contacto con agua destilada por 48 h hasta observar una longitud en las raíces de 1-2 cm. Se seleccionaron las mejores cebollas (5 por tratamiento) con crecimiento similar para, posteriormente, realizar la evaluación de las muestras por un periodo de 72 h con cambios de agua realizados cada 24 h, a fin de evitar contaminación por bacterias u hongos (Fiskesjo, 1985; Radic, 2010).

Terminadas las primeras 24 h de tratamiento se procedió a la recolección de las puntas de raíz de aproximadamente 5 mm para el estudio microscópico independientemente de su largo. Se tomaron 5-6 puntas por cada cebolla y se conservaron en etanol al 70% hasta el momento de su uso. Los bulbos se dejaron por 72 h en el agua de muestreo, para medir el largo de raíz como medida general de toxicidad. Como control negativo se usó agua destilada (Fiskesjo, 1985; Radic, 2010).

9.2 Preparación y tinción de las muestras para análisis microscópico

Se realizó la tinción de cuatro puntas de raíz de manera aleatoria realizando una placa por punta. En primer lugar, se colocó la punta de raíz sobre un portaobjetos aplicando inmediatamente 1 gota de HCl 1N y calentando con la ayuda de un mechero de alcohol para posteriormente dejar reposar por 15 minutos. Pasado el tiempo se enjuagó con agua destilada y se añadió 1 gota de acetocarmín en ácido acético glacial al 45% y se calentó para posteriormente dejar reposar por 1 h. Al término del tiempo se enjuagó con agua destilada y se transfirió la muestra a un portaobjetos previamente preparado con 1 gota de glicerina y con la ayuda de un cubreobjetos se realizó el *squash* de la muestra. Se realizó su sellado con ayuda de esmalte de uñas para poder realizar la lectura de la placa posteriormente. Para obtener el índice mitótico (IM) se contaron 500 células por placa para tener un total de 2000 células por tratamiento. El largo de la raíz se tomó como indicador general de toxicidad (Fiskesjo, 1993) y el índice mitótico para evaluar la citotoxicidad (Morais, 2009).

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{Células en división}}{\text{Total de células contadas}} \times 100$$

9.3 Muestreo

Se realizaron dos muestreos durante la época de lluvias, septiembre y octubre de 2021. Por cada estación de muestreo se recolectaron 2 L de agua (1 L para bioensayo y 1 L para cuantificación de contaminantes) y 30 mL en un frasco ámbar para la cuantificación de nutrientes. Como muestreador se empleó una botella Kemmerer de 1.2 L de acero inoxidable de la marca Wildco. Los parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad, potencial redox, sólidos disueltos totales, temperatura y oxígeno disuelto) se obtuvieron *in situ* empleando una sonda multiparamétrica modelo YSI Exo 1. Las muestras se preservaron en hieleras hasta su traslado a los laboratorios de la Unidad de Química en Sisal (UQS) y posteriormente se conservaron en refrigeración a 4°C hasta su análisis en el Laboratorio de Ciencias Ambientales Costeras de la UQS.

9.4 Cuantificación de los contaminantes

De cada muestra de agua recolectada se cuantificaron plaguicidas organoclorados, clorpirifos, hidrocarburos policíclicos aromáticos, nutrientes y cafeína.

9.4.1 Plaguicidas

Para la determinación de plaguicidas organoclorados, clorpirifos, PAHs y cafeína se empleó extracción en fase sólida utilizando cartuchos Strata X 33 μm de 500 mg/6 mL (Phenomenex, 8B-S100-HCH). Antes de extraer las muestras, los cartuchos se sometieron a un proceso de acondicionamiento haciendo pasar de manera secuencial disolventes de creciente polaridad: 10 mL de acetato de etilo, 10 mL de metanol y 10 mL de agua destilada.

Una vez acondicionado el cartucho, la muestra se atemperó con la temperatura ambiente. Para el proceso de extracción se pasó 1 L de muestra a través del cartucho con un flujo de 10-15 mL/min. Después de pasar la muestra, el cartucho se lavó con 10 mL de agua destilada y posteriormente se secó con vacío durante aproximadamente 120 min. Los cartuchos secos se conservaron envueltos en papel aluminio y en refrigeración a 4°C hasta el momento de proceder al desplazamiento y recuperación de los compuestos de interés.

Los analitos extraídos se desplazaron del cartucho con 15 mL de acetato de etilo en un frasco de 22 mL con 1.5 g de sulfato de sodio.

El disolvente recuperado se evaporó a 60°C con una corriente suave de nitrógeno, hasta un volumen de aproximadamente 1 mL. El concentrado se transfirió a un vial de vidrio de 2 mL con tapa con septum de PTFE/silicón, se evaporó a sequedad con una corriente suave de nitrógeno y posteriormente se reconstituyó con 50 μL de acetato de etilo para su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), con modo de monitoreo selectivo de iones (modo SIM). En la **Tabla 4** y **Tabla 5** se señalan los compuestos que fueron buscados en el análisis.

Tabla 4. Plaguicidas buscados durante el análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), se incluye también la cafeína.

Contaminante	TR	Ion cuantificador	Ion calificador
alfa-HCH	16.958	181	183, 219
beta-HCH	17.969	181	183, 219
gamma-HCH	18.141	181	183, 219
delta-HCH	19.194	181	183, 219
Cafeína	20.01	194	109, 67
Heptacloro	21.284	100	66, 272
Aldrín	23.122	66	91, 263
Clorpirifos	23.735	97	199, 197
Heptacloro epóxido	25.603	353	81, 355
Trans-clordano	27.218	373	375, 377
Endosulfán I	28.042	195	170, 237
Cis-clordano	28.318	373	375, 377
Dieldrín	30.072	79	263, 81
DDE	30.295	246	248, 318
Endrín	31.541	67	281
Endosulfán II	32.198	195	193, 241
DDD	33.038	235	237, 165
Endrín aldehído	33.348	67	345, 347
Endosulfán sulfato	34.623	272	274, 239
DDT	34.968	235	237, 176
Endrín cetona	36.718	67	317, 139
Metoxicloro	37.687	227	274, 152

HCH: hexaclorociclohexano; DDE: diclorodifenildicloroetileno; DDD: diclorodifenildicloroetano; DDT: diclorodifeniltricloroetano.

Tabla 5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos buscados durante el análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

PAH	TR	Ion cuantificador	Ion calificador
Naftaleno (Nph)	10.648	128	129, 127
Acenaftileno (Acy)	16.611	152	151
Acenafteno (Acn)	17.308	154	153
Fluoreno (Flu)	19.304	166	165, 167
Fenantreno (Phe)	22.981	178	179, 176
Antraceno (Ant)	23.16	178	179, 176
Fluoranteno (Flt)	27.625	202	101, 203
Pireno (Pyr)	28.447	202	200, 203
Benzo(a)antraceno (BaA)	33.208	228	229, 226
Criseno (Chr)	33.35	228	229, 226
Benzo(b)fluoranteno (BbF)+ Benzo(k)fluoranteno (BkF)	37.256	252	253, 125
Benzo(a)pireno (BaP)	38.256	252	253, 125
Indenol(1,2,3-cd)pireno (Ipy)	42.697	276	138, 227
Dib(a,h)antraceno (DhA)	42.795	278	139, 279
Benzo(g,h,i)perileno (BgP)	43.829	276	138, 277

9.4.2 Nutrientes

Para la cuantificación de nutrientes se filtró el agua inmediatamente después del muestreo empleando un filtro de 0.22 μm y se resguardaron a -20°C hasta su análisis. Los nutrientes (ortofosfatos, nitratos, nitritos, amonio y silicatos) se analizaron empleando técnicas colorimétricas en microplaca (Ringuet, 2011).

Para la cuantificación de ortofosfatos, amonio, silicatos y nitritos se prepararon soluciones madre de 10 mM y posteriormente se realizaron diluciones para las curvas de calibración. Los reactivos empleados para las curvas de calibración se presentan a en la **Tabla 6**. En la **Tabla 7** se presentan las concentraciones empleadas en las curvas de calibración. Se manejaron triplicados por cada muestra y curvas.

Tabla 6. Reactivos empleados para la preparación de las curvas de calibración.

Solución madre	Compuesto	Fórmula	PM (g/mol)
Ortofosfatos	Fosfato monobásico de potasio	KH_2PO_4	136.09
Amonio	Sulfato de amonio	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132.14
Silicatos	Hexafluorosilicato de sodio	Na_2SiF_6	188.06
Nitritos	Nitrito de sodio	NaNO_2	68.99
Nitratos	Nitrato de potasio	KNO_3	101.09

Tabla 7. Curvas de calibración para la cuantificación de ortofosfatos, amonio, silicatos y nitritos.

Punto	Concentración (μM)
A	100
B	80
C	60
D	40
E	20
F	10
G	5
H	2.5

9.4.2.1 Ortofosfatos

El método para ortofosfatos disueltos se basa en el método de azul de molibdeno de Murphy y Riley (1962). Se preparó una solución de trabajo el día de la cuantificación que contenía los siguientes reactivos en orden de mezclado: 1.5 mL de molibdato de amonio 32 mM, 5.0 mL de ácido sulfúrico 4.9 N, 3.0 mL de ácido ascórbico 100 mM y 0.5 mL de tartrato de antimonio de potasio 4.5 mM. Posteriormente se añadieron 200 μL de muestra por triplicado a una microplaca de 96 pozos y se añadieron 50 μL de la solución de trabajo. Se agitó por 30 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 880 nm.

9.4.2.2 Amonio

La determinación de amonio se basa en el método colorimétrico de azul de indofenol de Koroleff (1976). Se añadieron 200 μL de las muestras, luego 10 μL de citrato de trisodio

dihidratado 16.3 mM, 10 μ L de fenol 404 mM con 1.3 mM de nitroprusiato de sodio y por último 10 mL de una mezcla de 20 μ L de hipoclorito de sodio y 980 μ L de hidróxido de sodio 500 mM. Después de la adición de cada reactivo se agitó por 2 minutos. Se selló la microplaca para mantener en oscuridad por 2 h y por último se leyó a una longitud de onda de 630 nm.

9.4.2.3 Silicatos

El procedimiento miniaturizado para la determinación de silicatos se basa en el método de Strickland y Parsons (1972). Se añadieron 200 μ L de las muestras y seguidamente 20 μ L de molibdato de amonio tetrahidratado 8.1 mM en HCl 0.1 N, se dejó incubando en agitación por 30 minutos. Al finalizar el tiempo se añadieron 20 μ L de ácido oxálico 555 mM y se agitó por 1 minuto, finalmente se añadieron 10 μ L de ácido ascórbico 159 mM y se incubó en agitación por 30 minutos. Se leyó a una longitud de onda de 810 nm.

9.4.2.4 Nitratos y nitritos

La determinación de nitratos y nitritos se basa en el método colorimétrico de Campbell et al. (2006). Para la cuantificación de nitratos y nitritos se siguió un procedimiento similar omitiendo en la cuantificación de nitritos el uso de la enzima nitrato reductasa. Para la cuantificación de nitratos en primer lugar se añadieron 100 μ L de las muestras y posteriormente 50 μ L de la enzima nitrato reductasa (NaR) y se dejó en agitación por 1 h. Luego se añadieron 50 μ L de sulfonilamida 58 mM en 3.6 N de HCl y 50 μ L de NED 3.9 mM (N-(1-Naftil)etilendiamina diclorohidrato). Se dejó en agitación por 10 minutos y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. La solución con NaR se preparó empleando 9 mL de buffer (28 mM de fosfato de potasio monobásico, 25 mM de hidróxido de sodio y 25 mM de EDTA), 1 mL de NaR (1 U/mL) y 0.5 mL de NADH 250 μ mol/mL.

Tabla 8. Curva de calibración para la cuantificación de nitratos.

Punto	Nitratos (mg/mL)
A	5
B	2.5
C	1.65
D	0.625
E	0.3125
F	0

10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística multivariada empleando el programa PRIMER 7. Los sitios de muestreo se agruparon como se señala a continuación para poder realizar los análisis multivariados.

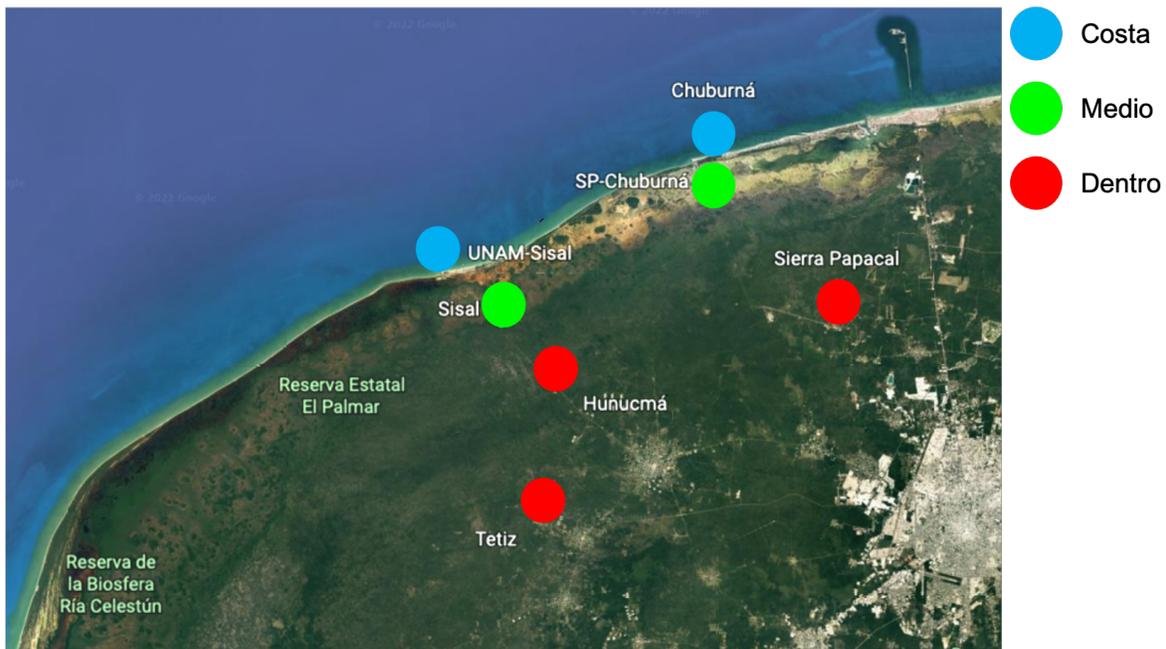


Figura 9. División de los sitios de muestreo por zonas de acuerdo a su distancia de la costa para el análisis multivariado (Dentro >10 Km (color rojo); medio 2-10 km (color verde); costa <2 km (color azul)).

El tratamiento general que se le dio a los datos fue la aplicación de una transformación logarítmica seguido de una normalización. Posteriormente se construyó una matriz de similitudes basada en distancias euclidianas y se prosiguió a elaborar un análisis de

coordenadas principales (PCO). Por último, se aplicó un PERMANOVA utilizando el método de permutaciones no restringidas con 9999 permutaciones.

A las variables índice mitótico, largo de raíz, contaminantes totales (plaguicidas y PAHs), compuestos nitrogenados, cafeína y parámetros fisicoquímicos se les aplicó una correlación de Spearman ($p < 0.05$) para explorar la interacción de estas variables entre sí.

11 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

11.1 Parámetros fisicoquímicos

Las variables fisicoquímicas fueron tomadas *in situ*; ello para caracterizar el pozo donde fue recolectada el agua para la cuantificación de contaminantes, nutrientes y en los bioensayos; (**Figura 10**). Debido a las características propias del pozo UNAM-Sisal (pequeño diámetro del pozo) no fue posible medir las variables fisicoquímicas. Los valores completos de las mediciones se encuentran en el **Anexo 1**.

De acuerdo a la CONAGUA la medición de la calidad del agua subterránea se realiza empleando como referencia los estándares nacionales e internacionales para el agua de consumo, sin embargo, la calidad del agua se mide en la fuente de abastecimiento, es decir, en su condición natural sin tratamiento o potabilización (RENAMECA, 2022).

La temperatura (**Figura 10a**) fue relativamente constante durante ambos meses de muestreo en cada pozo. La máxima temperatura registrada fue de 29.24°C en Chuburná en octubre y la menor fue de 27.28°C en el pozo Sierra Papacal en septiembre. La variación de la temperatura puede deberse a varios factores como la profundidad del pozo y la hora del día a la que se realizó la medición.

El pH (**Figura 10b**) fue, al igual que la temperatura, relativamente constante durante ambos meses de muestreo, el único pozo que presentó un comportamiento diferente en comparación de los demás fue el de SP-Chuburná, esto podría deberse a que la muestra fue recolectada de manera superficial al nivel del suelo y por lo tanto la medición de parámetros fisicoquímicos se llevó a cabo a ese nivel, lo cual explicaría también la concentración de oxígeno disuelto (**Figura 10e**). La NOM-127-SSA1-1994 señala los límites permisibles de pH (6.5-8.5) que debe cumplir el agua para uso y consumo humano, encontrándose que todos los pozos evaluados estaban dentro de este rango.

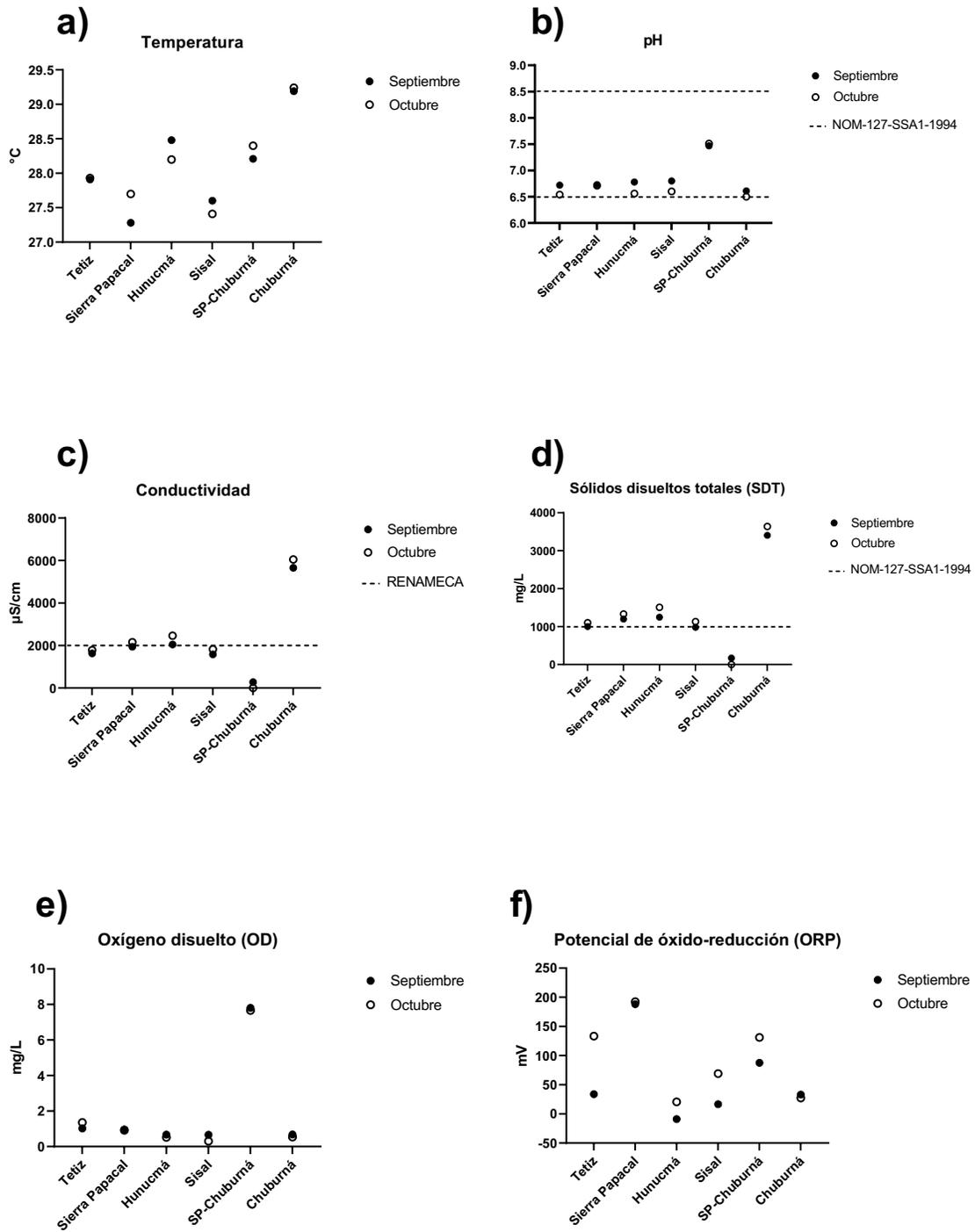


Figura 10. Parámetros fisicoquímicos medidos *in situ* en septiembre y octubre de 2021.

