



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Bioensayo con *Allium cepa* para la evaluación de la toxicidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos y plaguicidas organoclorados en ambientes acuáticos costeros de Sisal, Yucatán.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA  
TIERRA**

**P R E S E N T A:**

**JONATHAN ALDAIR URIBE LÓPEZ**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. GABRIELA RODRÍGUEZ FUENTES**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, 2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



## **AGRADECIMIENTOS**

### **Institucionales**

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Unidad de Química en Sisal, Yucatán por adoptarme por más de medio año en sus instalaciones para realizar mi investigación y a la Facultad de Ciencias por ser mi hogar durante la licenciatura y brindarme el conocimiento, las habilidades y los valores humanos y sociales necesarios para la realización de la presente tesis.

Agradezco a la Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes por abrirme las puertas de su laboratorio y asesorarme de la mejor manera posible durante todo el proceso de realización de este trabajo, por su tiempo, sus atenciones, su disposición absoluta a resolver cualquier cuestión que pudiese presentarse y por brindarme todas las facilidades durante mi estancia en la unidad de Química en Sisal.

Agradezco al proyecto DGPA-PAPIIT con clave IN203321 “C-BOYA: Ciencia Ciudadana utilizando el Bioensayo con *Allium cepa* en Yucatán para la evaluación de la genotoxicidad del Agua subterránea” por la beca proporcionada, la cual fue de gran ayuda durante mi estancia en el estado de Yucatán.

Agradezco a la Dra. Elsa Noreña Barroso por la asesoría y enseñanzas brindadas para el análisis de muestras con el uso de cromatografía de gases, a su proyecto CONACYT 315908: “Sobre la resiliencia en socioecosistemas costeros de México: evaluación transdisciplinaria y trayectorias sobre salud ambiental, contaminación y toxicología en

los siete observatorios costeros del Laboratorio Nacional de Resiliencia Costera” por la financiación del muestreo y del análisis de las muestras.

Agradezco al M. en C Ismael Ocegüera Vargas por dirigir el muestreo en el cual se obtuvieron las muestras para el presente trabajo, por el conocimiento brindado en el trabajo de campo y su profesionalismo para el mismo.

Agradezco a los miembros de mi comité: Dr. Omar Arellano, Dra. Guadalupe Ponce, Dra. Rocío López y Dra. Karen Suárez, por ser parte de mi formación académica, por sus conocimientos, por su tiempo para la revisión de este trabajo y por los comentarios realizados al mismo.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **Personales**

Agradezco a mis padres, por darme la oportunidad de cumplir este sueño a base de su esfuerzo, por estar al pendiente de mis necesidades y por apoyarme en todo el camino recorrido, por su incansable compromiso con mi educación y desarrollo. Esto es gracias a ustedes.

Agradezco a Alondra Ramírez, por todos los momentos, todas las risas, todo el cariño, el apoyo y motivación que me brindaste a lo largo de licenciatura, fuiste una parte muy importante para la realización de todo esto. Tienes toda mi admiración y cariño.

A mis mejores amigos, Carmen, Carlo, Sebastián, y Paolo; quienes representaron momentos muy importantes en todos los días de clases, prácticas de campo y convivencia fuera de las aulas, el tiempo que pasamos juntos, en mayor o menor medida, hizo de la universidad la mejor etapa de mi vida. Los admiro a cada uno de ustedes.

A todos los amigos que conocí en Sisal, por hacer de mi estancia en Yucatán una experiencia inolvidable.

A Botas, por ser mi compañía durante muchas noches, por hacer mis días más felices, por todo su cariño incondicional y por ser la mejor mascota que alguien pudiera tener.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
MARCO TEÓRICO.....	4
Contaminación hídrica en Yucatán .....	8
Plaguicidas organoclorados.....	10
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.....	12
Generalidades del uso del bioensayo con <i>Allium cepa</i> .....	14
Genotoxicidad y citotoxicidad.....	16
JUSTIFICACIÓN .....	19
OBJETIVOS .....	21
Objetivo General.....	21
Objetivos Particulares .....	21
HIPÓTESIS .....	22
METODOLOGÍA .....	23
Zona de estudio .....	23
Determinación de contaminantes en el agua.....	25
Preparación de los extractos de agua .....	25
Análisis de contaminantes con métodos <i>in silico</i> .....	30
Reconstitución de las muestras .....	30
Bioensayo .....	31
Tinción y preparación de frotis .....	34
Conteo celular y de anormalidades en el núcleo .....	35
Análisis estadístico de los datos .....	38
Prueba de Kruskal Wallis.....	38
Regresión lineal múltiple.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	39
Cuantificación de contaminantes en el agua.....	39
Bioensayo .....	58
Crecimiento radicular de <i>Allium cepa</i> .....	58

Índices mitóticos (IM).....	65
Genotoxicidad.....	73
Índices de anormalidades (IA).....	73
CONCLUSIONES.....	86
REFERENCIAS.....	88