La conductividad (CE) presenta una alta correlación con los sólidos disueltos totales (SDT) (Spearman, $r_s = 0.1$, $p = <0.05$). Estos parámetros frecuentemente se usan para medir la calidad del agua en especial en el área costera pues son indicadores de salinidad. La CE mide la capacidad de un líquido para conducir una carga eléctrica y esta habilidad depende de la concentración de iones disueltos en el líquido, la fuerza de los iones y la temperatura de la medición. La concentración de sólidos disueltos totales describe la presencia de sales inorgánicas (generalmente calcio, magnesio, potasio, sodio, bicarbonato, cloruros y sulfatos y pequeñas cantidades de materia orgánica en el agua) (OMS, 2017). La fuente de estos iones puede ser natural (geológica, agua de mar) o por actividades humanas (desechos domésticos e industriales y agricultura) (Rusydi, 2018). La conductividad eléctrica, al igual que los otros parámetros, varió poco entre los dos meses de muestreo, la mayor se detectó en el pozo de Chuburná (**Figura 10c**). En la **Figura 11** y **Figura 12** se presentan las concentraciones de sólidos disueltos totales registradas durante los dos meses de muestreo. Es posible apreciar un patrón en la distribución de los sólidos disueltos totales con respecto a la cercanía al mar, es decir, una mayor concentración a medida que el pozo se encuentra más cercano a la costa, lo anterior se debe a que el espesor de la capa de agua dulce se hace menor conforme se acerca a ésta (Canul, C., 2020).

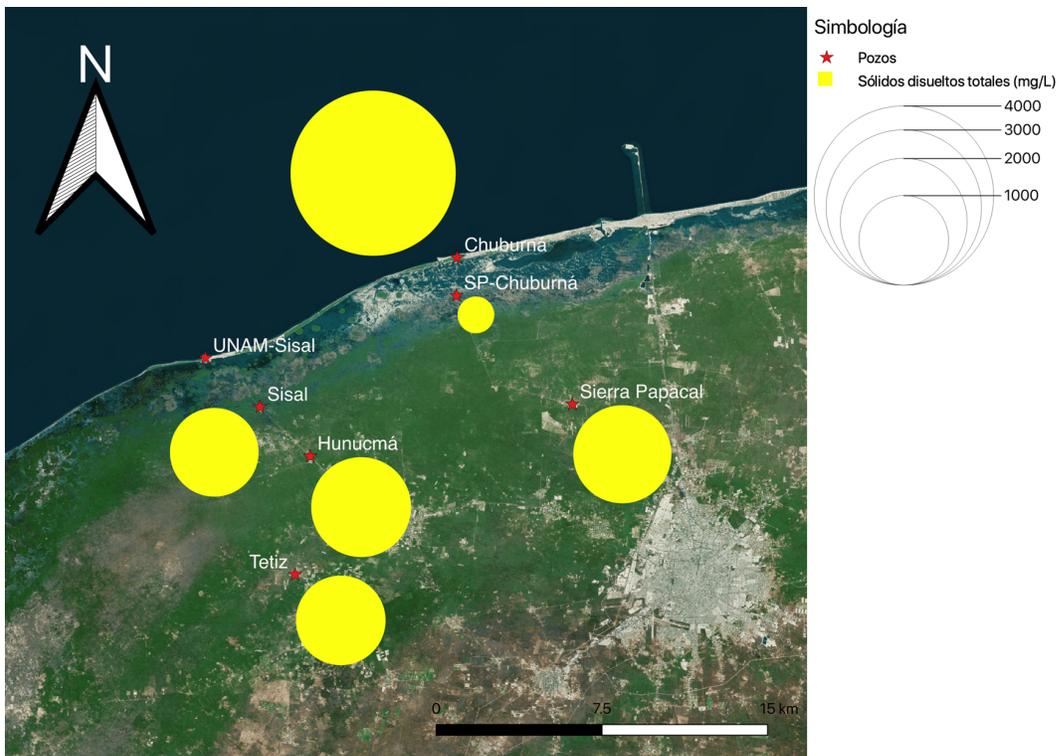


Figura 11. Sólidos disueltos totales registrados durante el mes de septiembre de 2021.

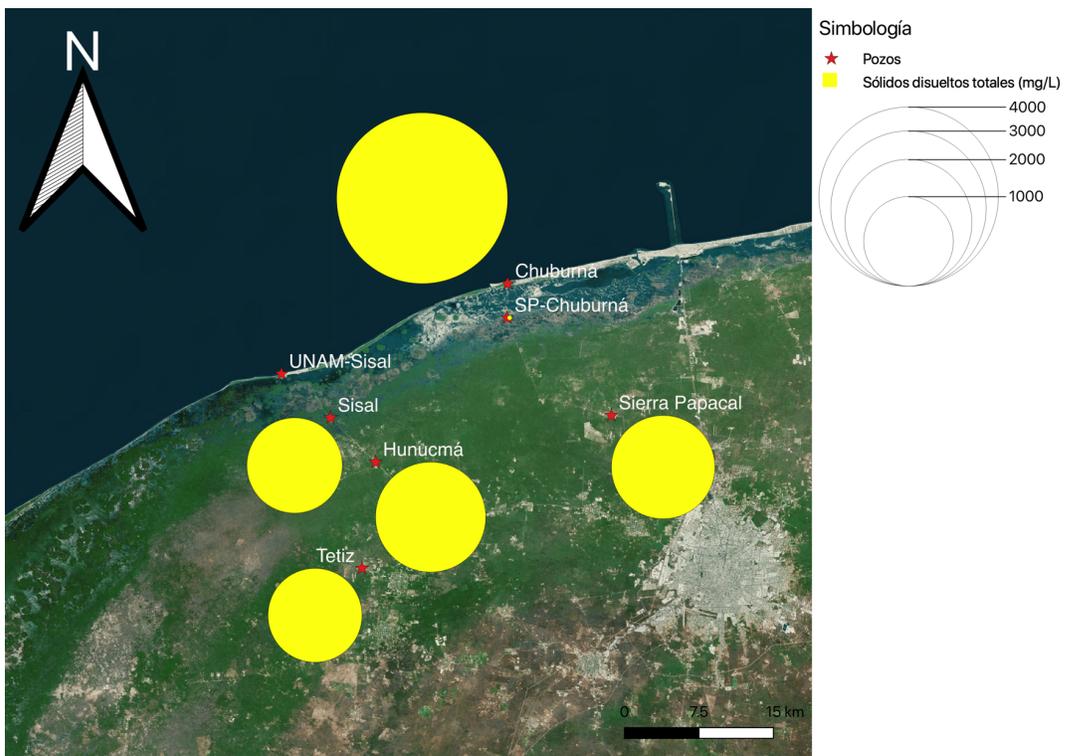


Figura 12. Sólidos disueltos totales registrados durante el mes de octubre de 2021.

En la **Tabla 9** se señalan algunos de los indicadores que emplea la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENAMECA) de la CONAGUA para la determinación de la calidad del agua subterránea. De acuerdo a los resultados obtenidos, el pozo de Chuburná, en ambos meses de muestreo, se clasifica como agua indeseable para el riego de acuerdo a su conductividad y como salobre por su contenido de sólidos disueltos totales, lo anterior puede deberse a que, de todos los pozos monitoreados, éste se encuentra a menos de 500 m de la línea de costa (**Figura 9**), mismo caso que el pozo de UNAM-Sisal del cual no se pudieron obtener los datos fisicoquímicos.

Los pozos Sierra Papacal, Chuburná, Tetiz y Hunucmá sobrepasaron los límites en cuanto a sólidos disueltos totales establecido por la NOM-127-SSA1-1994, que permite un máximo de 1000 mg/L, durante ambos meses de muestreo y el pozo UMDI-Sisal únicamente durante el mes de octubre. De acuerdo a la clasificación de la RENAMECA (**Tabla 9**) los pozos de Sierra Papacal, Tetiz, Hunucmá y UMDI-Sisal se encuentran clasificados como ligeramente salobres.

La medición del oxígeno disuelto (OD) en agua subterránea no se encuentra contemplada por la NOM-127-SSA1-1994 ni por la RENAMECA, sin embargo, es un parámetro importante en la calidad del agua pues regula el estado de oxidación de muchos metales de importancia para el agua de uso y consumo humano como el arsénico, cadmio, cobre, cromo, hierro, manganeso, mercurio y zinc. La atmósfera es la fuente del oxígeno disuelto en el agua subterránea. Se ha asumido que el oxígeno se consume rápidamente en el suelo y en la zona insaturada por la respiración bacteriana y descomposición de la materia orgánica, sin embargo, concentraciones mayores a 1.0 mg/L de oxígeno disuelto se han registrado en aguas subterráneas relativamente profundas (Rose, 1988). El pozo que se diferenció del resto fue el de SP-Chuburná con 7.8 mg/L, esto se debió a que la medición de oxígeno disuelto fue a nivel del suelo y el agua estaba en contacto directo con la atmósfera (**Figura 10e**).

Tabla 9. Escala de clasificación de calidad de agua subterránea de la Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENAMECA).

Indicador	Unidades	Clasificación	
Nitrógeno de nitratos (N-NO3)	mg/L	N-NO3≤5	Potable - Excelente
		5<N-NO3≤11	Potable-Buena calidad
		N-NO3>11	No apta como FAAP
Conductividad	μS/cm	Cond. ≤250	Excelente para riego
		250< Cond. ≤750	Buena para riego
		750<Cond. ≤2000	Permisible para riego
		2000<Cond. ≤3000	Dudosa para riego
		Cond. >3000	Indeseable para riego
Sólidos disueltos totales (SDT) - Salinización	mg/L	SDT≤1000	Potable-Dulce
		1000<SDT≤2000	Ligeramente salobres
		2000>SDT≤10000	Salobres
		SDT>10000	Salinas

(FAAP: Fuente de abastecimiento de agua potable).

El potencial de reducción o potencial de oxido-reducción (ORP) se mide en milivolts (mV) y es la tendencia de una especie química a adquirir electrones y por lo tanto ser reducida. Cada especie tiene su propio potencial de reducción, en cuanto más positivo sea este potencial mayor será la afinidad de la especie por los electrones y a ser reducida (EPA, 2021). Un ejemplo de su uso podría ser la medición del agua que se emplea para beber que tiene un ORP entre +200 a +600 mV, siendo así un agente oxidante, o el agua de una piscina clorada que idealmente debe tener un ORP de entre +650 a +750 mV, para poder así oxidar materia orgánica que pueda entrar en ella (JENCO, 2019). El ORP es de importancia en la calidad del agua, sin embargo, tampoco se encuentra contemplado por la NOM-127-SSA1-1994 o por la RENAMECA en cuanto a calidad del agua subterránea. Cuando la contaminación del agua tiende a aumentar, el ORP tiende a disminuir, considerándose así un indicador de su contaminación. En el agua subterránea generalmente va de -400 mV a 800 mV, y puede ayudar a evaluar el agua subterránea que tiene altos niveles de sustancias oxidantes, como cloro, o sustancias reductoras, como iones sulfito. También se deben considerar factores que influyen en el ORP como la descomposición de la materia orgánica en el sistema subterráneo (JENCO, 2019). A diferencia de los demás parámetros, el ORP fue el que más varió de un mes a otro, los máximos valores se registraron en el pozo de Sierra

Papacal y los menores en Hunucmá (**Figura 10f**). Ambos valores se encuentran dentro de lo esperado para agua subterránea, cabe aclarar que este parámetro no se debe considerar como único indicador de contaminación.

11.2 Contaminantes

11.2.1 Nutrientes

Los resultados de la cuantificación de nutrientes se presentan en la **Figura 13**. Los valores exactos de la cuantificación se encuentran en el **Anexo 2**.

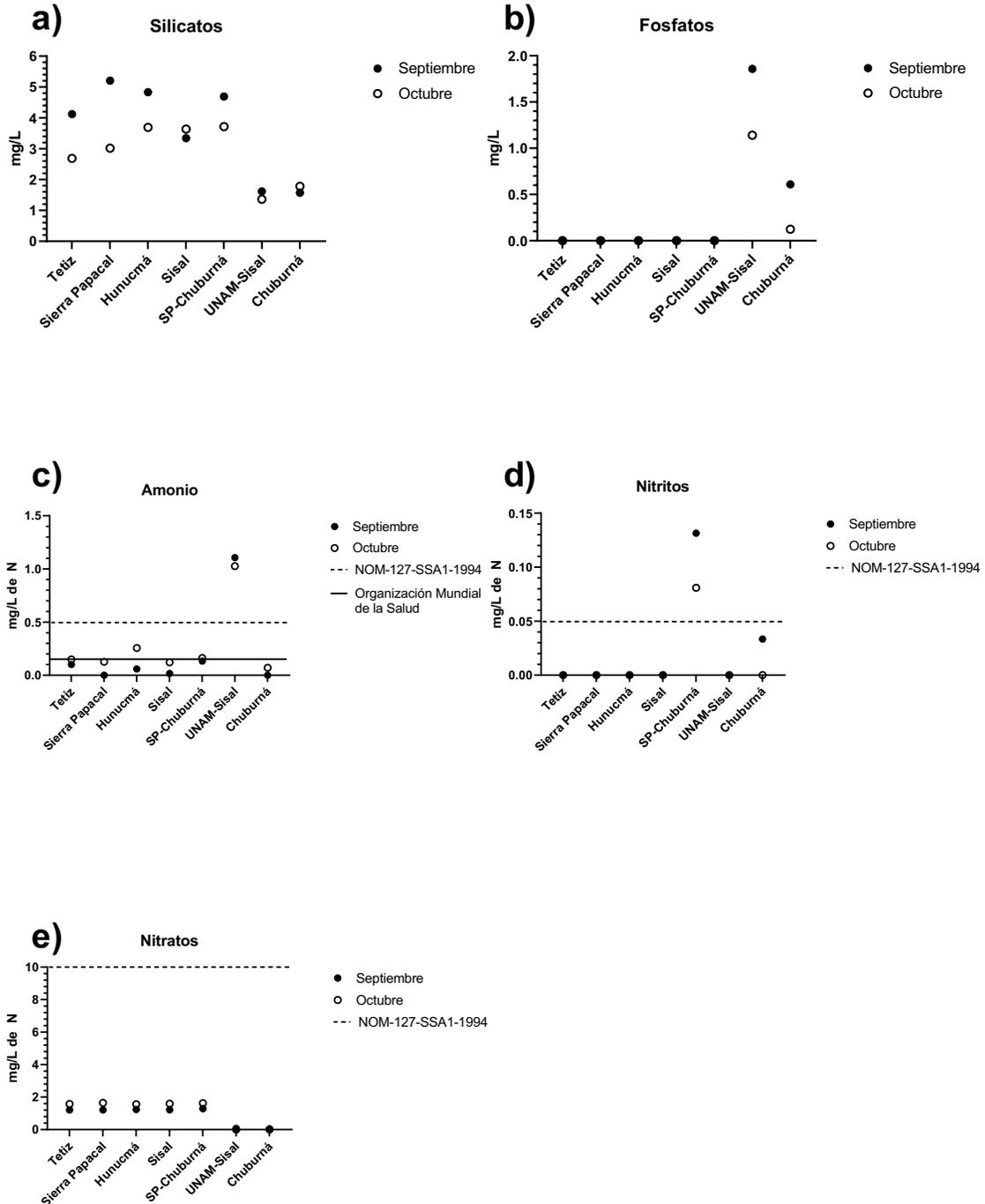


Figura 13. Cuantificación de nutrientes durante el mes de septiembre y octubre de 2021.

Los silicatos se encontraron presentes en todos los pozos durante ambos meses (**Figura 13a**). En todos los pozos, a excepción de Chuburná y Sisal, hubo una mayor concentración de silicatos durante septiembre. La menor concentración se encontró en el pozo de la UNAM-Sisal durante octubre con 1.36 mg/L y la mayor fue en septiembre en el pozo de Sierra Papacal con 5.21 mg/L. Los resultados obtenidos no variaron tanto en comparación con los reportados en octubre 2018 por Hernández en la misma zona de muestreo, donde fueron de 0.58-3.36 mg/L (Hernández, 2018).

Los silicatos no son compuestos que se encuentren regulados por la normatividad nacional aplicable a agua de uso y consumo humano, así tampoco por las normas internacionales aplicables para agua con este mismo fin. Los silicatos en el agua subterránea provienen exclusivamente de la interacción del agua con las rocas, el agua que circula disuelve al sílice en rocas que lo contienen y de sedimentos. Las concentraciones de SiO₂ en aguas subterráneas van de 1 a 30 mg/L y es directamente proporcional al tiempo de residencia del agua, a mayor tiempo de residencia se espera una mayor concentración de SiO₂, así como también es esperada una mayor concentración en aguas más profundas en comparación con aguas más superficiales (Khan, 2014). De acuerdo a lo anterior las concentraciones reportadas se encuentran dentro del rango esperado.

Los fosfatos estuvieron presentes únicamente en los pozos de Chuburná y UMDI-Sisal durante ambos muestreos, encontrándose mayor concentración durante el mes de septiembre en ambos pozos (**Figura 13b**). Los fosfatos no se encuentran regulados por alguna norma nacional o internacional que contemple parámetros para agua de uso y consumo humano, sin embargo la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación y en ésta se establece el máximo permitido de fósforo total en aguas residuales, cuya descarga se puede realizar en ríos, cuencas, aguas marinas y agua del subsuelo. Como se puede apreciar en la **Tabla 10**, la Norma no contempla la descarga en acuíferos, sin embargo, debido a que en Yucatán el tipo de suelo

es kárstico se tomarán estos valores como referencia. De acuerdo a ello, los resultados obtenidos en este estudio se encuentran dentro del límite permisible, siendo el máximo valor obtenido 1.86 mg/L en el pozo de la UNAM-Sisal durante septiembre.

Tabla 10. Límites permisibles de fósforo total de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021

Cuerpo receptor	Ríos, arroyos canales y drenes			Embalses, lagos y lagunas			Zonas marinas mexicanas			Suelo kárstico		
	P.M	P.D	V.I	P.M	P.D	V.I	P.M	P.D	V.I	P.M	P.D	V.I
Periodo de medición												
mg/L	15	18	21	5	10	15	15	18	21	5	10	15

P.M.: promedio mensual; P.D.: promedio diario; V.I: valor instantáneo.

Vale la pena resaltar que la Norma contempla el fósforo total, es decir suma de las concentraciones de ortofosfatos, fosfatos condensados, otros polifosfatos y fosfatos orgánicos, en cambio el método empleado en este estudio, determina únicamente los fosfatos que se encuentran solubles en la muestra y no el que se pueda encontrar contenido en partículas suspendidas, pues no se realizó una digestión ácida previa al análisis (Murphy and Riley, 1962; NMX-AA-029-SCFI-2001). El fósforo total generalmente se encuentra en mayor concentración que el fósforo disuelto, sin embargo, de acuerdo al Servicio Geológico de los Estados Unidos (USSG, por sus siglas en inglés) en el agua subterránea el fósforo disuelto usualmente es igual al fósforo total (Domagalski, 2012).

La NOM-127-SSA1-1994 contempla el contenido de los compuestos nitrogenados (amonio, nitritos y nitratos) expresado como mg N/L (**Tabla 12**). El amonio se presentó en todos los pozos, en al menos uno de los dos muestreos, con la mayor concentración registrada en el pozo de la UNAM-Sisal con 1.11 mg/L. En los pozos de SP-Chuburná y Hunucmá, en octubre, el nitrógeno amoniacal se encontró por arriba de lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud, y en el pozo de la UNAM-Sisal, de igual manera se excedió este límite y el indicado por la NOM-127-SSA1-1994 (**Figura13c**). De acuerdo a lo descrito en los lineamientos para agua potable de la Organización Mundial de la Salud, los niveles naturales

de este ion se encuentran por debajo de 0.2 mg/L y en agua subterránea bajo condiciones anaeróbicas es posible detectar hasta 3 mg/L (OMS, 2017).

Tabla 11. Límites permisibles de compuestos nitrogenados de acuerdo a normas nacionales e internacionales para agua de uso y consumo humano. Valores expresados como mg N/L.

Parámetro	NOM-127-SSA1-1994	EPA	Unión Europea	OMS
Nitratos	10.0 (11.0 ¹)	10	11.3	11.3
Nitritos	0.05 (0.90 ¹)	1	0.15	1
Nitrógeno amoniacal	0.50	-	-	0.15

¹Valor obtenido del Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Publicada el 6 de diciembre de 2019 en el Diario Oficial de la Federación.