## Índice de Figuras

Figura 1. Mapa de climas presentes en el estado de Yucatán.....	5
Figura 2. Mapa de precipitaciones medias anuales en el estado de Yucatán.....	6
Figura 3. Zonas de recarga, tránsito y descarga del acuífero yucateco dentro del anillo de cenotes de la Península de Yucatán. ....	8
Figura 4. Micronúcleo formado en célula de <i>Allium cepa</i> .....	18
Figura 5. Localización dentro del estado de Yucatán de la zona de estudio.....	23
Figura 6. Localización de las estaciones de muestreo.....	24
<i>Figura 7. Sistema de extracción de los contaminantes orgánicos de las muestras. ....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 8. Cromatógrafo de gases 7890B con detector selectivo de masas 5977 de la marca Agilent Technologies empleado en la determinación de los contaminantes de las muestras .....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 9. Montaje de los extractos en el cromatógrafo de gases.....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 10. Preparación de las cebollas removiendo las primeras capas y dejando al descubierto el primordio radicular. ....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 11. Exposición de los organismos a las muestras reconstituídas y a las muestras control. ....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 12. Medición de las raíces de una de las cebollas tras 24 horas de exposición a muestras de agua destilada. ....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 13. Frotis con células de raíz de <i>Allium cepa</i>.....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 14. Fases de la mitosis celular observadas en los conteos. ....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 15. Aberraciones nucleares observadas durante los conteos.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 16. Zona de obtención de la muestra SIS05 ubicada en el Puerto de Abrigo... </i>	<i>40</i>
<i>Figura 17. Concentración de los HAP totales en los diferentes puntos de muestreo... </i>	<i>45</i>
<i>Figura 18. Grafica del contenido de HAP de alto y bajo peso molecular en las diferentes muestras obtenidas.....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 19. Contenido de HAP totales (HAP de bajo y alto peso molecular).....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 20. Zona de obtención de la muestra SIS09, ubicada en la zona de ciénega frente al pueblo de Sisal.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 21. Zona de obtención de la muestra SIS11, ubicada en la zona de ciénega frente a la estación de gasolina del pueblo de Sisal. ....</i>	<i>49</i>

Figura 22 Concentración de los Plaguicidas Organoclorados Totales en los diferentes puntos de muestreo.....	50
Figura 23. Grafica del contenido de Plaguicidas Organoclorados Totales por cada uno de los ambientes acuáticos muestreados .....	55
Figura 24. Concentración de Cafeína en los diferentes puntos de muestreo.....	57
Figura 25. Grafica del contenido de Cafeína por cada uno de los ambientes acuáticos muestreados. ....	58
Figura 26. Medianas de crecimiento radicular de las cebollas por muestra. ....	61
Figura 27. Mediana del crecimiento radicular promedio presentado en los bulbos de las cebollas por origen de la muestra respecto al pueblo de Sisal. ....	62
Figura 28. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal del crecimiento radicular .....	64
<i>Figura 29. Fases de la mitosis celular observadas en los conteos. ....</i>	<i>65</i>
Figura 30. Medianas de índice mitótico obtenido para cada una de las muestras.. ....	67
Figura 31. Medianas de los índices mitóticos (IM) agrupados por el origen de las muestras respecto al pueblo de Sisal.....	70
<i>Figura 32. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal de IM. ....</i>	<i>73</i>
<i>Figura 33. Aberraciones nucleares observadas durante los conteos.....</i>	<i>74</i>
Figura 34. Medianas de los índices de anormalidades obtenidos para cada una de las muestras. ....	75
Figura 35. Imagen aérea con la localización de las muestras obtenidas de la ciénega frente a Sisal. ....	78
Figura 36 Medianas de los índices de anormalidades (IA) agrupados por el origen de las muestras respecto al pueblo de Sisal.....	79
<i>Figura 37. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal de IA.....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 38 Pantalla del software ToxRead mostrando la mutagenicidad del fenantreno .....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 39. Pantalla del software ToxRead mostrando la mutagenicidad del heptacloro. ....</i>	<i>85</i>

## Índice de Tablas

Tabla 1. Características y Clasificación de los Plaguicidas Organoclorados Evaluados. .....	11
Tabla 2. Características y clasificación de los HAP evaluados en este trabajo.....	14
Tabla 3-A. Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases (Naftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno).....	41
Tabla 3-B. CConcentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (Fluoranteno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[b+k] fluoranteno, Benzo[a]pireno) .....	42
Tabla 3-C. Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. Indeno[1,2,3,-cd]pireno, Dibenzo[a,h]perileno, Benzo[g,h,i] p erileno, HAP Totales, HAP b.p.m., HAP a.p.m.) .....	43
Tabla 4-A Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. ( $\alpha$ -HCH, $\beta$ -HCH + $\gamma$ -HCH, $\delta$ -HCH, Heptacloro, Aldrín, Clorpirifos y Heptacloro epóxido) .....	51
Tabla 4-B. Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (trans-Clordano. Endosulfán I, cis-Clordano, Dieldrín, DDE, Endrín, Endosulfán II) .....	52
Tabla 4-C. Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (DDD, Endrín aldehído, Endosulfán sulfato, DDT, Endrín cetona, Metoxicloro y el valor de Plaguicidas totales) .....	53
Tabla 5 Resultados de la prueba de Kruskal Wallis del crecimiento radicular, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas. ....	59
Tabla 6. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de los diferentes contaminantes con el crecimiento de las raíces de <i>Allium cepa</i> .....	64

Tabla 7. Resultados de la prueba de Kruskal Wallis de los índices mitóticos, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas. ....	68
Tabla 8. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de los diferentes contaminantes con la tasa mitótica de las células de las raíces de Allium cepa. ....	72
Tabla 9. Resultados de la prueba de Kruskal Wallis índices de anormalidades, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas. ....	76
Tabla 10. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de contaminantes con los índices de anormalidades contabilizadas en las células de las raíces de Allium cepa. ....	80

## RESUMEN

La contaminación de los ambientes costeros de la península de Yucatán es un problema emergente debido a las tendencias de desarrollo económico y las características hidrológicas en dicha región. Dentro de los contaminantes detectados en la franja costera del estado de Yucatán se encuentran los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) y los Plaguicidas Organoclorados, compuestos químicos de gran interés a nivel mundial por sus características toxicológicas.