Los nitritos fueron cuantificables en dos pozos, en el pozo SP-Chuburná estuvo presente en los dos meses de muestreo, por arriba de lo permitido en la NOM-127-SSA1-1994 en ambas ocasiones (**Figura 13d**). En el medio ambiente es más frecuente encontrar nitratos que nitritos, esto se debe a que el nitrato es el estado de oxidación más estable. En cuanto a los nitritos, es posible encontrarlos en mayor concentración bajo un ambiente reductor o por acción de bacterias (OMS, 2017; Prakasa, 2000), lo cual podría ser el caso para el pozo que sobrepasó los límites, pues como se aprecia en la **Figura 6**, la zona donde se localiza el pozo es empleado como basurero al aire libre. Si bien la afirmación anterior puede ser cierta, para determinar con mayor exactitud el origen de nitritos en el pozo se podrían tomar factores adicionales como la cercanía del pozo con la población, si existe o no una buena disposición de desechos, actividad agrícola y ganadera cercana al área. La evaluación a fondo del origen de los contaminantes va más allá del alcance de los objetivos planteados en este estudio, sin embargo, este registro se deja como precedente para poder realizar más estudios en este sentido.

Los nitratos se encontraron presentes en todos los pozos en al menos uno de los dos muestreos realizados, sin embargo, en ningún caso sobrepasó los límites establecidos por

la norma (**Figura 13e**). Cabe destacar que en todos los pozos a excepción de dos (los costeros, Chuburná y UNAM-Sisal) la mayor concentración de nitratos fue durante el mes de octubre. En los pozos ubicados en la costa los nitratos cuantificados fueron notablemente menor al resto.

En la zona agrícola del noroeste de Yucatán se han reportado valores de hasta 8 mg N-NO₃/L y en la zona no agrícola valores no mayores a 1 mgN-NO₃/L, indicando una posible fuente de fertilizantes nitrogenados (Smith, 2020). Un estudio realizado en pozos de abastecimiento de la red de agua potable ubicados en la ciudad de Mérida, reportó hasta 15.94 mgN-NO₃/L (70.61 mg/L de NO₃) valor por arriba del máximo permitido por la NOM-127-SSA1-1994; además se analizaron otros iones presentes en la muestra lo cual arrojó un posible origen doméstico y de actividades agrícolas (Rojas, 2015). Para poder determinar con mayor precisión la posible fuente de nitratos, una alternativa es emplear isótopos estables como lo hecho por Smith et. al. (2020), donde lograron identificar nitratos provenientes de fertilizantes, suelos y estiércol empleado como abono. Comparando los valores de nitratos obtenidos en este estudio con los señalados anteriormente, se puede apreciar que los valores son notablemente inferiores, indicando que la calidad del agua referente a este parámetro es buena.

Los tres compuestos nitrogenados cuantificados dependen de varios factores para encontrarse de una u otra forma, como el potencial redox y la presencia de bacterias, por lo que es importante analizarlos de manera conjunta, en este caso no se encontró correlación alguna entre éstos (Smith, 2020; Prakasa, 2000). En un estudio realizado por Aranda y colaboradores en 2011, identificaron las principales fuentes de nitrógeno y fósforo hacia el agua subterránea y zona litoral en Yucatán, que incluyen la cría de ganado, especialmente los cerdos, la agricultura y las actividades humanas (Aranda, 2011).

La medición de nitrógeno y fósforo es importante debido a que son los dos elementos clave en la eutrofización de los cuerpos de agua, proceso que degrada los ecosistemas acuáticos

(Boeykens, 2017). Una fuente importante de ambos es el uso de fertilizantes en la agricultura, ya que son nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas en los cultivos. El nitrógeno es necesario para la producción de proteínas, clorofila y aminoácidos, mientras que el fósforo es indispensable para la producción de moléculas de ácido nucleico y generación de energía (Amare, 2020).

Los parámetros fisicoquímicos y concentración de nutrientes se analizaron empleando estadística multivariada, en la **Figura 14** se presenta el PCO resultante.

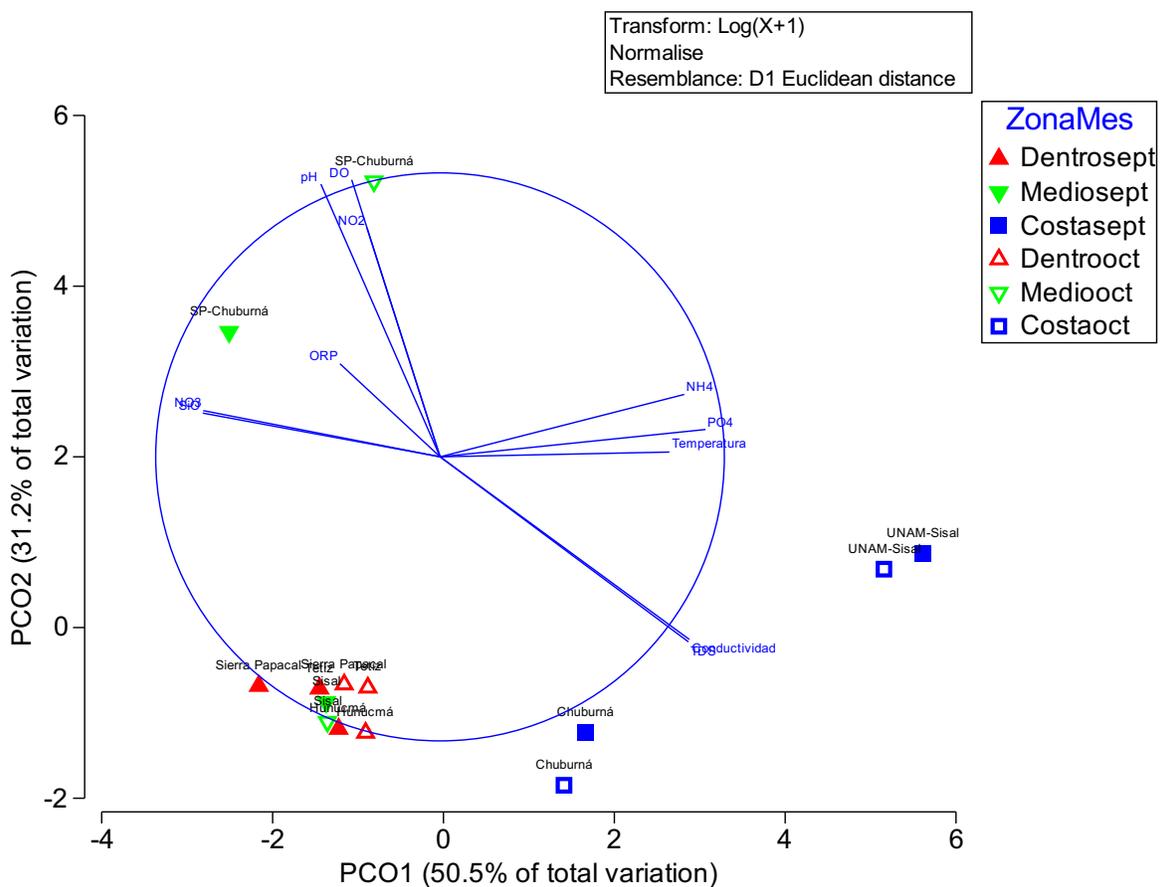


Figura 14. Análisis de coordenadas principales (PCO) para las variables parámetros fisicoquímicos y nutrientes.

Los primeros dos ejes del análisis de coordenadas principales representan un 81.7% de la variación total. Se aprecia una diferenciación entre los grupos de la zona costera en ambos meses de muestreo con la conductividad y los sólidos disueltos totales siendo las variables

responsables de ésta. Por otro lado, las variables fisicoquímicas, pH y potencial de óxido-reducción (ORP), y los nutrientes silicatos, nitratos y nitritos son las que caracterizan mejor al sitio SP-Chuburná, entendiendo que a diferencia de las zonas costeras presentan niveles más altos de éstos y menor conductividad y sólidos disueltos totales (SDT). Por último, los pozos de la zona dentro (Sierra Papacal, Tetiz y Hunucmá), la más alejada de la costa, y un pozo de la zona medio (Sisal) fueron similares entre ellos debido a que presentan bajos niveles de todos los parámetros evaluados en este análisis, de manera que entre ellos no hubo una diferenciación. En general se puede decir que no hubo un patrón en el comportamiento de los pozos en términos espacio-temporales.

Como resultado del PERMANOVA se encontró que no hubo diferencia significativa entre la interacción de los factores zona y mes. Al evaluar los factores por separado se encontró que para el mes no hubo diferencia estadísticamente significativa, pero por el contrario sí lo hubo para el factor zona.

11.2.2 Plaguicidas organoclorados y cafeína

Los resultados de la cuantificación de plaguicidas se presentan en la **Tabla 12**. Los resultados completos se presentan en el **Anexo 3**. De los 22 compuestos que se buscaron en este análisis (21 plaguicidas y cafeína) (**Tabla 4**) se lograron detectar un total de 9 entre ambos meses de muestreo, donde el 100% de los pozos presentaron al menos dos. Los pozos que presentaron la mayor cantidad, un total de seis, fueron los de SP-Chuburná y el de Chuburná, ambos durante el mes de septiembre (**Figura 15**). Durante octubre se detectaron un máximo de cuatro en los pozos de UNAM-Sisal, Sierra Papacal y SP-Chuburná (**Figura 16**). Entre ambos meses de muestreo los plaguicidas cuantificados variaron en gran medida como se aprecia en las imágenes siguientes, lo anterior podría deberse a una dinámica freática elevada en la zona, sin embargo, se puede apreciar que la mayor concentración de plaguicidas se encuentra en ambas ocasiones cercana a la costa.

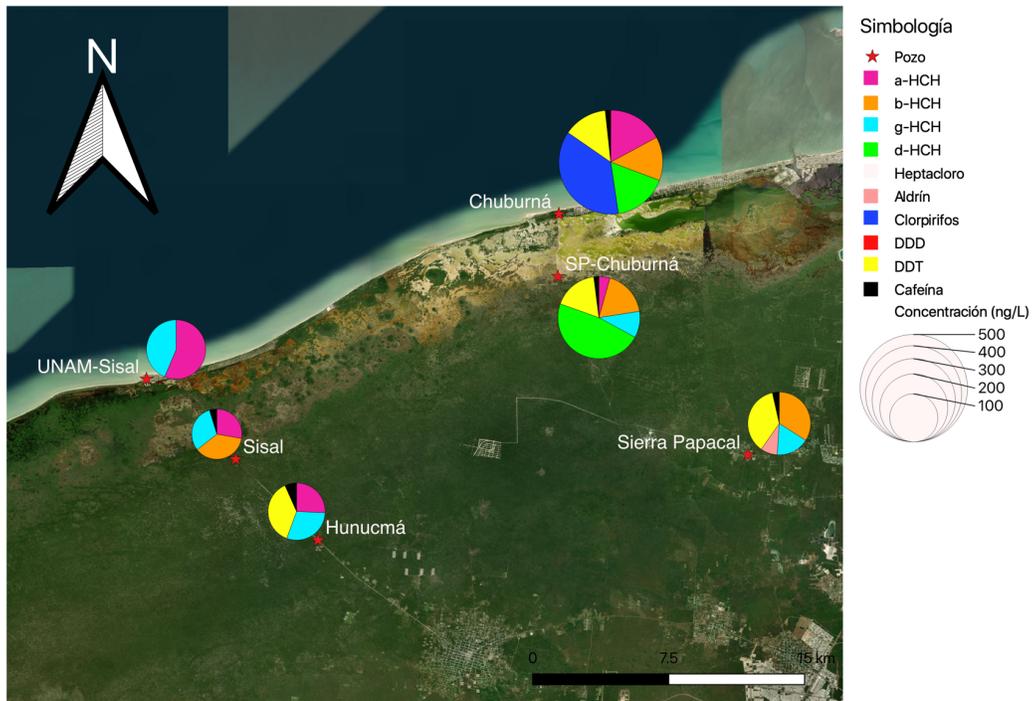


Figura 15. Plaguicidas y cafeína detectados en septiembre de 2021.

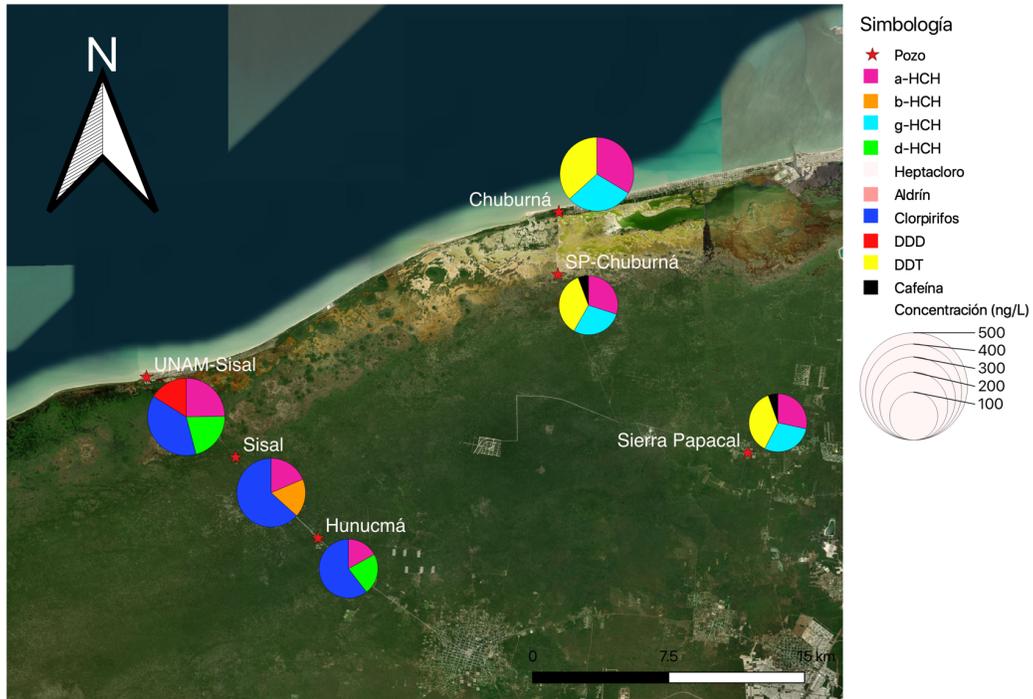


Figura 16. Plaguicidas y cafeína detectados en octubre de 2021.

En la **Tabla 12** se presentan los valores obtenidos y los límites permisibles de los plaguicidas en agua para uso y consumo humano de acuerdo a la normatividad nacional e internacional. Los datos de la tabla se representan en la **Figura 17**.

Tabla 12. Resultados obtenidos de la cuantificación de plaguicidas y límites permitidos en agua para uso y consumo humano. Valores expresados en ng/L.

Contaminante	Frecuencia %	Rango	NOM-127-SSA1-1994	EP	Unión Europea (UE)	OMS
a-HCH	85.71	ND -85.71	-	-	100	-
b-HCH	42.86	ND -64.61	-	-	100	-
g-HCH (lindano)	64.29	ND -70.08	2000	200	100	2000
d-HCH	28.57	ND -141.44	-	-	100	-
Heptacloro	7.14	ND -17.03	30	400	30	-
Aldrín	7.14	ND -15.34	30	-	30	30
Clorpirifos	28.57	ND -175.92	30000 ¹	-	100	30000
DDD	7.14	ND -41.75	1000	-	100	1000
DDT	57.14	ND -86.57		-	100	
Plaguicidas totales	-	89.96-456.46	-	-	500 ²	-
Cafeína	57.14	ND-10.21	-	-	-	-

¹ valor obtenido del Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Publicada el 6 de diciembre de 2019 en el Diario Oficial de la Federación.

² suma de todos los plaguicidas detectados y cuantificados en el procedimiento.

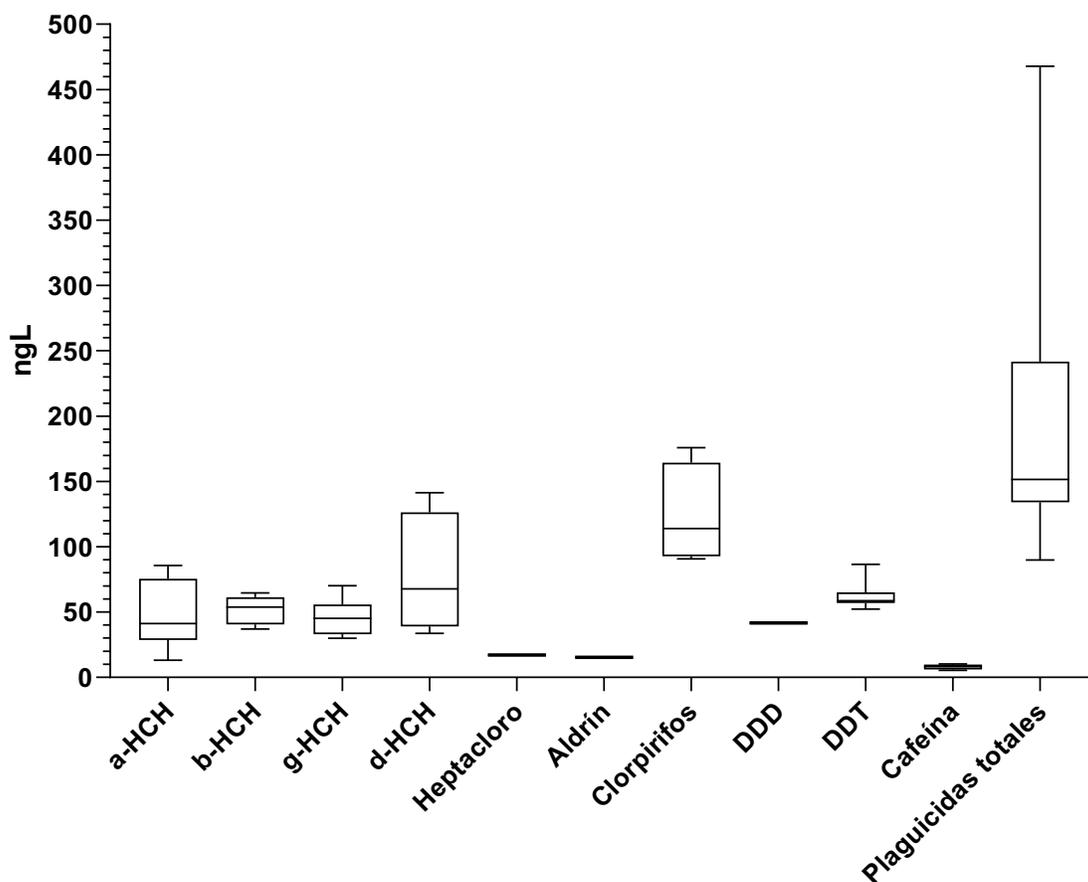


Figura 17. Plaguicidas detectados durante septiembre y octubre de 2021. Los que fueron analizados en total se presentan en la **Tabla 4**.

De acuerdo a la **Tabla 12** ninguno de los plaguicidas se encontró por arriba de los límites permitidos. El único organismo que maneja un límite para plaguicidas totales es la Unión Europea con un máximo de 500 ng/L, y de acuerdo a los resultados obtenidos, ningún sitio sobrepasó dicho límite, sin embargo, cabe resaltar que el pozo de Chuburná durante septiembre tuvo un valor de 456.46 ng/L, donde se tuvieron las concentraciones máximas detectadas del b-HCH y clorpirifos. Por otro lado, el pozo que presentó la menor concentración fue el de Tetiz durante el mes de octubre con un total de 89.96 ng/L de

plaguicidas

totales

(Figura

18d).

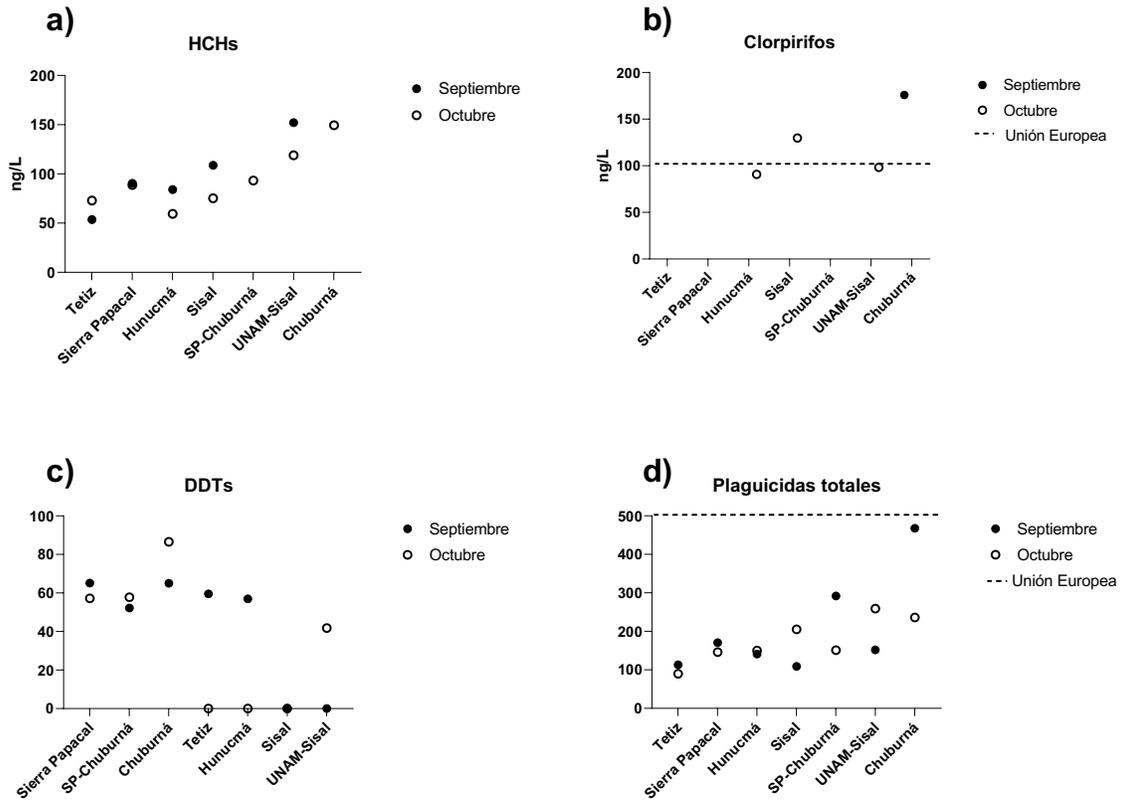


Figura 18. Distribución de los plaguicidas organoclorados agrupados por isómeros a) HCHs y c) DDTs, organofosforados b) clorpirifos y d) plaguicidas totales. Pozos ordenados de mayor a menor distancia de la costa.