El objetivo de la presente investigación es analizar los efectos citotóxicos (crecimiento de raíces e índices mitóticos de las células de ellas) y genotóxicos (anormalidades en los núcleos celulares) en la especie *Allium cepa*, producto de la exposición a muestras obtenidas en ambientes acuáticos costeros de Sisal, Yucatán, por la presencia de los ya mencionados tipos de contaminantes, determinando, además, las concentraciones de estos en las distintas muestras.

La determinación de los contaminantes se llevó a cabo con análisis de cromatografía de gases con detector selectivo de masas, mientras que la evaluación de los efectos toxicológicos se realizó con el uso de un bioensayo utilizando a la especie *Allium cepa* (cebolla) como sujeto de prueba de ensayo toxicológico, misma que fue seleccionada por su sensibilidad comprobada ante la presencia de contaminantes.

Los resultados de los efectos citotóxicos y las pruebas estadísticas de Kruskal Wallis y regresión lineal sugieren que, si bien existió una disminución de los valores de crecimiento y tasa mitótica en las células de las raíces de los organismos, sólo en una de las muestras se presentaron resultados estadísticamente significativos en

comparación con los controles negativos del bioensayo. Por otro lado, los resultados de genotoxicidad y las pruebas estadísticas demostraron que 7 de las 28 muestras ambientales produjeron diferencias estadísticamente significativas, mostrando una correlación positiva entre la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos de bajo peso molecular, Heptacloro, DDE y Metoxicloro y el número de anomalías contabilizadas en los núcleos celulares.

En conclusión, las concentraciones de algunos de los contaminantes analizados en el presente trabajo mostraron una relación positiva en la generación de efectos genotóxicos en las células de las raíces de *Allium cepa*, dichos contaminantes, presentándose en todos los ambientes acuáticos analizados en este trabajo, atribuyendo de tal manera, el papel del acuífero en el transporte de contaminantes desde el interior de la península. Esto último, reforzado con la detección de cafeína en todas las muestras analizadas, compuesto relacionado a la presencia de descargas de aguas residuales.

## INTRODUCCIÓN

La contaminación del acuífero de la península de Yucatán ha ido en aumento debido a la creciente demanda y presión por parte de los diferentes sectores de la sociedad ya que este es la única fuente del vital recurso, pero además es el principal receptor de las aguas residuales y de todos los lixiviados que llegan de la superficie. Lo anterior compromete el bienestar de los diversos sistemas acuáticos que dependen de él como aquellos ubicados en las regiones costeras, ya que estos ambientes dependen en gran medida de los flujos de agua subterránea desde el interior de la península que emanan a la superficie en las regiones costeras por las características hidrológicas dominantes en el karst de la península de Yucatán.

Diversos estudios han reportado la presencia de contaminantes orgánicos de origen alóctono en ambientes costeros debido a la presencia de estos en muestras de aguas subterráneas en regiones alejadas de actividades que involucren el uso y liberación de estos compuestos químicos. Dentro de estos contaminantes, los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los plaguicidas organoclorados han sido detectados en sedimento y agua de los ecosistemas costeros cobrando especial interés debido a su amplio reconocimiento por su potencial toxicológico tanto para la sociedad como para los ecosistemas. En el presente trabajo se analiza la citotoxicidad y genotoxicidad de extractos de agua de diferentes ambientes costeros en células de la raíz de cebolla (*Allium cepa*) y su correlación con 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos y 21 plaguicidas organoclorados.

## MARCO TEÓRICO

En la República Mexicana los ambientes kársticos, relieves dominados por roca caliza intemperizada químicamente por el agua que promueven el flujo subterráneo de esta mediante conductos, representan aproximadamente una superficie de 391 700 km<sup>2</sup>, de los cuales 35 000 km<sup>2</sup> se encuentran dentro de la península de Yucatán distribuidos entre los estados de Quintana Roo, Campeche y Yucatán, este último, con el 95% de su superficie con este tipo de ambiente (Estrada *et al.*, 2019; Long *et al.*, 2018).

Los estratos calcáreos de Yucatán surgieron a partir de sedimentos marinos y arrecifes coralinos, los cuales, con la emersión de la península de Yucatán se intemperizaron hasta formar el sedimento que daría origen a los diferentes estratos de roca caliza. Los eventos de emersión de la península tuvieron lugar, el primero de ellos, hace 5.3 Ma, el segundo de ellos 3.6 Ma y el último hace 18 mil años (Bautista *et al.*, 2011). El karst de la península de Yucatán es del tipo holokarst, pues todo el flujo de agua de las precipitaciones es drenado rápidamente al subsuelo a través de las fracturas y los poros generados a partir de la disolución de las rocas carbonatadas.

Poco más del 80% del estado de Yucatán presenta un clima de tipo cálido subhúmedo, el 20% restante tiene un clima árido y semiárido localizados en la franja costera al norte del estado. Por su parte, la temperatura media anual del estado es de aproximadamente 26 °C, teniendo variaciones mensuales que van desde los 16 °C en los meses más fríos, hasta los 36 °C en los meses más cálidos (Figura 1) (Lamas *et al.*, 2021).

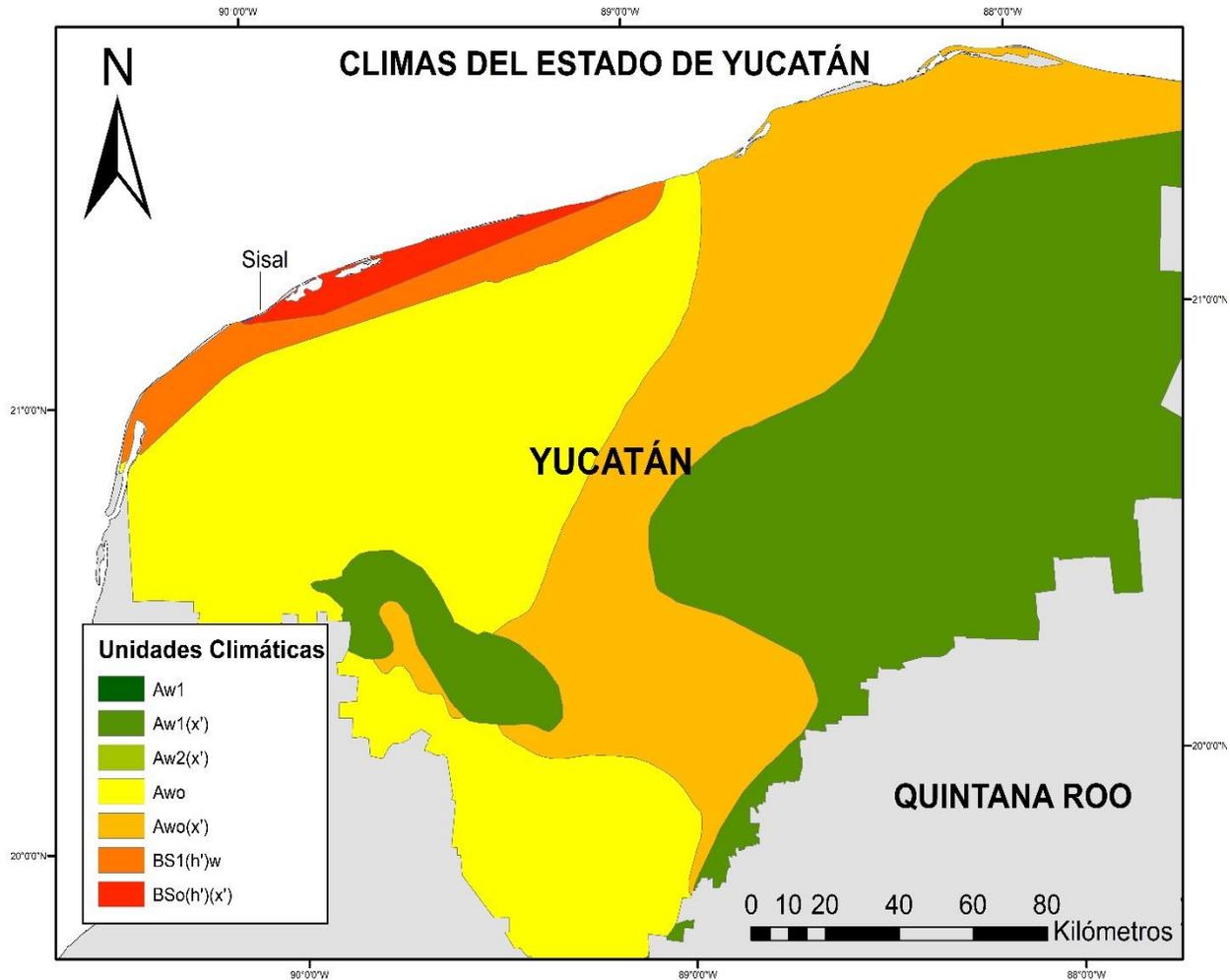


Figura 1. Mapa de climas presentes en el estado de Yucatán, elaboración propia con información de INEGI, (2008).

La precipitación media anual para el estado de Yucatán es de aproximadamente 1100 mm, la cual presenta un gradiente a la baja hacia el norte del estado debido a que los vientos durante la época de lluvias, la cual es en verano, concentran la mayoría de la precipitación al interior de península (Figura 2)(Lamas *et al.*, 2021).