El compuesto que se detectó con mayor frecuencia fue el α -HCH seguido del γ -HCH, los que se encontraron con menor frecuencia fueron el heptacloro, aldrín y DDD (**Tabla 12**). La mezcla de isómeros que tuvo mayor concentración fueron los HCHs en el pozo de SP-Chuburná durante septiembre con 239.47 ng/L (**Figura 18a**).

El α -HCH es uno de los ocho estereoisómeros del hexaclorociclohexano (HCH) y el que se encuentra en mayor proporción (53-70%) en el conocido como HCH técnico (mezcla de isómeros), además del β -HCH (3-14%), γ -HCH (11-18%) y δ -HCH (6-10%). El γ -HCH es el

único isómero que exhibe fuertes propiedades insecticidas, es refinado a partir del HCH técnico y se le conoce como lindano (Instituto Nacional de Ecología, 2004).

El lindano se emplea como insecticida para frutas, vegetales y cultivos forestales. En el medio ambiente se puede convertir en a-HCH a través de procesos fotoquímicos, éste posee una baja afinidad a los lípidos y partículas sólidas, además es altamente soluble en agua lo cual lo hace fácilmente detectable en ella (PubChem, 2022; Giacomán-Vallejos, 2018). El a-HCH y el g-HCH pueden transformarse biológicamente en b-HCH, que es el isómero más persistente y resistente a la biodegradación en comparación de los otros, lo cual podría explicar que fue el tercer isómero más abundante (Instituto Nacional de Ecología, 2004; Zhang, 2003) La proporción alfa/gamma HCH puede utilizarse para identificar la fuente del HCH en el agua. Una proporción de entre 0.2-1 sugiere un origen a partir del lindano y un rango de entre 4-15 sugiere el uso de HCH técnico. La proporción alfa/gamma obtenida para los pozos analizados se encontró entre 0.42-1.29, de manera que su origen podría ser atribuido al uso de lindano (Maldonado, 2002).

Giacomán-Vallejos y colaboradores realizaron un estudio en 2018 para identificar la presencia de DDT y lindano en agua de 29 pozos localizados entre Mérida y Progreso. Reportaron valores muy por encima de lo encontrado en el presente estudio, por ejemplo, el a-HCH se encontró en un rango de 20-830 ng/L y el b-HCH de 30-13200 ng/L, además ambos plaguicidas se presentaron en mayor concentración en la época de nortes (noviembre-febrero) en donde algunos pozos sobrepasaron los límites establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 (Giacomán-Vallejos, 2018). Hernández reportó en un máximo de 92.80 ng/L de isómeros totales del HCH durante el mes de octubre de 2018 en pozos de la misma zona evaluada en el presente estudio (Hernández, 2018).

El DDT fue el tercer compuesto más frecuente (57.14 %), su isómero DDD únicamente se detectó en un pozo. De acuerdo a la **Figura 18c**, se aprecia que, en todos los pozos, a excepción del de Sisal, fue posible detectar DDT o alguno de sus isómeros. La mayor concentración registrada se presentó en el pozo de Chuburná en el mes de octubre con 86.57 ng/L, este resultado contrasta con lo reportado por Giacomán-Vallejos en 2018,

donde el 65% de los pozos analizados en la temporada de nortes estuvo por arriba de lo señalado por la NOM-127-SSA1-1994, cuyo límite es de 1000 ng/L.

En el caso del heptacloro, únicamente se detectó en una muestra, la de Tetiz en octubre con 17.03 ng/L y, si bien no sobrepasa el límite establecido por las normas, se encuentra cercano al establecido por la Unión Europea y la NOM-127-SSA1-1994 que es de 30 ng/L. Lo obtenido se asemeja a lo reportado por Hernández con una concentración máxima de 37.79 ng/L en la misma zona y mes en el año 2018 (Hernández, 2018). Otro trabajo fue el realizado por Polanco y colaboradores en 2015 donde evaluaron la presencia de plaguicidas organoclorados en agua de cenotes pertenecientes al anillo de cenotes de Yucatán. Detectaron un total de 14 compuestos, entre ellos el heptacloro, DDD, DDT y lindano. Las concentraciones encontradas en los cenotes fueron superiores a lo reportado en el presente estudio y por Hernández en 2018, estando en el rango de los mg/L (Polanco, 2015). El mismo grupo de investigación analizó muestras de agua potable de casas de Mérida y su zona metropolitana, encontrando concentraciones de heptacloro de hasta 0.097 mg/L en Kanasín, 0.054 mg/L en Leona Vicario, 0.053 mg/L en Umán y 0.051 mg/L en Komchén; fue también el compuesto más frecuentemente encontrado (75% de los pozos) seguido por el endosulfán y lindano (53.7%). El heptacloro es un insecticida de amplio espectro, su uso está prohibido o restringido en muchos países (Polanco, 2022).

El aldrín se detectó únicamente en el pozo de Sierra Papacal en el mes de septiembre (15.34 ng/L) al igual que el heptacloro, no sobrepasa los límites máximos permitidos para agua de consumo humano de acuerdo a lo señalado en la **Tabla 12**, sin embargo el valor se encuentra a la mitad del límite permitido según la NOM-127-SSA1-1994, la Unión Europea y la Organización Mundial de la Salud que es de 30 ng/L. Hernández reportó en 2018 un máximo de 31.10 ng/L de drines (incluyendo aldrín, dieldrín, endrín cetona y endrín aldehído) en la misma zona muestreada en este estudio (Hernández, 2018). Polanco reportó en 2015 concentraciones máximas de drines (excluyendo el aldrín y endrín cetona) de 520,000-2,567,000 ng/L en aguas de cenotes dentro del Anillo de Cenotes

(Polanco, 2015) y en 2020 un máximo de 1250 ng/L (endrín) en Mérida y su zona metropolitana, en muestras obtenidas directamente de la red de distribución de agua potable (Polanco, 2022). El aldrín rápidamente es convertido en diendrín en el medio ambiente, donde es altamente persistente. De acuerdo a lo reportado por la Organización Mundial de la Salud, estos compuestos rara vez son detectados en agua potable (menor a 10 ng/L) y en agua subterránea, lo cual no concuerda con lo reportado en la región noroeste de Yucatán, ya que las concentraciones son mucho mayores (OMS, 2017; Polanco, 2015; Polanco 2022; Hernández, 2018) lo que podría indicar un elevado y reciente uso de dichos plaguicidas en la región.

El clorpirifos se detectó en cuatro muestras, con tres de ellas en el mes de octubre, siendo el compuesto individual que estuvo en mayor concentración con 175.92 ng/L en el pozo de Chuburná en el mes de septiembre (**Figura 17**). De acuerdo al límite establecido por la Unión Europea, que es de 100 ng/L para plaguicidas individuales en aguas destinadas al consumo humano, los pozos de Chuburná en septiembre y Sisal en octubre, lo sobrepasaron. Las muestras de Hunucmá y UNAM-Sisal de octubre se encontraron justo por debajo del límite (90.83 y 98.26 ng/L respectivamente) (**Figura 18b**). Este plaguicida ya había sido reportado con anterioridad en la misma zona evaluada en el presente estudio por Hernández en 2018, donde la concentración máxima fue de 13.50 ng/L durante la época de lluvias (octubre del 2018). Se trata de un plaguicida organofosforado que se emplea para el control de mosquitos, moscas, plagas domésticas, ya sea en suelo o en follaje, se emplea también en algunos países como larvicida acuático para el control de la larva del mosquito (OMS, 2017). Es un plaguicida que actualmente se encuentra en uso en México, incluso se encuentra entre los compuestos recomendados por el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE) para combate de insectos vectores (CENAPRECE, 2022).

De los compuestos que fueron detectados, la mayoría pertenecen al llamado Convenio de Estocolmo, del cual México forma parte desde 2001, convenio que tiene como fin proteger

a la salud humana y el medio ambiente frente a los contaminantes orgánicos persistentes (COPs), disponiendo de medidas de control sobre su producción, importación, disposición, uso y eliminación. De los plaguicidas detectados, únicamente el clorpirifos no forma parte de los COPs (SEMARNAT, 2015). Las medidas establecidas por el Convenio de Estocolmo para el aldrín, lindano y heptacloro están enfocadas a su eliminación, en cuanto al DDT su uso está restringido para la lucha contra vectores de enfermedades por parte del gobierno (**Tabla 13**) (Convenio de Estocolmo, 2009).

El DDT se empleó en México para campañas para el control de vectores, en la agricultura y en la ganadería, no fue sino hasta 1987 que se restringió su uso para control de vectores y hasta el año 2001 se sustituyó por el uso de piretroides. Para ese entonces en Yucatán ya se habían empleado 33 toneladas de DDT para el control de malaria y dengue. Debido a que el DDT puede permanecer en el ambiente hasta 30 años, es posible detectarlo hasta hoy en día (Giacoman-Vallejos, 2018). Sin embargo, a pesar de que México forma parte del Convenio de Estocolmo desde hace ya 20 años, al día de hoy aún se están tomando medidas para implementar dicho convenio, como la publicada en noviembre de 2019 en el Diario Oficial de la Federación donde se busca prohibir la importación de productos químicos peligrosos, entre los que menciona el DDT y el lindano. (Diario Oficial de la Federación, 2019).

Tabla 13. Información general de los plaguicidas detectados.

Plaguicida	No. Cas	Fórmula química	Peso molecular (g/mol)	Uso	Regulación
Aldrín	309-00-2	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	364.9	Insecticida	Convención de Estocolmo (eliminación); Prohibido en México (DOF, 03/01/1991)
DDT	50-29-3	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	354.49	Insecticida	Convención de Estocolmo (restricción)
Lindano (g-HCH)	58-89-9	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.83	Insecticida	Convención de Estocolmo (eliminación)
Heptacloro	76-44-8	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	373.32	Insecticida	Convención de Estocolmo (eliminación)
Clorpirifos	2921-88-2	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	350.59	Insecticida	No forma parte de la Convención de Estocolmo

A pesar de los esfuerzos realizados en el país para controlar el uso de plaguicidas restringidos o prohibidos, éstos aún están presentes. Un estudio publicado en 2015 donde se realizaron entrevistas a pobladores de 11 municipios de la zona del Anillo de Cenotes (**Figura 19**), área especialmente vulnerable a la contaminación, detectó el uso de plaguicidas como el endosulfán, lindano, aldrín, dieldrín, DDT y heptacloro para actividades relacionadas a la agricultura y ganadería (Polanco, 2015a). Otro estudio publicado en 2019, demostró que las personas de la zona agrícola de Yucatán (sur del estado) aún emplean plaguicidas que se encuentran prohibidos o restringidos, entre los que se encuentran el endosulfán, paraquat, DDT y lindano. Los que tuvieron un mayor uso fueron el heptacloro (10%), DDT (13%), lindano (23%) y endosulfán (23%), el clorpirifos no fue de los que presentaron un alto uso, sin embargo, sí se reportó en el estudio (Polanco, 2019). Los plaguicidas con mayor uso coinciden con lo que se logró identificar en el presente trabajo, siendo en lindano y sus isómeros los más predominantes (**Tabla 12**). No se encuentran reportes similares de uso de plaguicidas en la zona evaluada, pero no se puede descartar que de igual manera son empleados en el área.

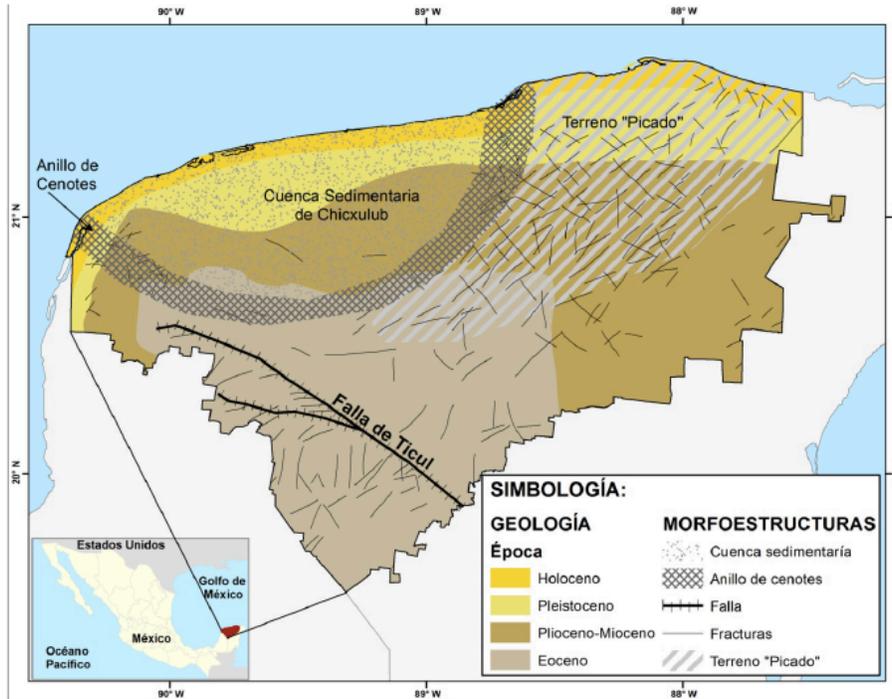


Figura 19. Ubicación del Anillo de Cenotes en Yucatán (tomado de Aguilar-Duarte, 2016).

En la **Figura 20**, se presenta un mapa de vulnerabilidad del acuífero yucateco a la contaminación, para la elaboración de este mapa los autores tomaron en cuenta factores como el relieve, suelos y clima (Aguilar-Duarte, 2016). De acuerdo al mapa, la zona de estudio se localiza dentro de una vulnerabilidad de alta a muy alta. La zona sur del estado a pesar de presentar una vulnerabilidad, en su mayoría, de muy baja a media, es la principal zona del estado de producción agrícola, lo cual incrementa el uso de plaguicidas (Polanco, 2019).

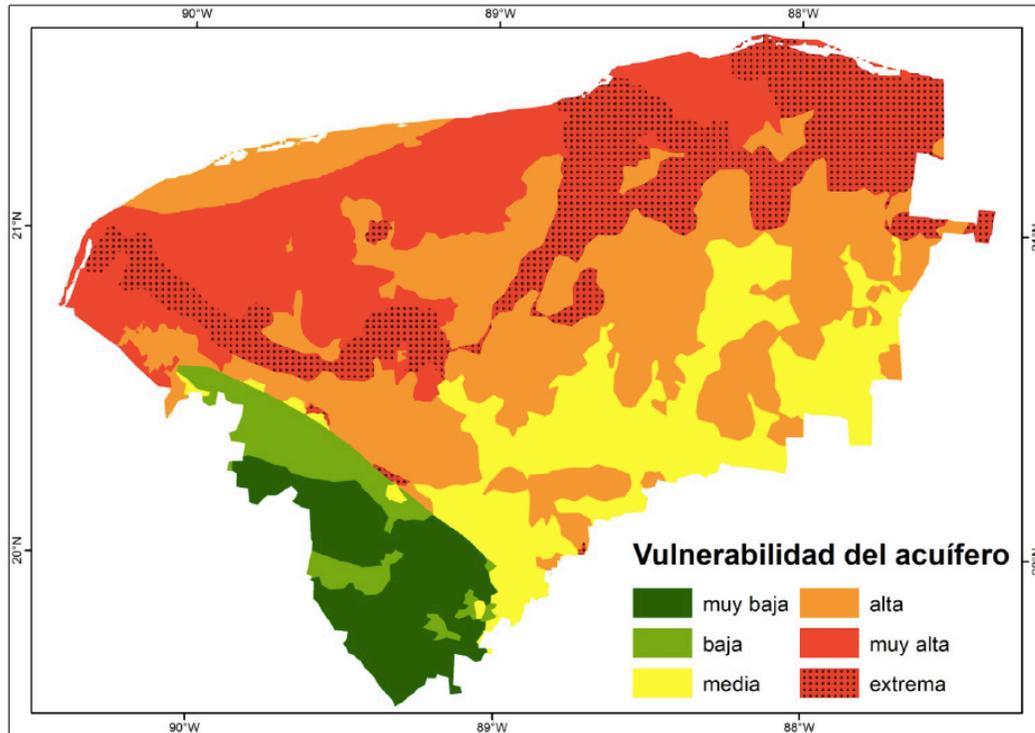


Figura 20. Mapa de vulnerabilidad intrínseca del acuífero kárstico yucateco a la contaminación (tomado de Aguilar-Duarte, 2016).

El tipo de suelo kárstico de Yucatán favorece el almacenamiento de agua y transporte de la misma a través de una red de cavidades interconectadas por fracturas, conductos de disolución, oquedades y cavernas. El movimiento del agua subterránea en el estado se da de zonas donde existe una mayor precipitación (sur del estado) hacia las costas noroeste, noreste y norte, donde se realiza la descarga del acuífero, que es especialmente alta donde el anillo de cenotes intercepta la costa, de esta manera es posible un transporte de contaminantes a través de los flujos de agua subterránea desde la zona sur del estado hacia la costa (Durán, 2010; Polanco, 2015).

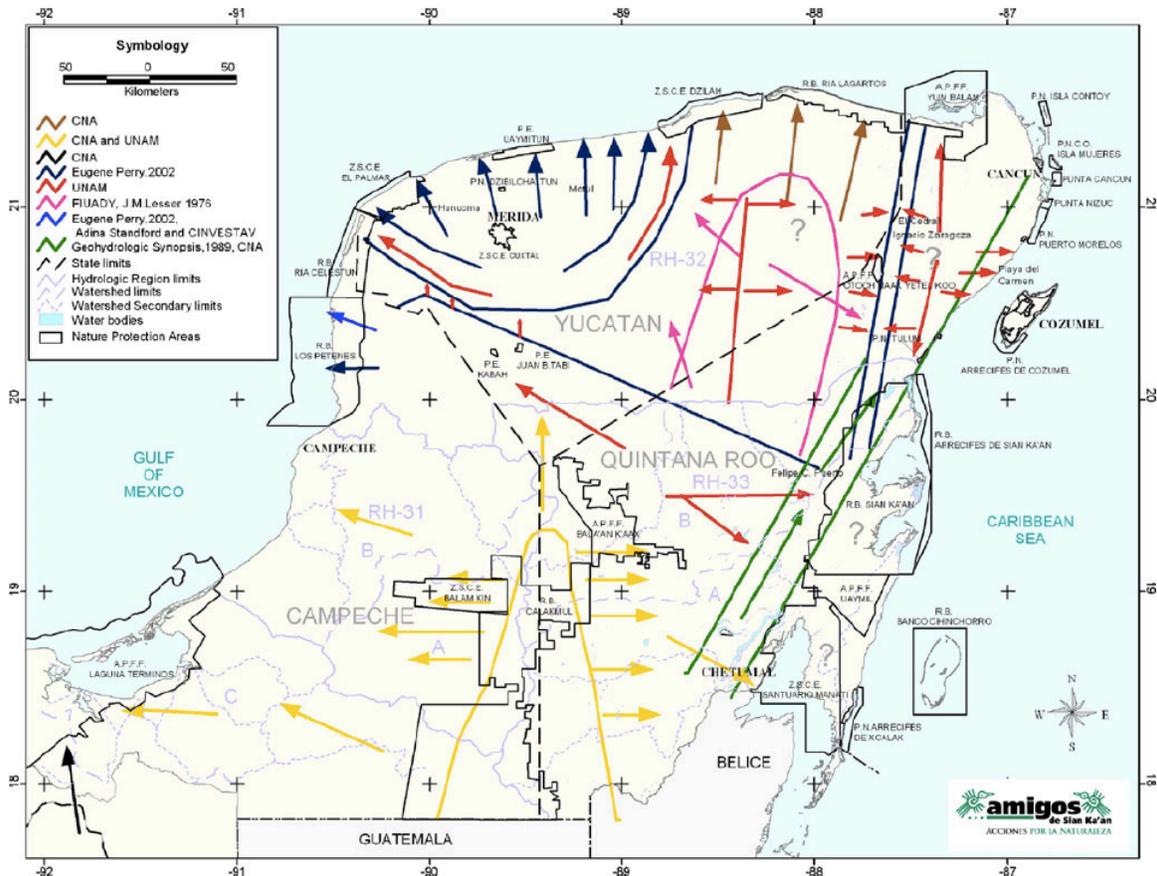


Figura 21. Mapa integral de flujos regionales de agua subterránea (Tomado de Bauer-Gottwein, 2011).