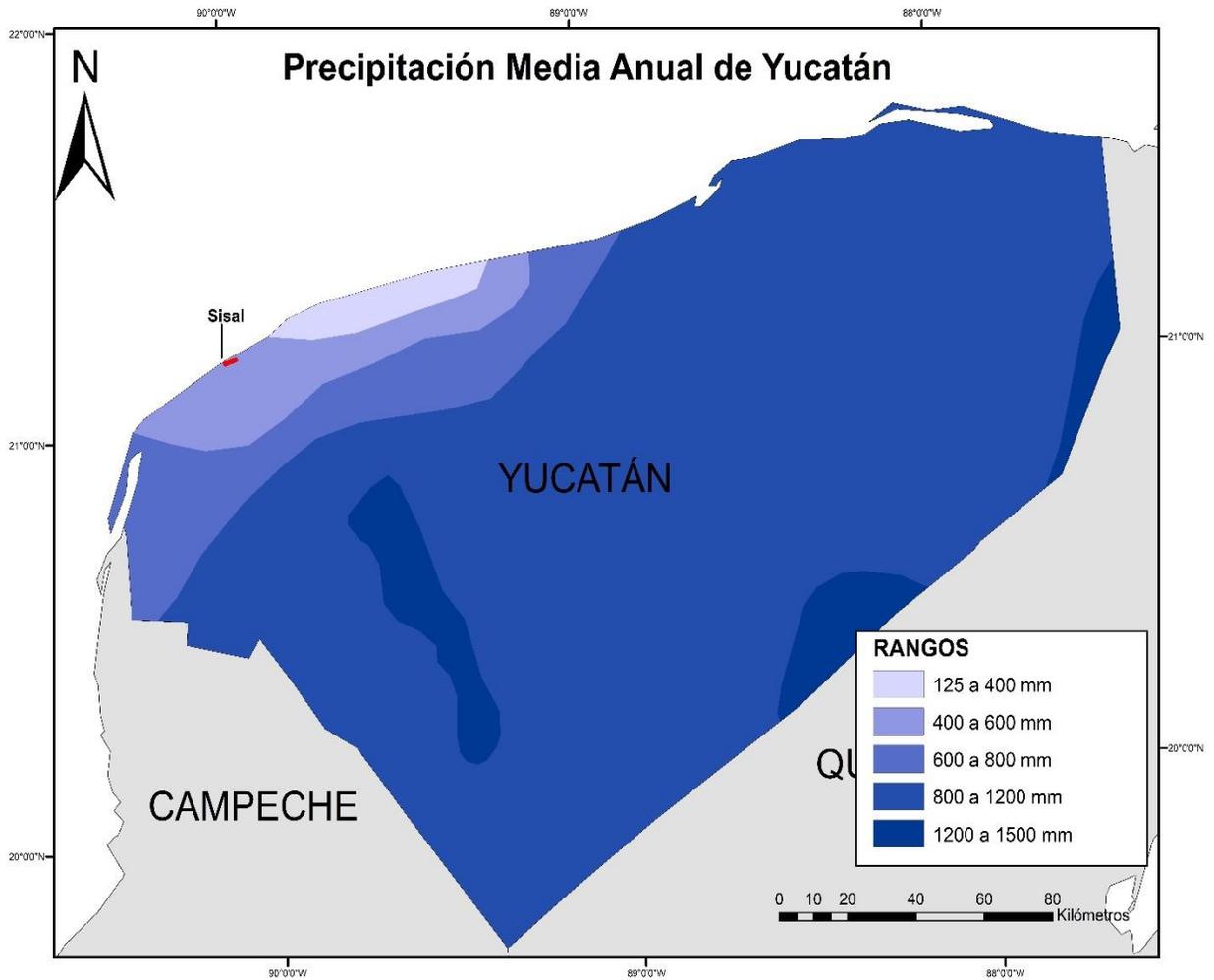


Figura 2. Mapa de precipitaciones medias anuales en el estado de Yucatán. Elaboración propia con información de INEGI, (2006).

La península de Yucatán se caracteriza por la ausencia de ríos y lagos, en cambio posee una compleja red de drenaje subterráneo a través de las grietas y fracturas de las rocas carbonatadas, las cuales se encargan de la recarga y movilización de las reservas de agua subterránea en la región (Coke, 2019). La ausencia de escorrentías superficiales en ambientes kársticos como el de la península de Yucatán se debe a las grandes tasas de disolución de las rocas y la gran

permeabilidad de las mismas, lo cual provoca que el agua de lluvia se infiltre a gran velocidad hacia el manto freático (Escolero *et al.*, 2000).

El acuífero Yucateco es la principal fuente de abastecimiento para las diferentes actividades de la población, tanto económicas como domésticas. Sin embargo, aunado a la falta de escorrentías superficiales, es el mismo acuífero el principal receptor de las aguas residuales generadas por dichas actividades (Sánchez y Pinto, 2021). El acuífero interior de la península consta de una capa de agua dulce de que puede alcanzar aproximadamente 45 m de espesor, dicha capa se encuentra sobre una capa de agua salada, la cual tiene su origen por la intrusión de las aguas oceánicas hacia el interior de la península o bien, por la disolución de las rocas ricas en sales, que ha tenido lugar a lo largo de la historia geológica de la región y las descargas de aguas residuales sin tratar al acuífero (Rocha *et al.*, 2015). A medida que el acuífero se acerca a la zona costera la capa de agua dulce se vuelve más estrecha y la influencia de las intrusiones de agua proveniente del océano es mayor provocando que el agua salada de encuentre a menor profundidad.

El flujo de las aguas subterráneas a nivel regional va de la parte sur de la península, territorio con una mayor precipitación anual, hacia la región costera del norte de Yucatán, en donde emerge a través de ojos de agua alimentando la gran variedad de ecosistemas acuáticos costeros propios de la región. El flujo y la descarga de agua se ven incrementados en aquellas regiones en donde el anillo de cenotes intercepta con la línea de costa (Figura 3) (Perry *et al.*, 1995). Los cenotes, formaciones propias de los sistemas kársticos, se tratan de cavernas inundadas formadas por la disolución de las rocas calcáreas por acción del agua cuyo techo se adelgaza hasta el punto de

dejar expuesto de manera total o parcial el interior de la formación (Suárez y Rivera, 1998).

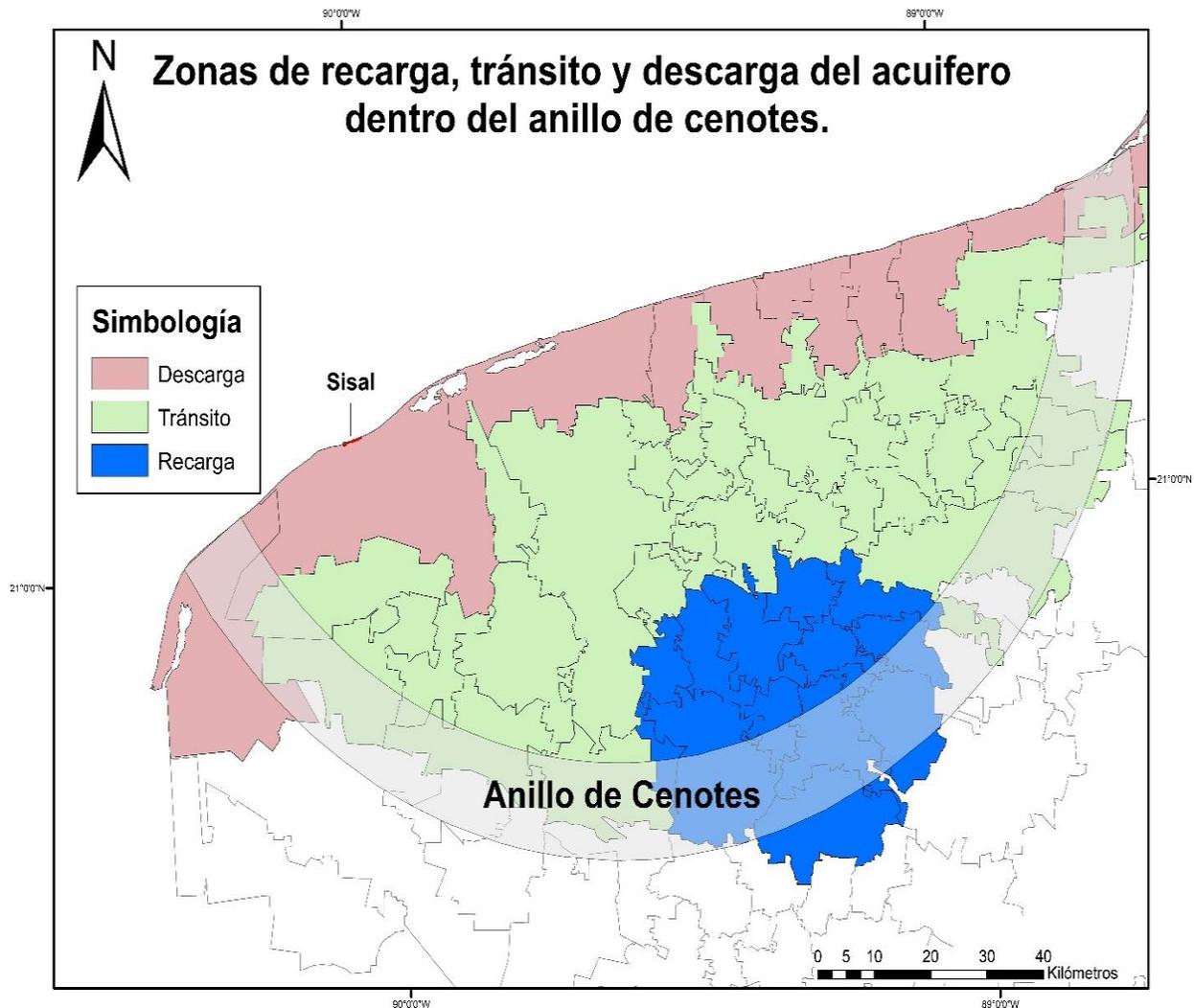


Figura 3. Zonas de recarga, tránsito y descarga del acuífero yucateco dentro del anillo de cenotes de la Península de Yucatán.

### Contaminación hídrica en Yucatán

Al ser un país en vías de desarrollo, México tiene como una de sus principales actividades económicas la agricultura, la ganadería, la pesca y la industria. Lo anterior da lugar a un uso y liberación de diferentes compuestos químicos contaminantes como los hidrocarburos y los plaguicidas organoclorados. Estudios realizados por Wong *et al.*

(2009, 2010) reportan la presencia de compuestos organoclorados en muestras de suelo a lo largo de todo el territorio del país. Para el caso en particular de la península de Yucatán, región del país donde se encuentra la zona del presente estudio, Polanco *et al.* (2015) reportaron concentraciones elevadas de plaguicidas organoclorados en muestras de agua de cenotes, así como en muestras de sangre de pobladores de diferentes comunidades rurales a lo largo del estado de Yucatán. Las principales actividades que involucran la liberación al ambiente de plaguicidas, tanto organoclorados como organofosforados, en el estado de Yucatán son la agricultura, la ganadería, el control de vectores de enfermedades y el uso doméstico (Rodríguez *et al.*, 2018).