A manera de exploración, se puede observar una relación entre la distancia a la costa y la concentración de los plaguicidas totales, de manera que, mientras más lejano a la costa se encuentra el pozo menor resulta la cantidad de plaguicidas (**Figura 18d**). Se realizó una correlación para ambos meses de muestreo con los plaguicidas totales y su distancia a la costa y se encontró que para el mes de septiembre la correlación no fue estadísticamente significativa, caso contrario para el mes de octubre en donde la correlación fue estadísticamente significativa (Spearman, $r_s = -0.929$, $p = 0.007$). Este comportamiento puede obedecer a que en la zona norte de la Península es donde se realiza la descarga del acuífero de manera que los contaminantes del interior del estado pueden transportarse hasta esta zona (Durán, 2010; Polanco, 2015).

En cuanto a la presencia de cafeína, que fue considerada en este estudio como un trazador de contaminación antropogénica, se encontró presente en 8 de 14 muestras analizadas (57.14%). El único sitio en donde no se detectó cafeína en ninguno de los meses fue el UNAM-Sisal, sin embargo, este fue el único donde se detectó DDD en octubre. Durante el mes de septiembre se detectó cafeína en seis de los siete pozos analizados y en octubre únicamente en dos. La máxima concentración registrada fue durante el mes de septiembre en el pozo Tetiz con 10.21 ng/L (**Figura 22**).

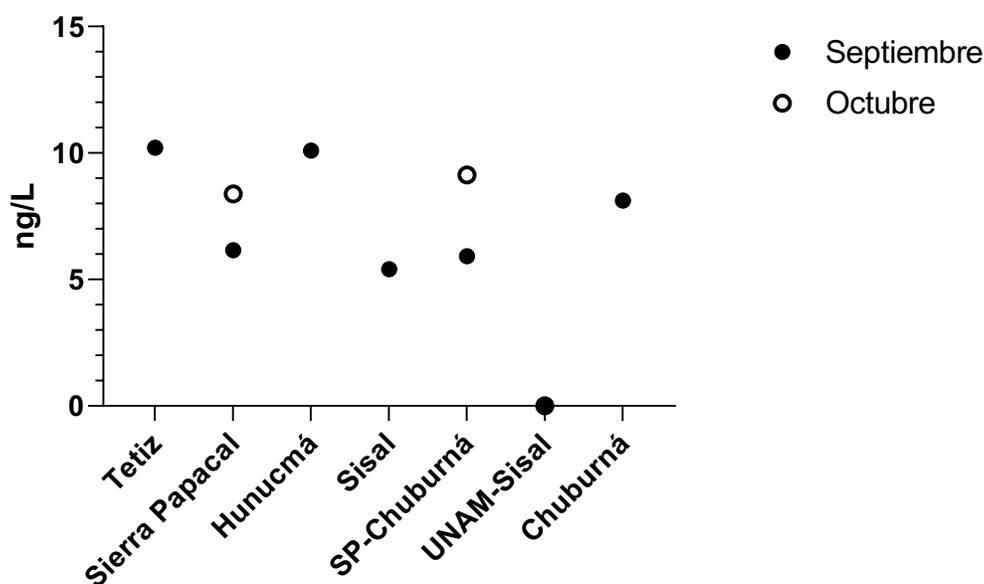


Figura 22. Cuantificación de cafeína durante el mes de septiembre y octubre de 2021.

A diferencia de la distribución apreciada con los plaguicidas con respecto a su distancia a la costa, en el caso de la cafeína no se encontró alguna correlación en este sentido (Spearman, $r_s = 0.486$, $p = 0.356$). La cafeína posee varios atributos que la hacen un buen marcador de contaminación antropogénica, como su alta solubilidad (21.7 g/L), su baja volatilidad y su estabilidad bajo diversas condiciones ambientales, además de ser uno de los principales ingredientes empleados en alimentos y bebidas en el mundo. Adicionalmente, del 5-10% de la cafeína consumida es excretada por el ser humano, de manera que ésta puede alcanzar a los ecosistemas acuáticos por medio del agua de desechos domésticos (por ejemplo, el filtrado de fosas sépticas) (Kurissery, 2012). La cafeína pertenece a los llamados

contaminantes emergentes, definidos como contaminantes de origen sintético o natural que no son comúnmente monitoreados en el ambiente, pero pueden llegar a él y causar efectos adversos ya sean ecológicos o a la salud del ser humano, clasificación que incluye además a subproductos de desinfección, químicos industriales, plaguicidas y a otros productos farmacéuticos y de cuidado personal (Geissen, 2015).

En la Península de Yucatán, específicamente en el estado de Quintana Roo (Puerto Morelos) se han realizado estudios empleando agua de pozos y cenotes para evaluar su calidad midiendo parámetros bacteriológicos y la presencia de cafeína, encontrando una correlación entre la presencia de cafeína y patógenos como *E. coli* y *Vibrio* spp. con el uso turístico de estos sitios, y por lo tanto contaminación de origen antropogénico (Leal-Bautista, 2011).

En la costa de Yucatán se han reportado valores de cafeína que van desde 0.10-300.02 ng/L. La presencia de este contaminante en el medio marino sugiere que es producto del aporte del agua subterránea, y además, sugiere un origen antropogénico debido a que su concentración presentó una correlación positiva con la densidad poblacional de la zona muestreada (Gómez, 2020).

Otro estudio, realizado por Kiel, A. en 2012, en ojos de agua, pozos, norias y cenotes ubicados dentro del Anillo de Cenotes de Yucatán reportó en algunos de ellos la presencia de ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, DEET (N, N-dietil-meta-toluamida), triclosán y cafeína, clasificados como productos farmacéuticos y de cuidado personal. La concentración de la cafeína osciló entre 21-919 ng/L con una frecuencia del 40% (de un total de 30 sitios de muestreo), para el DEET (ingrediente activo de repelentes) fue del 80%, naproxeno 17%, ibuprofeno 13% y diclofenaco 3%, destacó el triclosán (desinfectante antimicrobiano) con una presencia en el 100% de los sitios (Kiel, 2012).

La presencia de cafeína sugiere fuertemente una contaminación de origen antropogénico, y si bien es difícil determinar su origen exacto, es una señal de alarma, pues acompañando a la cafeína pueden venir otros contaminantes que no se están evaluando y que pueden tener un comportamiento similar, como es el caso de los productos farmacéuticos y de cuidado personal.

En la **Figura 23** se presenta el análisis de coordenadas principales (PCO) correspondiente a la cuantificación de plaguicidas y cafeína en septiembre y octubre de 2021.

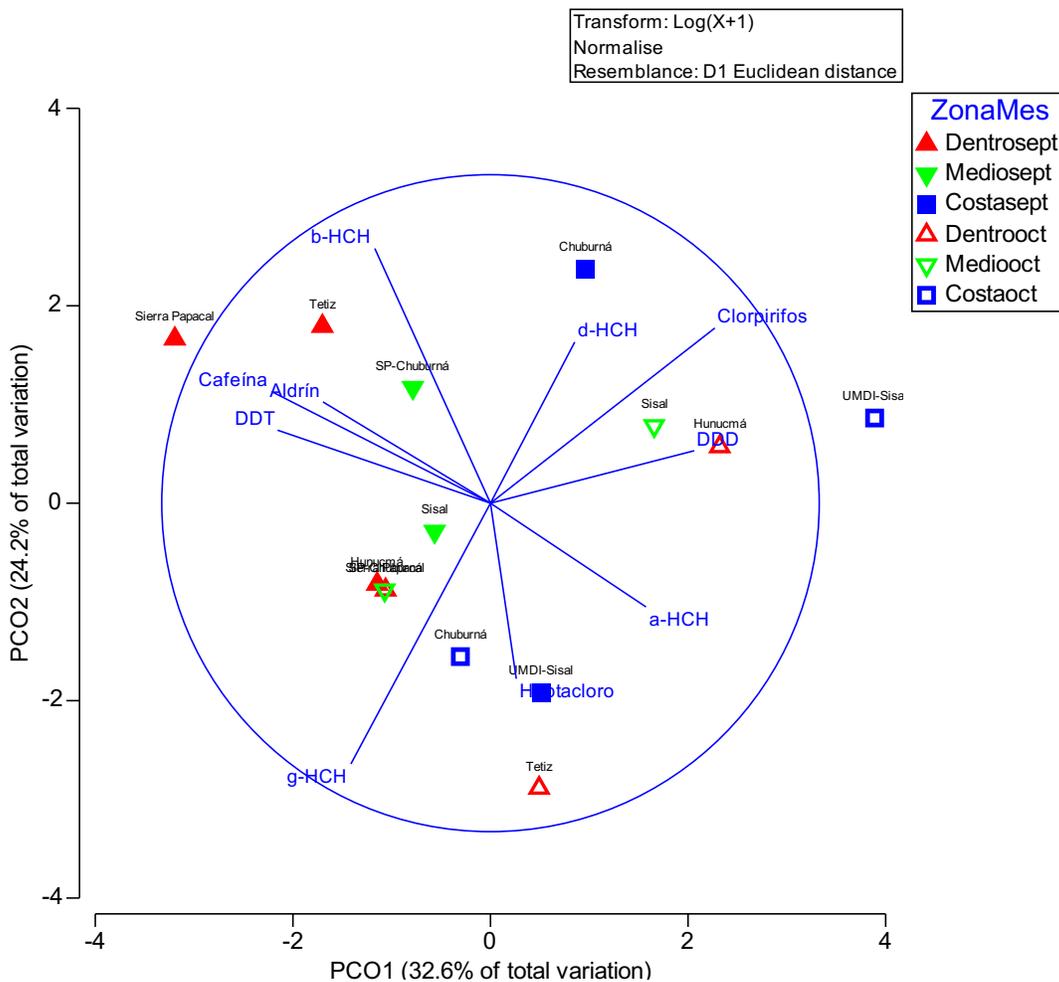


Figura 23. Análisis de coordenadas principales de la cuantificación plaguicidas y cafeína en septiembre y octubre de 2021.

Los primeros dos ejes del PCO explican un 56.8% de la variación total. De acuerdo a lo obtenido no se logra apreciar algún patrón en la distribución de los datos por lo que se

puede interpretar que los valores de contaminantes son similares entre sí de acuerdo a las zonas de estudio y entre los meses del muestreo. Cabe señalar que los pozos de Sierra Papacal, Tetiz y el SP-Chuburná del mes de septiembre tienen una distribución similar y se encuentran descritos, entre otras variables, por la cafeína. La cafeína se puede apreciar que tiene cierta asociación con las variables DDT, aldrín y b-HCH, lo cual resulta interesante, pues la cafeína se empleó como un trazador de la contaminación antropogénica. Los pozos Sisal, Hunucmá y UNAM-Sisal durante el mes de octubre se caracterizan por presentar una elevada concentración de clorpirifos. El resultado del PERMANOVA arrojó que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la interacción de los factores zona y mes. Al evaluar cada factor por separado tampoco se encontró diferencias entre ellos

11.2.3 Hidrocarburos policíclicos aromáticos

En la **Tabla 14** se presentan los resultados obtenidos de la cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) analizados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM). Los datos completos se presentan en el **Anexo 4**. Se pudieron detectar un total de cuatro PAHs (**Figura 24**) de los 16 que fueron buscados (**Tabla 5**). El sitio que tuvo la mayor cantidad de PAHs detectados fue el pozo UNAM-Sisal con 3 durante octubre (**Figura 26**).

El B(b)fluoranteno y B(k)fluoranteno no pudieron ser identificados individualmente por lo que en la cuantificación se consideraron como un solo compuesto. Esta mezcla fue la más frecuente, pues se encontró en el 92.86% de las muestras.

Tabla 14. Resultados de la cuantificación de PAHs por CG-EM.

PAH	Frecuencia %	Rango (ng/L)
Naftaleno	14.29	ND-2.63
Acenaftileno	28.57	<LD-7.46
Acenafteno	0	ND-<LD
Fluoreno	0	<LD
Fenantreno	0	ND-<LD
Antraceno	0	<LD
Fluoranteno	0	ND-<LD
Pireno	0	<LD
B(a)antraceno	0	ND-<LD
Criseno	0	ND-<LD
B(b)fluoranteno + B(k)fluoranteno	92.86	<LD-14.26
B(a)pireno	7.14	ND-2.88
PAHs totales	-	9.08-17.44

<LD: por debajo del límite de detección; ND: no detectado.

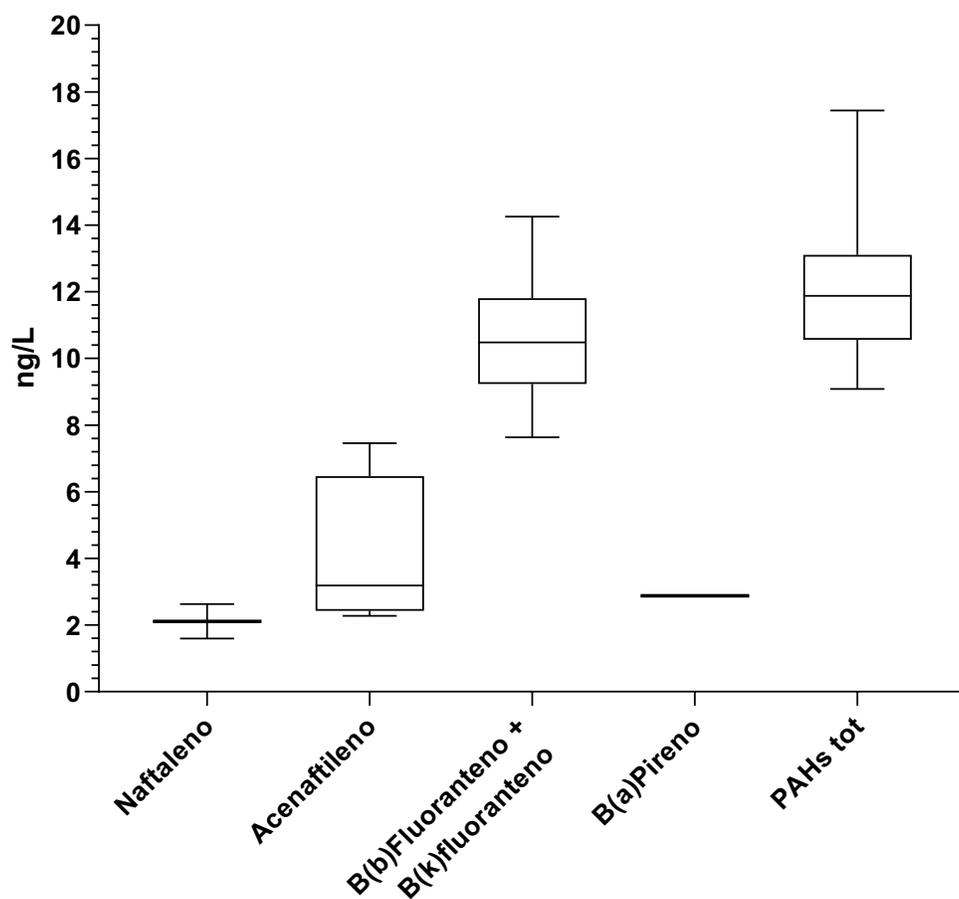


Figura 24. Resultados de la cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos analizados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

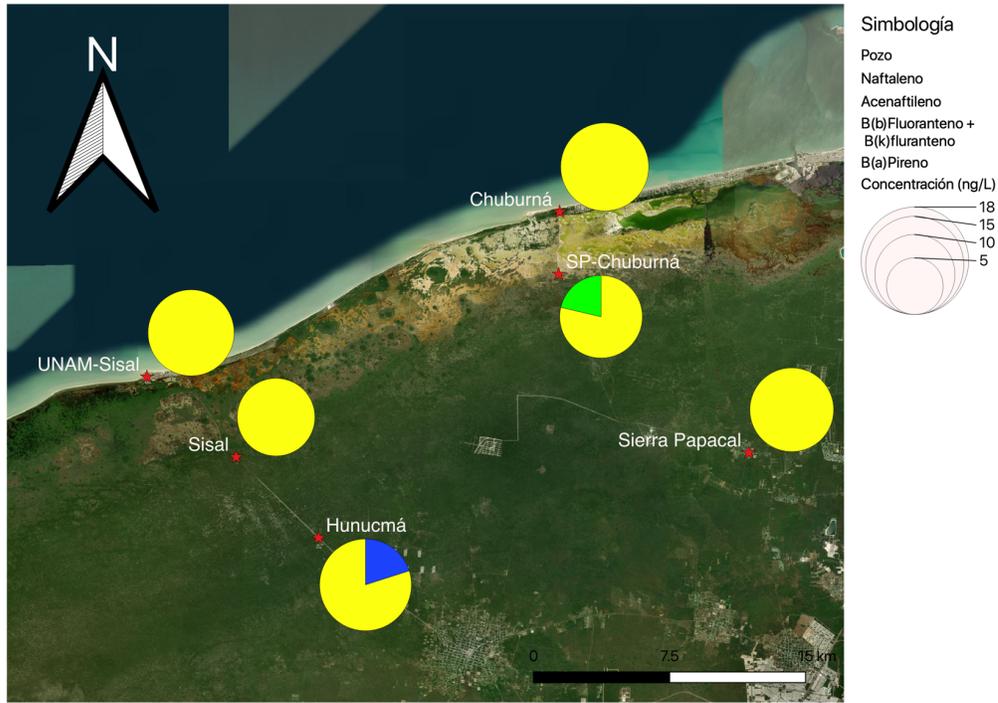


Figura 25. PAHs detectados en septiembre de 2021.

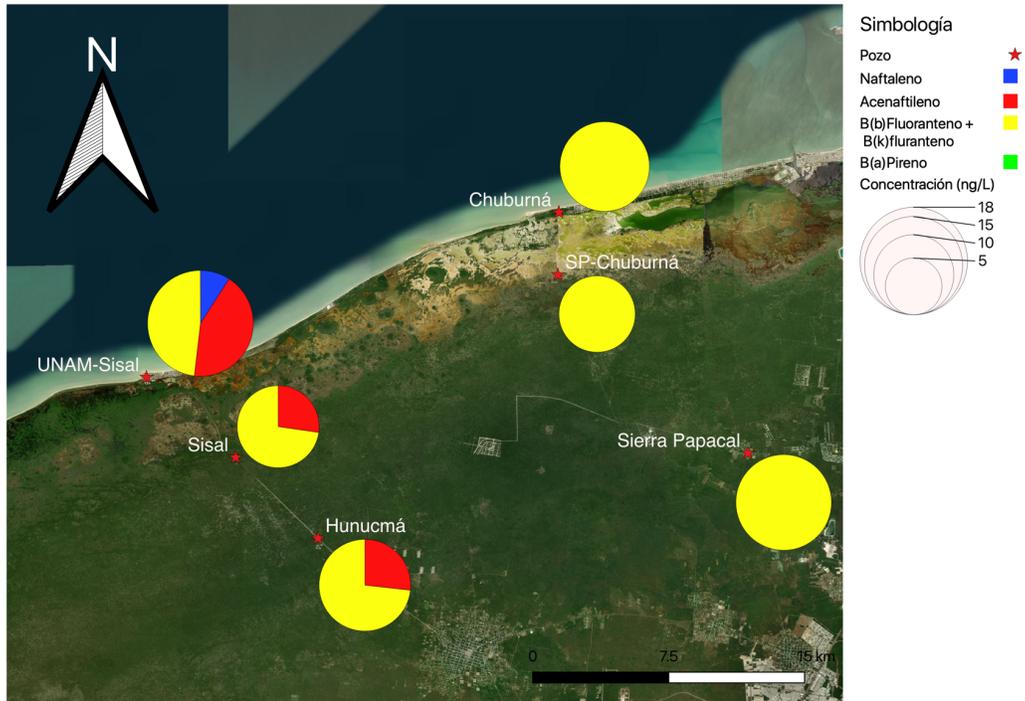


Figura 26. PAHs detectados en octubre de 2021.