Por su parte, la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos ha sido investigada en diferentes estudios dentro de la península de Yucatán. Valenzuela *et al.* (2005) en un muestreo de agua y sedimento de lagunas costeras durante las épocas de nortes, secas y lluvias en Chelem y Progreso detectaron contaminación por hidrocarburos totales en ambas matrices ambientales, la cual mostró una variación dependiendo de la época en la que se llevó a cabo la toma de las muestras. Para el caso de Chelem se reportaron concentraciones promedio de 35.34, 7.07 y 5.23  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para dichas etapas del año, mientras que, los análisis de agua proveniente de Progreso reportaron, en las mismas etapas, detectaron una media de 27.11, 7.13 y 2793.41  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectivamente, con lo cual, se deja en claro la presencia de HAP en la región costera del estado de Yucatán, en la cual se localiza la zona de estudio del presente trabajo.

## Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas son un grupo de compuestos químicos empleados para el control de poblaciones de insectos, plantas, hongos, incluso son utilizados para el control de vectores de enfermedades que afectan a la sociedad como la malaria y el dengue (Mehlhorn *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Gran cantidad de estudios y organizaciones gubernamentales a nivel mundial reconocen a los plaguicidas como compuestos peligrosos, además de ser un agente importante de contaminación de agua, suelo y aire. Lo anterior se debe a las características de un gran porcentaje de ellos una vez liberados en el ambiente (su toxicidad en organismos vivos, un largo tiempo de vida media, lipofilicidad, su gran capacidad para bioacumularse y/o su gran rango de transporte desde la fuente de liberación), como algunos de tipo organoclorado u organofosforado (Jayaraj *et al.*, 2016). Las principales fuentes de contaminación por plaguicidas son el sector agrícola-ganadero, el industrial y el control de vectores de enfermedades, donde la mayoría de las liberaciones de estos compuestos tiene lugar en países en vías de desarrollo (Atreya *et al.*, 2011).

Los plaguicidas organoclorados son un grupo específico de compuestos con iones de cloro en su estructura molecular. Jayaraj *et al.* (2016) reconoce la alta solubilidad en lípidos, la gran persistencia en el ambiente, la baja polaridad y solubilidad en agua como las características básicas de los plaguicidas organoclorados. Dichas características, han despertado un interés hacia este tipo de compuestos químicos por parte de diferentes organizaciones gubernamentales dando lugar a tratados y acuerdos internacionales como el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes firmado el 23 de mayo 2001 y entrando en vigor

el 17 de mayo de 2004, en el cual los países participantes se comprometen a eliminar o bien reducir el uso, importación, exportación y emisión al ambiente de estos contaminantes de la mayoría de este tipo de plaguicidas.

Los plaguicidas organoclorados son compuestos químicos altamente tóxicos para la salud de las personas. Dentro del amplio espectro de efectos adversos sobre los organismos vivos destacan aquellos sobre el sistema endocrino y nervioso resultado de una exposición crónica a este tipo de compuestos, algunos de las cuales se encuentran en el listado de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) sobre la identificación de sustancias carcinogénicas peligrosas para los humanos dentro del Grupo 2A (Probable carcinogénico para humanos) y Grupo 2B (Posible carcinogénico para humanos), por ejemplo, el DDT y sus compuestos hijos, el DDE y DDD, se encuentran en el grupo 2A dentro de dicha lista; por su parte, en el grupo 2B están listados plaguicidas como el Heptacloro y el ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )-Hexaclorociclohexano (Tabla 1) (Alavanja *et al.*, 2004; Teresa *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2022).

*Tabla 1. Características y Clasificación de los Plaguicidas Organoclorados Evaluados.<sup>1</sup>*

<u>Compuesto</u>	<u>Fórmula Química</u>	<u>Peso molecular</u> (g/mol)	<u>Número CAS</u>	<u>Ranking ATSDR</u>	<u>Clasificación IARC</u> (Grupo)
$\alpha$ -Hexaclorociclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.83	319-84-6	110	2B
$\beta$ -Hexaclorociclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.83	319-85-7	36	2B
$\gamma$ -Hexaclorociclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.83	58-89-9	34	2B
$\delta$ -Hexaclorociclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.83	319-86-8	41	2B
Heptacloro	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub>	373.32	76-44-8	28	2B

<sup>1</sup> Tabla 1 (Continúa en la página siguiente)