De acuerdo a la **Tabla 15**, los PAHs detectados oscilaron entre 2-5 anillos, es decir, PAHs de bajo peso molecular (BPM, 2-3 anillos) y de alto peso molecular (APM, 4-6 anillos) (Zhang, 2008). El B(b)fluoranteno, B(k)fluoranteno y Benzo(a)pireno fueron los PAHs de más alto peso molecular que pudieron ser detectados. Los PAHs disminuyen su solubilidad en agua conforme aumenta su peso molecular, debido a esto es más frecuente encontrar PAHs más pequeños en el agua en comparación de los sedimentos, en donde es posible encontrar incluso los PAHs más pesados como el Dibenzo(a,h)antraceno, Benzo(g,h,i)perileno e Indenol (1,2,3-cd)pireno como lo reportó Alam en 2014 (**Figura 2**) (Tobiszewski, 2012; Alam, 2014).

Arroyo en 2018 realizó un estudio en aguas y sedimentos de cenotes ubicados dentro del Anillo de Cenotes en la búsqueda de PAHs durante época de lluvias y secas. Durante el mes de octubre de 2015 (época de lluvias) encontró en aguas, valores totales que fueron de 1.24–12.07 ng/L, mayores en comparación a la época de secas, pero menores en comparación a lo cuantificado en los sedimentos, en la misma temporada que fue de 25.11–94.75 ng/L, este comportamiento obedece a su baja solubilidad en agua, como se mencionó con anterioridad (Arroyo, 2018). El mismo comportamiento se reportó por Alam y colaboradores en 2014, donde evaluaron la presencia de PAHs en agua y sedimentos de un río subterráneo en un sistema kárstico, donde el valor promedio para el agua subterránea fue de 1,699 ng/L y de sedimentos de 3,612 ng/L (Alam, 2014).

Los PAHs son liberados al medio ambiente como una mezcla y para determinar presuntivamente su origen se suelen usar índices entre dos o más PAHs, que generalmente involucra a los que tienen pesos moleculares y propiedades fisicoquímicas similares (Tobiszewski, 2012).

Tabla 15. Información general de los PAHs analizados por CG-EM.

PAH	Fórmula molecular	Peso molecular (g/mol)	Solubilidad en agua (mg/L) a 25°C	Número de anillos
Naftaleno (Nph)	C ₁₀ H ₈	128.17	31	2
Acenaftileno (Acy)	C ₁₂ H ₈	152.19	16	3
Acenafteno (Acn)	C ₁₂ H ₁₀	154.21	3.8	3
Fluoreno (Flu)	C ₁₃ H ₁₀	166.22	1.9	3
Fenantreno (Phe)	C ₁₄ H ₁₀	178.23	1.1	3
Antraceno (Ant)	C ₁₄ H ₁₀	178.23	0.04	3
Fluoranteno (Flt)	C ₁₆ H ₁₀	202.25	0.2	4
Pireno (Pyr)	C ₁₆ H ₁₀	202.25	0.13	4
Benzo(a)antraceno (BaA)	C ₁₈ H ₁₂	228.29	0.011	4
Criseno (Chr)	C ₁₈ H ₁₂	228.29	0.0019	4
Benzo(b)fluoranteno (BbF)	C ₂₀ H ₁₂	252.31	0.0015	5
Benzo(k)fluoranteno (BkF)	C ₂₀ H ₁₂	252.31	0.0008	5
Benzo(a)pireno (BaP)	C ₂₀ H ₁₂	252.31	0.0015	5
Dibenzo(a,h)antraceno (DhA)	C ₂₂ H ₁₄	278.35	0.0005	5
Benzo(g,h,i)perileno (BgP)	C ₂₂ H ₁₂	276.33	0.00014	6
Indeno(1,2,3-cd)pireno (IPy)	C ₂₂ H ₁₂	276.33	0.00019	6

En la **Tabla 16** se señalan algunos índices empleados para determinar el posible origen de los PAHs. El índice entre los PAHs de bajo y alto peso molecular (BPM/APM) fue el único que pudo ser calculado en algunos sitios (Tetiz, Hunucmá y Sisal) donde se determinó un origen pirogénico, el único pozo que indicó una fuente petrogénica fue el de la UNAM-Sisal. Para poder analizar a fondo el origen de los PAHs en los sitios de muestreo, es necesario realizar más mediciones en agua e incluso en sedimentos, sin embargo, eso está más allá de los objetivos planteados en el presente trabajo.

Tabla 16. Índices empleados para determinar el origen de los PAHs (Alam, 2014; Zhang, 2008).

Índice	Pirogénico	Petrogénico
BPM/APM	<1	>1
Phe/Ant	<10	>15
Flt/Flt+Pyr	>0.5	<0.4
Ant/Ant+Phe	>0.10	<0.10
BaA/(BaA/Chr)	>0.35	<0.2

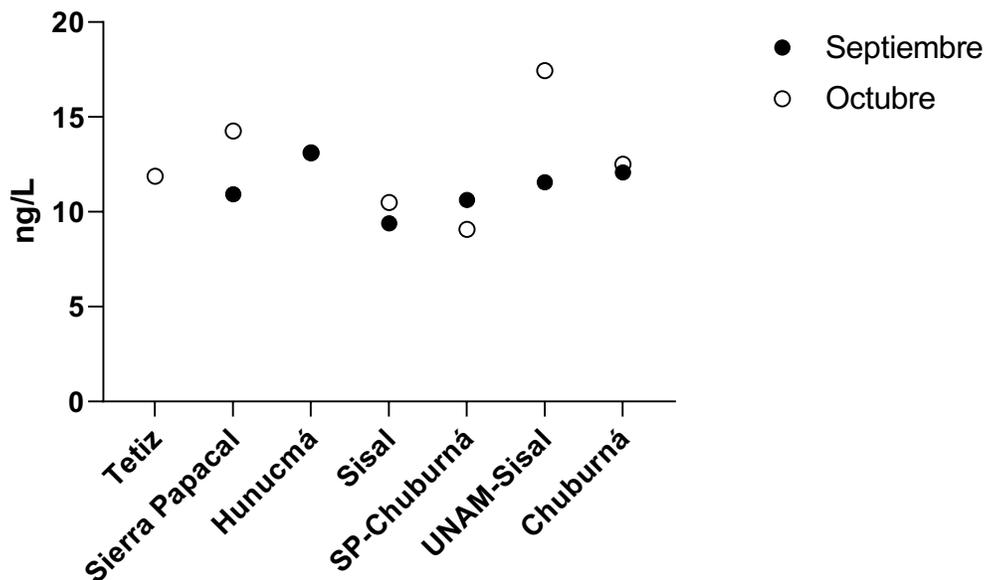


Figura 27. Distribución de los PAHs totales.

La mayor concentración de PAHs totales fue en el pozo UNAM-Sisal (17.44 ng/L) seguido por el de Sierra Papacal (14.26 ng/L) ambos durante octubre. La Unión Europea es la única que tiene un máximo permitido para PAHs totales, siendo el límite 100 ng/L, de acuerdo a lo anterior ninguno de los sitios lo sobrepasa (**Tabla 17**). A diferencia del patrón de distribución concentración-distancia observado en los plaguicidas, en el caso de los PAHs no hubo el mismo comportamiento (septiembre $r_s = -0.143$, $p = 0.803$; octubre $r_s = -0.036$, $p = 0.963$).

El único PAH que se encuentra señalado por la NOM-127-SSA1-1994 (el valor señalado en la tabla se tomó del Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Publicada el 6 de diciembre de 2019 en el Diario Oficial de la Federación), la EPA, Unión Europea y la OMS, es el benzo(a)pireno. A pesar que en ningún pozo se sobrepasaron los límites establecidos, vale la pena señalar la concentración de 2.88 ng/L encontrada en el pozo SP-Chuburná durante el mes de septiembre, pues si bien el valor no sobrepasa el de la Unión Europea, es considerablemente más alto que lo encontrado en los demás sitios. El benzo(a)pireno es el PAH más carcinogénico dentro de los 16 prioritarios, pues está clasificado como

carcinogénico a humanos según el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) de la Organización Mundial de la Salud (IARC, 2022; Reizer, 2022).

Tabla 17. Límites permitidos para PAHs en agua para consumo humano.

Normatividad	B(a)pireno	PAH totales
PROY-NOM-127-SSA1-2017	700	-
EPA	200	-
Unión Europea (UE)	10	100*
OMS	700	-

*Compuestos especificados: benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, indeno(1,2,3-cd)pireno.

El PCO correspondiente a las concentraciones de PAHs se encuentra en la **Figura 28**.

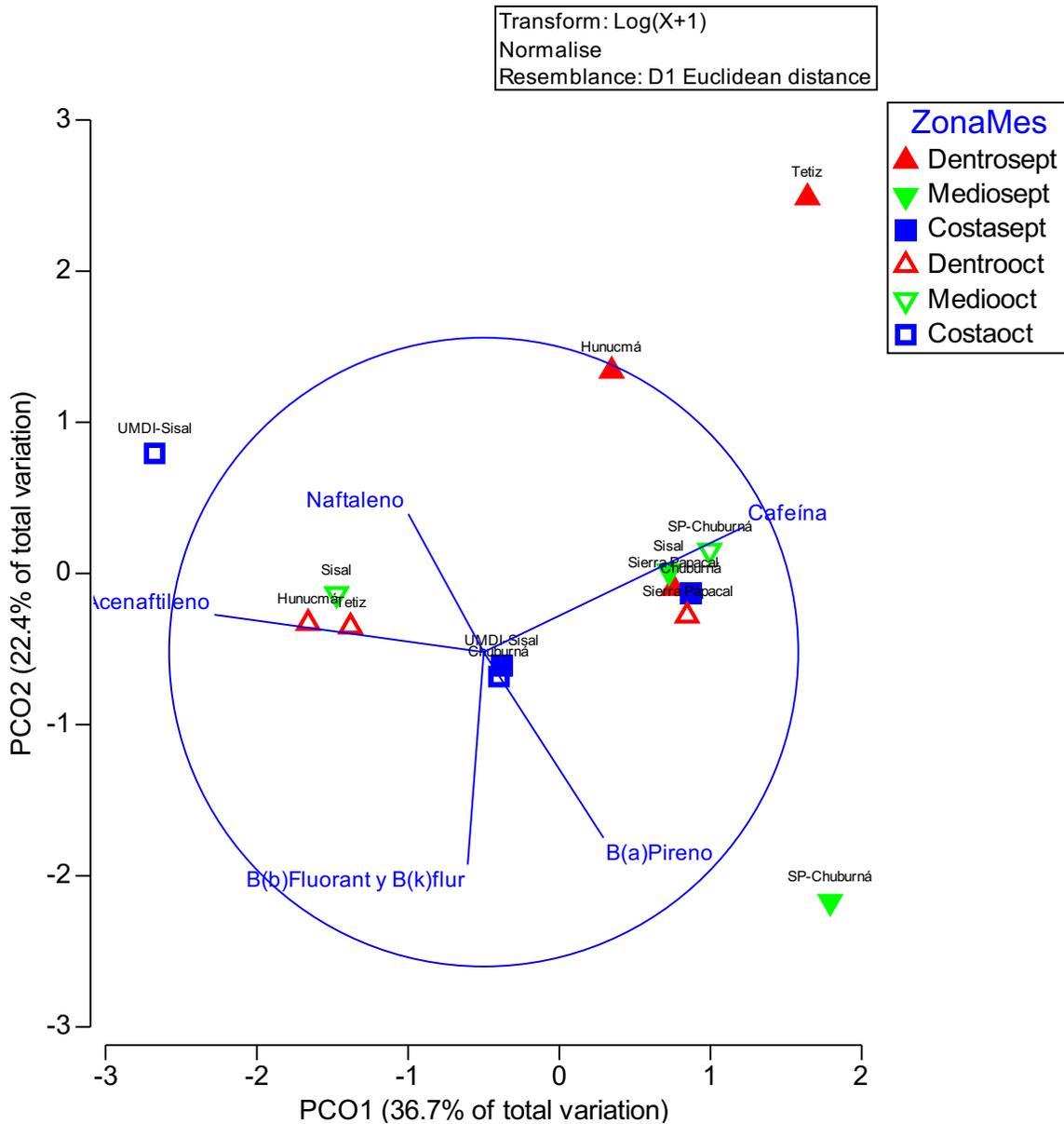


Figura 28. . Análisis de coordenadas principales de la cuantificación de PAHs en septiembre y octubre de 2021.

Los primeros dos ejes del PCO representaron el 59.1% de la variación total. De acuerdo a la representación no se aprecia algún patrón en la distribución de los sitios. Se podrían destacar los pozos de la UNAM-Sisal durante el mes de octubre, que está bien descrito por el acenaftileno, y el pozo de SP-Chuburná en septiembre, que se diferencia del resto por su contenido de B(a)pireno.

El PERMANOVA realizado arrojó que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la interacción de los factores zona y mes. Al evaluar por separado ambos factores se encontró que en ninguno de los dos hubo diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados son similares a los obtenidos para plaguicidas.

11.3 Largo de raíz, índice mitótico y aberraciones nucleares

Para el índice mitótico se buscaron células que se encontraran en alguna de las cuatro fases de la mitosis como se señala en la **Figura 29**. El largo de raíz e índice mitótico se emplearon como indicadores generales de citotoxicidad. Los resultados del largo de raíz se presentan en la **Figura 30** y los del índice mitótico en la **Figura 31**.

A la par del análisis del índice mitótico, se realizó la búsqueda de células con alguna aberración nuclear, específicamente micronúcleos, sin embargo, no se encontraron células con estas características a pesar de la revisión de aproximadamente 14,000 células. Este resultado se ha observado en otros estudios en el grupo control (Sik, 2009; Salazar, 2019; Feretti, 2007).

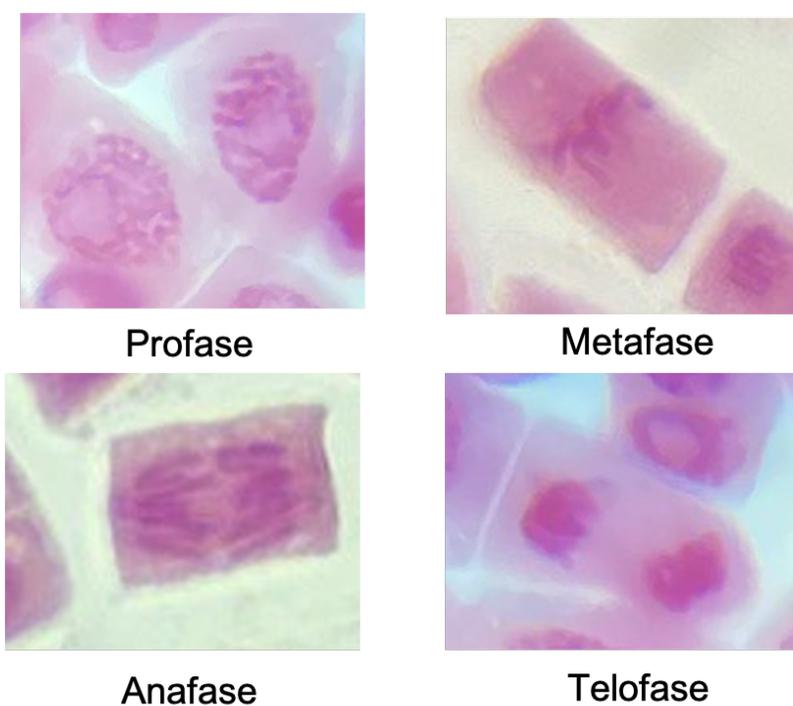


Figura 29. Fases de la mitosis.

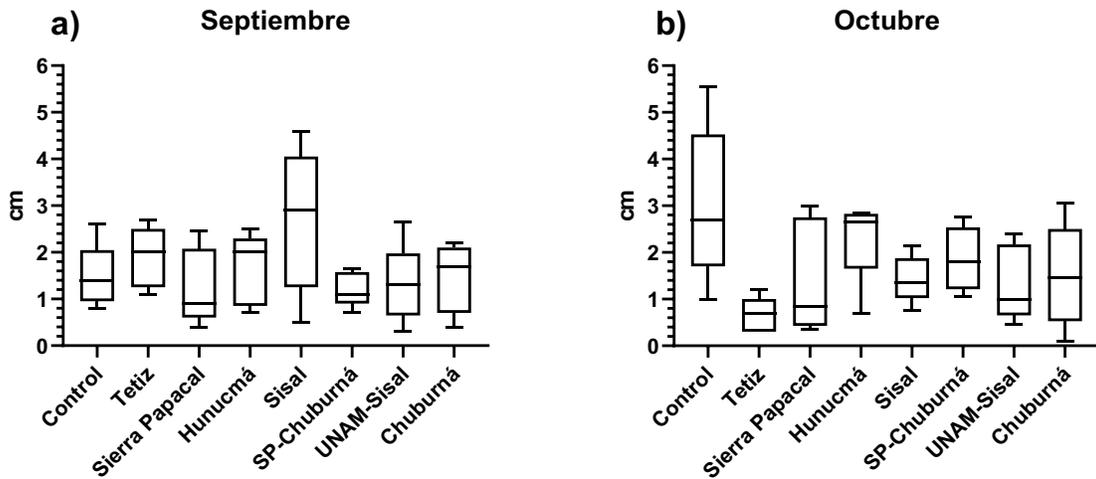


Figura 30. Gráfico de caja y bigotes del largo de raíz (cm) en los diferentes sitios de estudio.

El largo de raíz en ambos meses de muestreo presentó un comportamiento relativamente similar de las muestras con respecto al control, como se puede apreciar en la **Figura 30**.

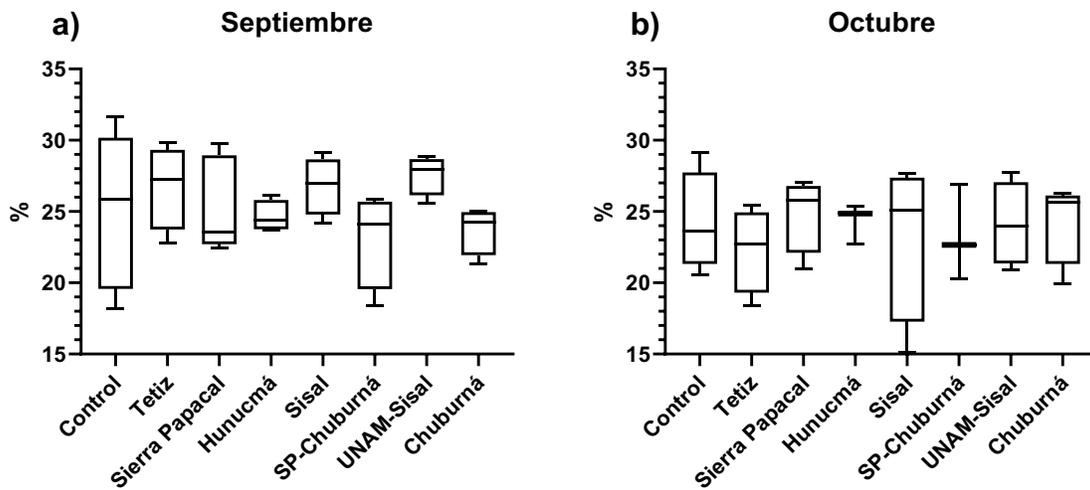


Figura 31. Gráfico de caja y bigotes del índice mitótico (%).

En cuanto al índice mitótico, al igual que para el largo de raíz, el comportamiento para ambos meses fue bastante similar entre ellos y en relación con el grupo control (**Figura 31**). Se le realizó un análisis multivariado al índice mitótico y largo de raíz para ver la interacción

entre estos parámetros toxicológicos. El análisis de coordenadas principales (PCO) resultante se presenta a continuación.

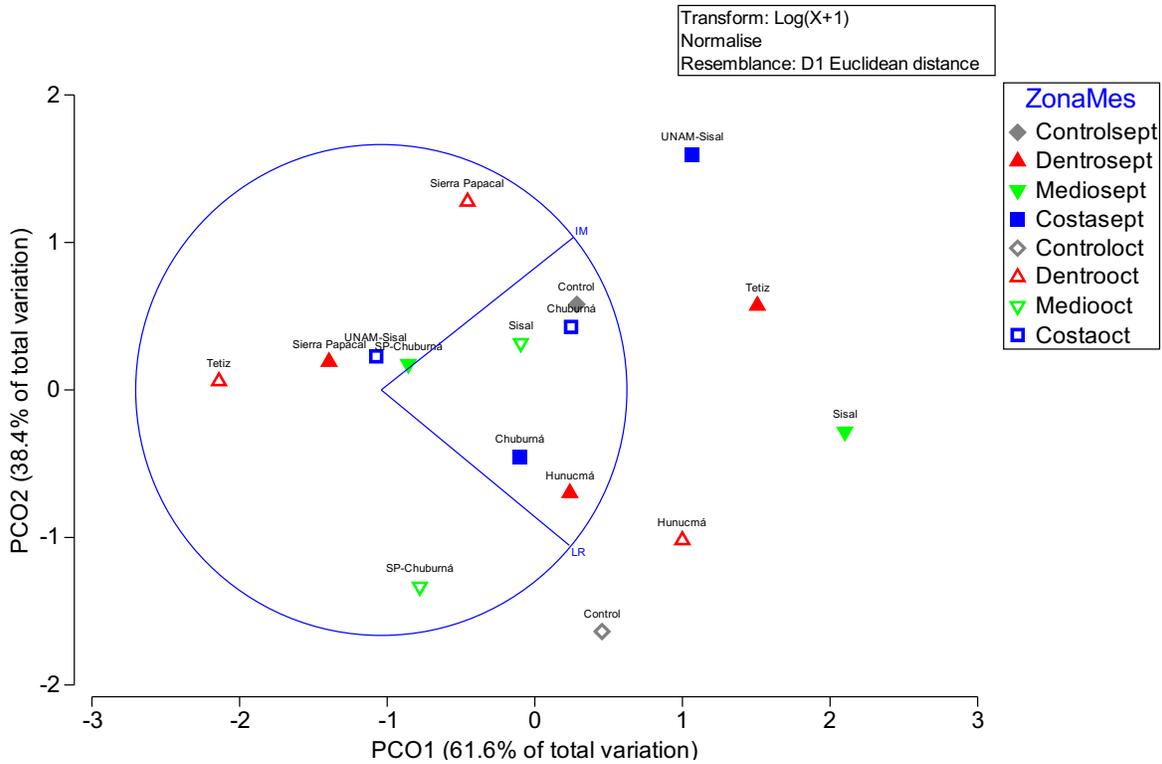


Figura 32. Análisis de coordenadas principales para las variables largo de raíz e índice mitótico.

De acuerdo a la representación del PCO no se aprecia algún patrón en la distribución de los sitios de acuerdo a las variables largo de raíz e índice mitótico. Se aplicó un PERMANOVA encontrando que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre la interacción de los factores zona y mes. Al evaluar por separado ambos factores, se encontró que en ninguno de ellos hubo diferencias estadísticamente significativas, es decir no hubo diferencia entre las zonas o meses de muestreo en cuanto al comportamiento del largo de raíz e índice mitótico. Lo anterior puede ser resultado de múltiples factores, incluyendo: la buena calidad del agua subterránea que se evaluó, entendiendo como buena calidad la ausencia de contaminantes en concentración suficiente para ejercer un daño genotóxico y citotóxico en *A. cepa*.

Los estudios en donde se ha empleado *A. cepa* para evaluar la calidad del agua, mayormente son de sitios con una elevada contaminación como efluentes industriales, agua de desechos domésticos y agricultura, generalmente el agua empleada proviene de fuentes superficiales como ríos o lagos (Dimuthu, 2019; Pereira, 2020; Sik, 2009) de manera que los contaminantes no sufren la atenuación debido al filtrado que tiene el agua subterránea, por lo que es probable que los contaminantes se encuentren en una concentración suficiente para causar daño a las células, sin embargo, en estos estudios no se realizaron búsquedas dirigidas hacia algún contaminante en especial.

Otro tipo de estudios emplean *A. cepa* para evaluar el efecto genotóxico y citotóxico de ciertos plaguicidas a concentraciones conocidas en vez de evaluar una muestra de agua ambiental. En estos estudios frecuentemente la elección de las concentraciones elegidas es realizada con base a la determinación experimental de la EC_{50} (concentración efectiva 50), que se refiere a la concentración del compuesto que induce la mitad del efecto máximo que, para *A. cepa* es usual la concentración que reduce el largo de raíz en un 50% en comparación del grupo control. En otros estudios se suelen emplear las dosis recomendadas por los fabricantes, por revisión bibliográfica o no se determina el criterio de selección de las concentraciones a evaluar (Camilo-Cotrim, 2022). En todos los casos anteriores las concentraciones evaluadas y ante las cuales se ha reportado un decremento en el índice mitótico, largo de raíz y aparición de micronúcleos eran mucho mayores a las detectadas en el presente estudio, un ejemplo de ello es el estudio de Fatma (2018), quien empleó el plaguicida organofosforado malatión con concentraciones crecientes (50, 130, 260, 390 y 520 mg/L) para medir, entre otros parámetros el índice mitótico, largo de raíz y daño de DNA (ensayo cometa). El largo de raíz e índice mitótico presentaron una disminución dosis dependiente a partir de la concentración de 130 mg/L y el daño al DNA apareció a partir de la concentración más baja (50 mg/L) (Kumar, 2020). Similar fue la evaluación del efecto fitotóxico de varias concentraciones de clorpirifos (5, 10, 15, 20, 25 y 30 mg/L) en semillas de *A. cepa*, encontrándose una disminución drástica del largo de raíz en comparación al grupo control (agua destilada) con la concentración más baja que fue de 5 mg/L.

El uso de biomarcadores enzimáticos, como la actividad 7-etoxiresofurina-O-deetilasa (EROD), en *A. cepa* se ha evaluado con concentraciones de plaguicidas (carbaril, HCB, DDT, 2,4-D, malatión, endosulfán) entre el rango de 0.2 a 1.2 ppb (200-1200 ng/L) encontrando un incremento en su actividad incluso en la menor concentración evaluada para el caso del carbaril y HCB. Este biomarcador es empleado frecuentemente para la medición del contenido del citocromo P450-1A (CYP1A) (Gagnon, 2017), que a su vez es empleado como un biomarcador de exposición a contaminantes orgánicos como dioxinas, PAHs y bifenilos policlorados (Blasco, 2016). De acuerdo a lo anterior es posible que los biomarcadores enzimáticos posean una mayor sensibilidad que el largo de raíz, índice mitótico y la formación de micronúcleos, por lo tanto, no se puede descartar por completo la ausencia de compuestos que puedan generar un efecto genotóxico o citotóxico en *A. cepa* en el agua de los pozos evaluados, pero de acuerdo a los biomarcadores señalados en los objetivos planteados en este estudio no se encontró algún efecto.

Se plantea que en bioensayos futuros se utilicen las fracciones orgánicas de muestras ambientales ya sea de agua o sedimentos, como una alternativa para una mayor recuperación de contaminantes que puedan estar presentes para poder así evaluar directamente su efecto en *A. cepa*, solucionando de esta manera el posible efecto del secuestro de contaminantes en la materia orgánica presente en las muestras (que disminuye su biodisponibilidad) y la falta de solubilidad de los contaminantes altamente hidrofóbicos, de manera que, aun estando en bajas concentraciones se pueda recuperar la mayor cantidad del contaminante ambiental.

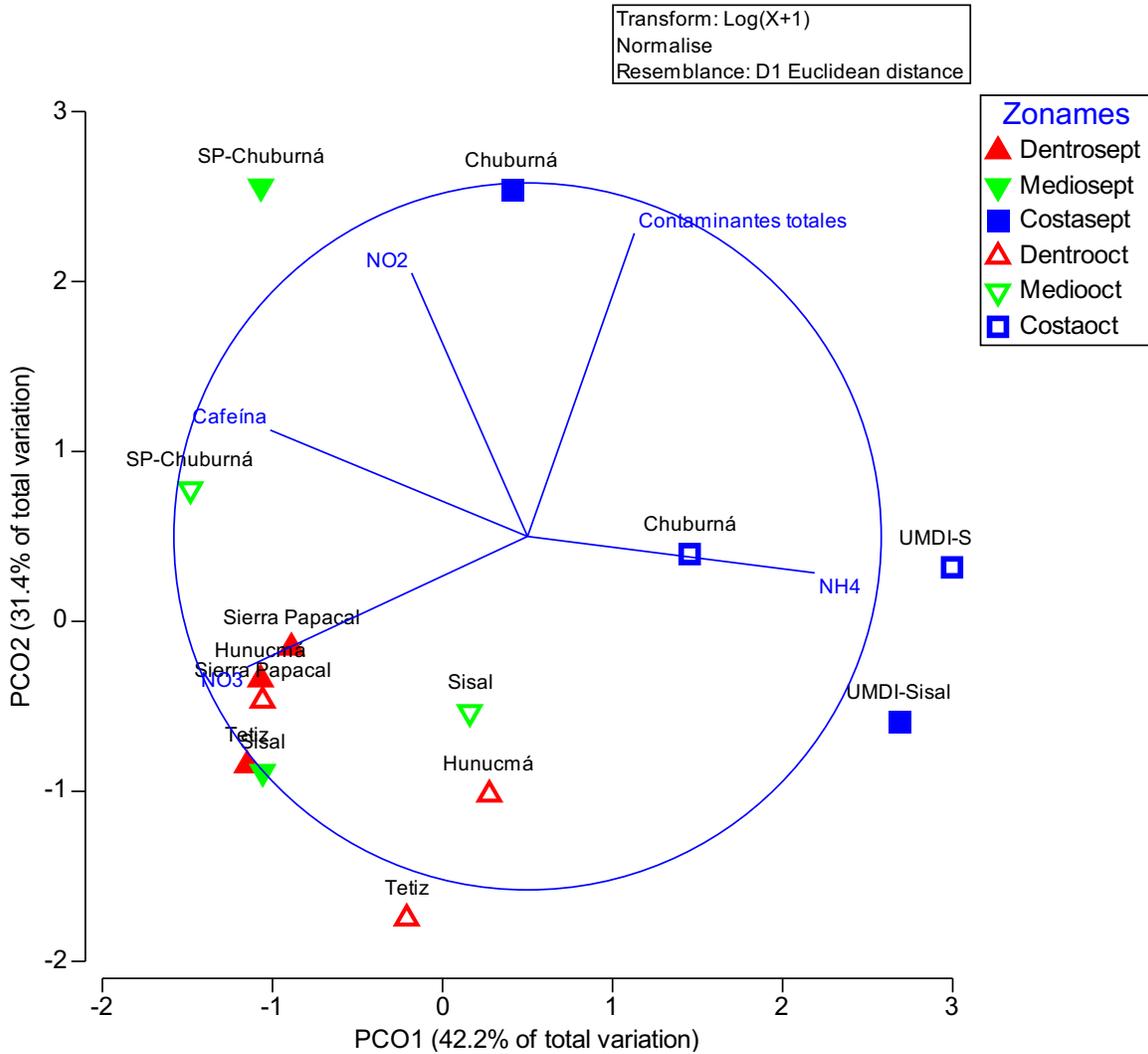


Figura 33. Análisis de coordenadas principales para las variables nitratos, nitritos, amonio, cafeína y contaminantes totales.

A manera de exploración se realizó un PCO (**Figura 33**) para evaluar la relación entre los compuestos nitrogenados (nitratos, nitritos y amonio), contaminantes totales (plaguicidas y PAHs) y la cafeína. El PCO explica con sus primeros dos componentes un 73.6% de la variación. La mayor diferenciación se aprecia en los pozos de la costa en ambos meses de muestreo, en el caso del pozo UNAM-Sisal se encuentra mejor descrito por su contenido en amonio. El pozo de SP-Chuburná en septiembre destaca por su contenido en nitritos, mientras que el resto de pozos se podría agrupar por su similar contenido en nitratos y su baja concentración de contaminantes totales. El pozo de Chuburná en el mes de septiembre

se diferencia del resto, pues es el que presenta una mayor contaminación en términos de contaminantes totales y nitritos.

Por último, se realizó una correlación de Spearman entre las variables índice mitótico, largo de raíz, plaguicidas totales, PAHs totales, cafeína, fosfatos, la suma de los compuestos nitrogenados (amonio, nitritos y nitratos) y parámetros fisicoquímicos con el fin de identificar si existe alguna relación entre ellos. Entre los parámetros toxicológicos largo de raíz e índice mitótico y las demás variables no se encontró alguna correlación estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Como se explicó con anterioridad, esto puede deberse entre otros factores, a una buena calidad del agua empleada en los bioensayos, la poca solubilidad de los contaminantes o a la baja biodisponibilidad de éstos. La presencia de compuestos nitrogenados y fosfatos en algunas de las muestras analizadas tampoco representó algún cambio en cuanto al crecimiento del largo de raíz e índice mitótico, a pesar de que son elementos empleados como fertilizantes en los cultivos, y específicamente para *A. cepa*, están reportados como sus principales nutrientes (Amare, 2020). Lo anterior podría deberse a que las cantidades presentadas de dichos elementos no fueron suficientes para generar una respuesta en los parámetros toxicológicos medidos. La cafeína, tampoco presentó correlación con alguno de los otros contaminantes cuantificados o con los nutrientes, esto puede indicar un patrón de distribución diferente a ellos, sin embargo, la presencia de este trazador antropogénico es de interés, pues es posible que acompañándolo se presenten bacterias coliformes y otros contaminantes emergentes (Leal-Bautista, 2011; Kiel, 2012). Destacaron las correlaciones entre los plaguicidas totales y la conductividad (Spearman, $r_s = 0.99$, $p = < 0.05$), plaguicidas y sólidos disueltos totales (Spearman, $r_s = 0.99$, $p = < 0.05$) e índice mitótico y potencial de óxido reducción (Spearman, $r_s = -0.83$, $p = < 0.05$). De acuerdo a lo obtenido en las correlaciones y lo que se observa en la **Figura 10c** y **Figura 10d**, el comportamiento entre sólidos disueltos totales (SDT) y conductividad eléctrica (CE) es el mismo, pues como se explicó con anterioridad ante un mayor aumento de sales disueltas (en los STD) existe una mayor CE, además que se aprecia un incremento conforme disminuye su distancia a la costa, esto debido a que el espesor de

la capa de agua dulce se hace menor conforme se acerca a la costa (Canul, C., 2020). Los SDT y CE, se correlacionaron positivamente con la concentración total de plaguicidas, tal como se aprecia en la **Figura 18d** donde se presenta la gráfica de concentración total de plaguicidas ordenada de una mayor a una menor cercanía a la costa, encontrándose que ante una menor distancia a la costa existe una mayor concentración de plaguicidas. La correlación entre los SDT y la CE con la concentración total de plaguicidas podría explicarse debido a que el flujo subterráneo con sentido de sur hacia la costa incrementa por arrastre la concentración de plaguicidas totales al mismo tiempo que la concentración de sales en el agua aumenta mientras más cercana esté la costa.

12 CONCLUSIONES

La medición de parámetros fisicoquímicos fue realizada con el fin de caracterizar la zona de estudio, destacando la cantidad de sólidos disueltos totales detectados. El pozo de Chuburná se considera como agua salobre y los de Sierra Papacal, Chuburná, Tetiz, Hunucmá y UNAM-Sisal fueron ligeramente salobres de acuerdo a la RENAMECA. Vale la pena continuar el monitoreo de éstos ya que el agua con estas características de salinidad no es apta para consumo humano.

Los compuestos nitrogenados (amonio y nitritos) sobrepasaron los límites en los pozos de SP-Chuburná, Hunucmá y UNAM-Sisal. Los nitratos se encontraron dentro de lo indicado por la norma, sin embargo, no se descarta que puedan incrementar sus niveles en un futuro como consecuencia del uso de fertilizantes y crecimiento de la población.

Los plaguicidas organoclorados fueron detectados en todos los sitios con la mayor concentración detectada en el pozo de Chuburná. Fue posible cuantificar compuestos que se encuentran actualmente prohibidos o restringidos como el aldrín, DDT, lindano y heptacloro. Ninguno de los compuestos sobrepasó los límites para agua de consumo humano, sin embargo, es conveniente continuar su monitoreo, pues a pesar de su regulación, al día de hoy aún se utilizan, especialmente en la zona agrícola del sur del estado, área de recarga del acuífero.

La cafeína se pudo detectar en el 57% de las muestras analizadas, únicamente en el pozo UNAM-Sisal no se detectó en ninguno de los meses. Su presencia llama la atención debido a que la fuente de ésta es únicamente antropogénica e indica que están llegando al agua subterránea desechos domésticos, que pueden acarrear otros contaminantes como medicamentos o desinfectantes, que no son parámetros tomados en consideración cuando se mide la calidad del agua para consumo humano.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se detectaron en todos los pozos con concentraciones relativamente similares entre ellos, y presuntivamente su origen es

pirogénico, a excepción del pozo UNAM-Sisal. Es importante destacar la detección de benzo(a)pireno en el pozo de SP-Chuburná en una concentración de 2.88 ng/L, ya que este PAH es clasificado como carcinogénico para seres humanos.

Los parámetros toxicológicos medidos en los bioensayos no presentaron alguna influencia por su interacción con las muestras ambientales. A pesar de que se realizó la búsqueda de ciertos contaminantes, no se puede dejar de lado que posiblemente exista la presencia de otros en las muestras recolectadas, sin embargo, su concentración o biodisponibilidad no fue suficiente para significar un cambio en el índice mitótico, largo de raíz o formación de micronúcleos.

En resumen, se puede decir que el agua de la zona monitoreada es buena en términos de daño genotóxico y citotóxico en *A. cepa*. A pesar de lo anterior se detectó la presencia de plaguicidas, hidrocarburos policíclicos aromáticos y cafeína, por lo que se recomienda continuar con su biomonitoreo. A medida que pasa el tiempo, mayor es la influencia antropogénica en la zona, aumentando así la posible contaminación del acuífero y, por otro lado, la demanda de agua. La variación entre uno y otro mes de muestreo fue mínima, por lo que se recomienda para estudios futuros realizar los muestreos en las diferentes épocas climatológicas, así como realizar la extracción de los componentes orgánicos de las muestras ambientales y la realización de bioensayos con concentraciones conocidas de contaminantes y controles positivos para poder determinar la sensibilidad y funcionamiento de la prueba.

13 REFERENCIAS

1. Abdel-Shafy, H.; Mansour, M. 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human. Egyptian Journal of Petroleum, v25, p. 107-123.
2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2013, Nitrate/Nitrite Toxicity, U.S. Department of Health and Human Services. Course: WB2342. Recuperado de: https://www.atsdr.cdc.gov/csem/nitrate-nitrite/how_use.html
3. Aguilar-Duarte, Y., Bautista, F., Mendozam M., Frausto, O., Ihl, T., Delgado, C. 2016. IVAKY: índice de la vulnerabilidad del acuífero kárstico yucateco a la contaminación. Revista Mexicana de Ingeniería Química, v.15(3), p.913-933.
4. Alam, M., Yuan, D., Jun, Y., Sun, Y., Li, Y., Xu, X. 2014. Sources and transports of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Nanshan Underground River, China. Environmental Earth Sciences, v71, p. 1967-1976.
5. Amare, G. 2020. Review on mineral nutrition of Onion (*Allium cepa* L), The Open Biotechnology Journal, v14, p.134-144.
6. Aranda, N. 2011. Nitrogen and phosphorus budgets for the Yucatan littoral: An approach for groundwater management. Environmental Monitoring Assessment, v172, p. 493-505.
7. Árcega, F.; Robledo, P.; Rodríguez, G.; Durán, J. Los ojos de Yucatán: una ventana al mundo subterráneo. 1ª ed. Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México; 2021. p. 78-81, 276
8. Arroyo Silva Anita. 2018. Biomarcadores en músculo de *Gambusia yucatanana* para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos, en cuerpos de agua de Yucatán, México. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
9. Ayuntamiento de Mérida, 2022, Recuperado de: <http://www.merida.gob.mx/comisarias/php/contenido/sierra-papacal.htm>

10. Baan, R., Stewart, B., Straif, K. Tumor site concordance and mechanisms of carcinogenesis, Francia: International Agency for Research on Cancer, IARC Scientific; 2019, Publication No. 165.
11. Barbério, A. 2013. Bioassays with Plants in the Monitoring of Water Quality. In Elshorbagy, W and Chowdhury, R., Water Treatment. InTech. p. 317-325
12. Bauer-Gottwein, P. et al. 2011. Review: the Yucatan Peninsula karst aquifer, Mexico. Hydrogeology Journal, v19, p. 507-509.
13. Blasco, J., Chapman, P., Campana, O., Hampel, M. Marine Ecotoxicology: current knowledge and future issues. Academic Press; 2016, p.121-142.
14. Boeykens, S., Piol, M., Samudio, L., Saralegui, A., Vázquez, C. 2017. Eutrophication decrease: Phosphate adsorption processes in presence of nitrates. Journal of Environmental Management, v203, p.888-895.
15. Camilo-Cotrim, C., Luiz, E., Souza, L., Melo, F., Madureira, L. 2022. What can the Allium cepa test say about pesticide safety? A review. Environmental Science and Pollution Research. v29, p.48088-48104.
16. Campbell, W., Song, P., Barbier, G. 2006. Nitrate reductase for nitrate analysis in water. Environmental Chemistry Letters, v4, p.69-73.
17. Canul, C. 2020. Dinámica de la interfase salina del acuífero de la costa noreste de Yucatán y escenarios frente al incremento del nivel medio del mar. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México.
18. Carey, N., Jing, L. An Introduction to Interdisciplinary Toxicology: From Molecules to Man. Academic Press; 2020. p. 97-105.
19. Caritá., R., Marin-Morales, M. 2008. Induction of chromosome aberrations in the Allium cepa test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. Chemosphere, v72, p.722-725.
20. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE), 2022. Lista de insumos redomendados para el combate de insectos vectores 2022. Recuperado de:

<https://www.gob.mx/salud/cenaprece/documentos/lista-de-insumos-recomendados-para-el-combate-de-insectos-vectores-2022?idiom=es>

21. Chislock, M., Doster, E., Zitomer, R., Wilson, A. 2013. Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education Knowledge*, v4(4), p. 10.
22. Cohn, B., Wolff, M., Cirillo, P., Sholtz, R. 2007, DDT and Breast Cancer in Young Women: New Date of the Significance of Age at Exposure, *Environmental Health Perspectives* , v115(1), p.406-414.
23. CONAGUA, 2022, Acuíferos (nacional). Recuperado de: <http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=acuiferos&ver=mapa>
24. Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP), enmendado en 2009, Texto y anexos. p.33-34.
25. Derrien, M., Arcega, F., Velazquez, N., Kantun, C., Capella, S. 2015. Sources and distribution of organic matter along the Ring of Cenotes, Yucatan, Mexico: Sterol markers and statistical approaches. *Science of the Total Environment*, v511, p223-224.
26. Diario Oficial de la Federación, 3 de enero de 1991. Relación de plaguicidas prohibidos para su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso en México.
27. Diario Oficial de la Federación, 6 de noviembre de 2019. Decreto por el que se modifica la tarifa de la Ley de los Impuestos Generales de importación y de exportación, el decreto por el que se establecen diversos programas de promoción sectorial, el decreto por el que se establece el impuesto general de importación para la región fronteriza y la franja fronteriza norte y el decreto para el fomento de la industria manufacturera, maquiladora y de servicios de exportación.
28. Dimuthu, W., Wadasinghe. L. 2019. Allium cepa bio assay to asses the water and sediment cytogenotoxicity in a tropical stream subjected to multiple point and nonpoint source pollutatns. *Journal of toxicology*. v2019.

29. Domagalski, J., Johnson, H. 2012. Phosphorus and groundwater: establishing links between agricultural use and transport to streams, U. S. Geological Survey.
30. Durán, R.; Méndez, M. Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán. México: CICY, PDD-FMAN, CONABIO, SEDUMA; 2010. p. 12-13
31. EPA, 2021, Field measurement of oxidation-reduction potential, U.S. Environmental Protection Agency. Recuperado de: https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-07/documents/field_measurement_of_orp113_af.r2.pdf
32. Estrada-Medina, H., Jiménez, J., Álvarez, O., Barrientos, R. 2019. El karst de Yucatán: su origen, morfología y biología. Acta Universitaria, v29.
33. Fatma, F., Verma, S., Kamal, A., Srivastava, A. 2018. Phytotoxicity of pesticides mancozeb and chlorpyrifos: correlation with the antioxidative defence system in *Allium cepa*. Physiology and Molecular Biology of Plants., v24, p.115-123.
34. Feretti, D., Zerbini, I., Zani, C., Ceretti, E., Moretti, M., Monarca, S. 2007. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. Food Additives and Contaminants, v24(6), p.561-572.
35. Fiskesjo, G. 1985. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas, v102, p. 99-112.
36. Fiskesjo, G. 1988. The *Allium cepa* test an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research, v197, p.243-260.
37. Fiskesjo, G., 1993. The *Allium cepa* test in wastewater monitoring. Environmental Toxicology and Water Quality: an International Journal, v8, p291-298.
38. Gagnon, M., Rawson, C. 2017. Bioindicator species for EROD activity measurements: A review with Australian fish as a case study. Ecological Indicators. v73, p.166-180.
39. Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., van de Zee, S., Ritsema, C. 2015. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. International Soil and Water Conservation Research, v3, p.57-65.

40. Giácoman-Vallejos, G., Lizarraga-Castro, I., Ponce-Caballero, C., González-Sánchez, A., Hernández-Núñez, E. 2018, Presence of DDT and Lindane in Karstic Groundwater Aquifer in Yucatan, Mexico, *Groundwater Monitoring & Remediation*, v28(2), p. 68-78.
41. Gobierno de México, 2020. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sectur/articulos/sisal-yucatan>
42. Gobierno del Estado de Yucatán, 2022, Recuperado de: <https://www.yucatan.gob.mx/estado/municipios.php>
43. Gobierno del Estado de Yucatán, Secretaría de Desarrollo Sustentable, 2022, https://sds.yucatan.gob.mx/areas-naturales/cienagas_manglares.php#:~:text=Posee%20selva%20baja%20caducifolia%2C%20selva,%C3%A1rea%20como%20un%20refugio%20importante
44. Gómez Romero Marcela Elisa. 2020. Determinación de cafeína y nutrientes como trazadores de aguas residuales antropogénicas en el mar costero del estado de Yucatán. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
45. Grant, W. 1994. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, v310, p.175-185.
46. Hernández, E. 2018. Plaguicidas organoclorados y nutrientes en pozos de Hunucmá, Yucatán, México. Tesis de maestría, Instituto Tecnológico de Tizimín.
47. IARC Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans, 2022, <https://monographs.iarc.who.int/>
48. Ibeh, O., Umeham, S. Genotoxicity assessment of three industrial effluents using the *Allium cepa* bioassay, *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* v. 12(3), pp.115-122.
49. Instituto Nacional de Ecología, 2004, El lindano en México, recuperado de http://www2.inecc.gob.mx/dgicur/sqre/descargas/el_lindano_en_mexico.pdf
50. JENCO, 2019, ORP's Role in water contamination. Recuperado de: <https://blog.jencoi.com/orps-role-in-water-contamination>

51. Khan, A., Umar, R., Hasan, H. 2014. Significance of silica in identifying the process affecting groundwater chemistry in parts of Kali watershed, Central Ganga Plain, India. *Applied Water Science*, v5, p. 65-72.
52. Kiel Martínez Ana Luisa. 2012. Productos farmacéuticos y de cuidado personal en el acuífero y la costa de la Península de Yucatán. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
53. Koroleff, F. Determinations of nutrients: Ammonia, in *Methods of Seawater Analysis*, ed. K. Grasshoff, Verlag Chemie, Alemania; 1976, p. 126–133.
54. Kumar, A., Singh, D. 2020. Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. *Scientific Reports*, v10, p.886.
55. Kurissery, S., Kanavillil, N., Verenitch, S., Mazumder, A. 2012. Caffeine as an anthropogenic marker of domestic waste: a study from Lake Simcoe watershed. *Ecological Indicators*, v23, p.501-508.
56. Leal-Bautista, R., Hernández-Zarate, G., Jaime, N., Cuevas, G., Velázquez, G. 2011. Pathogens and pharmaceuticals pollutants as indicators of contamination at the northeastern aquifer of Quintana Roo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v13, p.211-219.
57. Levan, A. 1938. The effect of colchicine on root mitoses. *Hereditas*, v24, 471-486.
58. Ma, T. 1999. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. *Mutation Research*, v426(2), p.103-106.
59. Maier, G., Nimmo-Smith, R., Glegg, G., Tappin, A., Worsfold, P. 2009. Estuarine eutrophication in the UK: current incidence and future trends. *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, v19, p.43-56.
60. Maldonado, C., Bayona, J. 2002. Organochlorine compounds in the north-western Black Sea water: distribution and water column process. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v54, p.527-540.
61. Manahan, S. *Environmental Chemistry*. 9a ed. EUA: CRC Press; 2010. p175, 178.

62. Mojiri, A., Zhoum J., Ohashi, A., Ozaki, N., Kindaichi, T. 2019. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of the Total Environment*. v696, p. 133971.
63. Morais, D. 2009. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation research*, v682, p.71-81.
64. Muñoz, C., Vermeiren, P. 2018. Profiles of environmental contaminants in hawksbill turtle egg yolks reflect local to distant pollution sources among nesting beaches in the Yucatan, Peninsula, Mexico. *Marine Environmental Research*, v135, 43-54.
65. Murphy, J., Riley, J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. v27, p.31-36.
66. Mustafa, A., 2010, Endocrine Disruption Chemicals (Edcs): Its Impact on Health, *Health Environ. J.*, 1(1).
67. NMX-AA-029-SCFI-2001. Análisis de aguas, determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, método de prueba (Cancela a la NMX-AA-029-1981).
68. NOM-001-SAMARNAT-2021. Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.
69. OCS, 2021, Observatorio Costero del Sureste. Recuperado de: <http://ocse.mx/>
70. OECD, 2016, Overview of the set of OECD Genetic Toxicology Test Guidelines and updates performed in 2014-2015. No. 238 2a ed. Recuperado de: [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV-JM-MONO\(2016\)33/rev1&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV-JM-MONO(2016)33/rev1&doclanguage=en)
71. Organización Mundial de la Salud, Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. 2017. p. 310, 313, 339, 398.
72. Pereira, L., Machado, D., de Almeida, W., Magalhaes, C., Sampaio, A., Dahmer, N., Vera, I. 2020. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effect of Allium cepa L. (Amaryllidaceae) root cells after exposure in water samples of five lakes of Alta Floresta, State of Mato Grosso. *Revista Ambiente & Água*, v15(1).

73. Polanco, A., Navarro, A., Solorio, J., Mena, G., Marrufo, J., Del Valls, T. 2015. Contamination by organochlorine pesticides in the aquifer of the Ring of Cenotes in Yucatán, México. *Water and Environmental Journal*. v29, p. 140-150.
74. Polanco, A., Riba, M., Del Valls, A., Quattrocchi, P., Álvarez, F., Solorio, F., Navarro, J. 2015a, Risk perception and chronic exposure to organochlorine pesticides in maya communities of Mexico, *Human and Ecological Risk Assessment: An international Journal*, v21(7), p.1960-1979.
75. Polanco, A., Riba, M., Del Valls, T., Araujo, J., Mahjoub, O., Kumar, A. 2017, Monitoring of organochlorine pesticides in blood of women with uterine cervix cancer, *Environmental Pollution*. v220, p. 853-862.
76. Polanco, A. et. al., 2022, Organochlorine pesticides in the drinking water of Merida and its metropolitan zone, a karst region. *Urban Water Journal*, v19(1), p. 50-50.
77. Polanco, A., Magaña, T., Cetz, J., Quintal, R. 2019. Uso de agroquímicos cancerígenos en la región agrícola de Yucatán, México. *Centro Agrícola*, v.46(2), 72-83.
78. Prakasa, E., Puttana, K. 2006. Strategies for combating nitrate pollution, *Current Science*, v.91(10), p. 1335-1339.
79. PubChem, 2022, Lindane. Recuperado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/727>
80. Radic, S., Stipanicev, D., Vujcic, V., Marijanovic, M., Sirac, S., Pevalek-Kozlina, B. 2010, The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. *Science of the total environmental*, v408, p1228-1233.
81. Ramsar, 2022, Recuperado de: <https://www.ramsar.org/es>
82. Reizer, E., Viskolcz, B., Fiser, B. 2022. Formation and growth mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: A mini-review, *Chemosphere*, v291, p. 123793
83. RENAMECA, 2022, Red Nacional de Medición de la Calidad del Agua (RENAMECA): Indicadores de la calidad del agua superficial y subterránea. Recuperado de: <http://sina.conagua.gob.mx/sina/mapas/Calidaddelagua.pdf>
84. Ringuet, S., Sassano, L., Johnson, Z. 2011. A suite of microplate reader-based colorimetric methods to quantify ammonium, nitrate, orthophosphate and silicate

- concentrations for aquatic nutrient monitoring. *Journal of Environmental Monitoring*, v13, p.370-376.
85. Rodas-Ortíz, J., Ceja-Moreno, V., González-Navarrete, R., Alvarado-Mejía, J., Rodríguez-Hernández, M., Gold-Bouchot, G. 2008, Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls levels in human milk from Chelem, Yucatán, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v80, p255-259.
86. Rojas, A., Pacheco, J., Esteller, M., Cabrera, S., Camargo-Valero, M. 2015. Spatial distribution of nitrate health risk associated with groundwater use as drinking water in Merida, Mexico. *Applied Geography*, v65, p. 49-57.
87. Rose, S., Long, A. 1988, Monitoring dissolved oxygen in ground water: some basic considerations, *Groundwater monitoring & remediation*, v8(1), p. 93-97.
88. Rusydi, A. 2018. Correlation between conductivity and total dissolved solid in various type of water: a review. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, v118, 012019.
89. Salazar, S., Maldonado, H. 2019. Evaluation of cytotoxic potential of chlorpyrifos using *Lens culinaris* Med as efficient bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v183, 109528
90. Salazar, S., Quintero, J. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator, *Sci. Total Environ.* v.700, 134452.
91. Salik, M. *Aquifers: matrix and fluids*. IntechOpen; 2018. p. 11-14.
92. SEMARNAT, 2015, Convenio de Estocolmo: Contaminantes Orgánicos Persistentes. Recuperado de: <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/convenio-de-estocolmo>
93. Sik, L., Acar, O., Aki, C. 2009. Genotoxic effects of industrial wastewater on *Allium cepa* L. *African Journal of Biotechnology*, v8(9), p.1919-1923.
94. Smith, D., Ortega-Camacho, D., Acosta-González, G., Leal-Bautista, R., Foxx III, W., Cejudo, E. 2020. A multi-approach assessment of land use effects on groundwater quality in a karst aquifer. *Heliyon*, v. 6, e03970.

95. Strickland, J., Parsons, T. A Practical Handbook of Seawater Analysis: Fisheries Research Board of Canada. 2a ed. Canadá; 1972.
96. Tobiszewski, M., Namiesnik, J. 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*, v162, p.110-119.
97. USEPA, 2021, Risk assessment for carcinogenic effects, <https://www.epa.gov/fera/risk-assessment-carcinogenic-effects>
98. Van Maele-Fabry, G., Libotte, V., Willems, J., Lison, D. 2006, Review and Meta-Analysis of Risk Estimates for Prostate Cancer in Pesticide Manufacturing Workers, *Cancer Causes Control*, v17(4), p. 353-373.
99. Wang, C., Jiao, X., Liu, G. 2019, A toxic effect at molecular level can be expressed at community level: A case study on toxic hierarchy. *Science of the Total Environment*. v693, p. 133573.
100. Wexler, P. *Encyclopedia of Toxicology*, 3a ed. Academic Press: 2014, p. 715-725.
101. WHO/IARC, IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures vol. 92, France, 2005. pp. 35
102. Zhang, W., Zhang, S., Wan, C., Yue, D., Ye, Y., Wang, X. 2008, Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban road runoff, dust, rain and canopy throughfall, *Environmental Pollution*, v153, p.594-601.
103. Zhang, Z., Hong, H., Zhou, J., Huang, J., Yu, G. 2003. Fate and assessment of persistent organic pollutants in water and sediment from Minjiang River Estuary, Southeast China. *Chemosphere*, v53, p.1423-1430.

14 ANEXOS

14.1 Anexo 1. Parámetros fisicoquímicos medidos *in situ* en septiembre y octubre de 2021.

Parámetro	Temperatura (°C)		pH		Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$		TDS mg/L		DO mg/L		ORP mV	
	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.
Tetiz	27.91	27.93	6.72	6.54	1628.9	1786.6	1003	1100	1.02	1.35	33.85	133.3
Sierra Papacal	27.28	27.70	6.73	6.71	1942.25	2154.3	1199	1332	0.95	0.92	188.15	192.3
Hunucmá	28.48	28.20	6.78	6.56	2047.45	2464.1	1248	1509	0.67	0.52	-8.9	20.6
Sisal	27.60	27.41	6.8	6.6	1585.8	1822.9	982	1133	0.66	0.3	16.6	69.1
SP-Chuburná	28.21	28.4	7.47	7.51	277.7	4.9	170	3	7.8	7.66	87.6	131.2
Chuburná	29.19	29.24	6.61	6.5	5658.9	6051.95	3406	3639	0.68	0.54	33.1	27.35

14.2 Anexo 2. Cuantificación de nutrientes en septiembre y octubre de 2021

Nutriente	Fosfatos (mg/L)		Silicatos (mg/L)		Amonio mg N-NH ₄ /L		Nitritos mg N-NO ₂ /L		Nitratos mg N-NO ₃ /L	
	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.	Sept.	Oct.
Tetiz	0	0	4.12	2.67	0.10	0.15	0	0	1.21	1.57
Sierra Papacal	0	0	5.21	3.01	0	0.13	0	0	1.21	1.64
Hunucmá	0	0	4.83	3.69	0.06	0.26	0	0	1.24	1.56
Sisal	0	0	3.34	3.64	0.01	0.12	0	0	1.22	1.60
SP-Chuburná	0	0	4.69	3.71	0.13	0.16	0.13	0.08	1.29	1.63
UNAM-Sisal	1.86	1.14	1.62	1.36	1.11	1.03	0	0	0.07	0.00
Chuburná	0.61	0.12	1.57	1.78	0	0.07	0.03	0	0.05	0.01

14.3 Anexo 3. Cuantificación y límites de detección de plaguicidas y cafeína en septiembre y octubre de 2021. Valores expresados en ng/L.

Pozo	Mes	a-HCH	b-HCH	g-HCH	d-HCH	Heptacloro	Aldrín	Clorpirifos	DDD	DDT	Cafeína	Plaguicidas totales
Tetiz	Sept.	ND	53.50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	59.54	10.21	113.04
	Oct.	27.7	ND	45.22	ND	17.03	ND	ND	ND	ND	ND	89.96
Sierra Papacal	Sept.	ND	60.30	30.05	ND	ND	15.34	ND	ND	65.12	6.16	170.82
	Oct.	43.77	ND	44.93	ND	ND	ND	ND	ND	57.20	8.38	145.91
Hunucmá	Sept.	38.78	ND	45.28	ND	ND	ND	ND	ND	56.95	10.10	141.00
	Oct.	25.57	ND	ND	33.81	ND	ND	90.83	ND	ND	ND	150.20
Sisal	Sept.	31.75	41.86	35.21	ND	ND	ND	<LD	ND	ND	5.41	108.82
	Oct.	38.19	37.01	ND	ND	ND	ND	129.80	ND	ND	ND	205.00
SP-Chuburná	Sept.	13.07	54.14	30.82	141.44	ND	ND	ND	ND	52.21	5.92	291.68
	Oct.	48.03	ND	45.23	ND	ND	ND	ND	ND	57.80	9.13	151.07
UNAM Sisal	Sept.	85.71	ND	66.37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	152.08
	Oct.	64.23	ND	ND	54.69	ND	ND	98.26	41.75	ND	ND	258.93
Chuburná	Sept.	81.61	64.61	ND	80.70	ND	ND	175.92	ND	65.06	8.12	467.90
	Oct.	79.26	ND	70.08	ND	ND	ND	ND	ND	86.57	ND	235.90
Límite de detección		5.02	3.19	3.19	10.43	7.5	6.79	8.23	14.51	10.68	4.41	-

ND: no detectado; LD: límite de detección

14.4 **Anexo 4.** Cuantificación y límites de detección de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) en septiembre y octubre de 2021. Valores expresados en ng/L.

Muestra	Mes	NpH	Acy	Acn	Flu	Phe	Ant	Flt	Pyr	BaA	Chr	BbF + BkF	BaP	PAHs tot
Tetiz	Sept	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	0.00							
	Oct	<LD	2.28	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	ND	9.60	<LD	11.88
Sierra Papacal	Sept	<LD	ND	ND	10.93	<LD	10.93							
	Oct	<LD	ND	<LD	14.26	<LD	14.26							
Hunucmá	Sept	2.63	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	10.48	<LD	13.12
	Oct	ND	3.51	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	ND	9.60	<LD	13.10
Sisal	Sept	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	9.40	<LD	9.40
	Oct	ND	2.86	<LD	7.63	<LD	10.50							
SP-Chuburná-	Sept	<LD	ND	<LD	10.63	2.88	13.51							
	Oct	<LD	9.08	<LD	9.08									
UNAM-Sisal	Sept	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	11.56	<LD	11.56
	Oct	1.59	7.46	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	8.39	<LD	17.44
Chuburná	Sept	<LD	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	<LD	<LD	ND	<LD	12.07	ND	12.07
	Oct	<LD	ND	ND	12.51	<LD	12.51							
Límite de detección		1.39	1.86	1.32	1.28	0.93	2.15	1.89	2.12	1.26	1.34	1.56	1.52	-

Abreviaturas: <LD: por debajo del límite de detección; ND: no detectado; Nph: Naftaleno; Acy: acenaftileno; Acn: Acenafteno; Flu: Fluoreno; Phe: Fenantreno; Ant: Antraceno; Flt: Fluoranteno; Pyr: Pireno; BaA: Benzo(a)antraceno; Chr: Criseno; BbF: Benzo(b)fluoranteno; BkF: Benzo(k)fluoranteno; BaP: Benzo(a)pireno;