Aldrín	C12H8Cl6	364.92	309-00-2	25	2A
Clorpirifos	C9H11Cl3NO3PS	350.59	2921-88-2	64	N/D
Heptacloro Epóxido	C10H5Cl7O	389.32	1024-57-3	48	2B
Trans-clordano	C10H6Cl8	409.78	5103-74-2	62	2B*
Endosulfán I	C9H6Cl6O3S	406.92	959-98-8	47	3
Cis-clordano	C10H8Cl6	409.78	5103-71-9	49	2B*
Dieldrín	C12H8Cl6O	380.91	60-57-1	18	2A
DDE	C14H8Cl4	318.03	72-55-9	21	2A**
Endrín	C12H8Cl6O	380.91	72-20-8	42	3
Endosulfán II	C9H6Cl6O3S	406.92	33213-65-9	63	2B
DDD	C14H10Cl4	320.05	72-54-8	26	2A**
Endrín aldehído	C12H8Cl6O	380.91	7421-93-4	68	3*
Endosulfán sulfato	C9H8Cl6O4S	422.92	1031-07-8	55	2B
DDT	C14H9Cl5	354.49	50-29-3	13	2A
Endrín cetona	C12H8Cl6O	380.91	53494-70-5	58	3*
Metoxicloro	C10H10Cl2O	345.66	72-43-5	56	3

*Nota.* Se muestra la posición que ocupan los plaguicidas seleccionados para este trabajo con base en el ranking de las 275 sustancias prioritarias de la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección al Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) del año 2022 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2023). La clasificación de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) es con base en el listado de agentes clasificados por las monografías de dicha organización, Grupo 1 (Cancerígeno para los humanos), Grupo 2A (Probablemente cancerígeno para los humanos, Grupo 2B (Posiblemente cancerígeno para los humanos) y Grupo 3 (No clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para los seres humanos)(International Agency for Research on Cancer [IARC], 2023). El peso molecular se obtuvo consultando el software ECOSAR 2.2 (United States Environmental Protection Agency, 2022).

\*Estimación con base en la clasificación del su isómero principal.

\*\*Estimación con base en la clasificación del compuesto padre.

## **Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos**

Los HAP son compuestos químicos orgánicos en cuya estructura se pueden encontrar dos o más anillos aromáticos enlazados, principalmente con átomos de hidrógeno y oxígeno. Además, son altamente lipofílicos e hidrofóbicos. Los HAP son generados tanto de forma natural como de forma antropogénica durante la combustión o fuga de combustibles fósiles, como el gas y el petróleo, incendios forestales,

actividades volcánicas, por el flujo de aguas residuales e industriales, por mencionar algunos ejemplos de generación (Ghosh y Mukherji, 2021; Igwe *et al.*, 2022; Kuk *et al.*, 2012).

De igual manera, que los plaguicidas organoclorados, los hidrocarburos aromáticos policíclicos son considerados como contaminantes orgánicos persistentes ya que se caracterizan por una alta capacidad de bioacumulación, por su lenta degradación, por su baja tasa de biodegradación y por una movilidad muy alta (principalmente en la atmósfera), lo cual combinado con su toxicidad son capaces de generar afectaciones a los organismos vivos y a los ecosistemas tanto en la fuente de emisión como lejos de ella, teniéndose evidencia de efectos inmunotóxicos, genotóxicos, carcinogénicos y hepatotóxicos, su bioacumulabilidad dentro de las cadenas tróficas, así como de alteraciones en la biodiversidad y ciclo de nutrientes (Crayol *et al.*, 2023; Gad y Gad, 2023; Naccari *et al.*, 2011; Zamora *et al.*, 2012). López *et al.* (2019) mencionan que estos compuestos, toxicológicamente hablando, son los más peligrosos dentro del grupo de hidrocarburos ya que poseen propiedades carcinogénicas y mutagénicas. Se tiene el conocimiento de más de 100 tipos diferentes de HAP, sin embargo, 16 de estos compuestos, mismos que fueron evaluados en este trabajo y los cuales se mencionan en la Tabla 2, se encuentran en la lista de contaminantes prioritarios para la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América (USEPA), debido a diferentes factores como su toxicidad y su amplia presencia en sistemas ambientales, con lo cual cobran especial relevancia en temas de salud pública y ambiental (Ortiz *et al.*, 2012).

Tabla 2. Características y clasificación de los HAP evaluados en este trabajo.

<u>HAP</u>	<u>Fórmula química</u>	<u>Peso molecular (g/mol)</u>	<u>Número CAS</u>	<u>Ranking de la ATSDR</u>	<u>Clasificación de la IARC (Grupo)</u>
Naftaleno	C10H8	128.18	91-20-3	82	2B
Acenaftileno	C12H10	152.20	208-96-8	N/D	3
Acenafteno	C12H10	154.21	83-32-9	176	3
Fluoreno	C13H10	166.22	86-73-7	N/D	3
Fenantreno	C14H10	178.24	85-01-8	256	3
Antraceno	C14H10	178.24	120-12-7	N/D	2B
Fluoranteno	C16H10F	202.26	206-44-0	N/D	3
Pireno	C16H10	202.26	129-00-0	266	3
Benzo[a]antraceno	C18H12	228.29	56-55-3	38	2B
Criseno	C18H12	228.30	218-01-9	146	2B
Benzo[b]fluoranteno	C20H12	252.32	205-99-2	10	2B
Benzo[k]fluoranteno	C20H12	252.31	207-08-9	61	2B
Benzo[a]pireno	C20H12	252.32	50-32-8	8	1
Indeno[1,2,3-cd]pireno	C22H12	276.34	193-39-5	179	2B
Dibenzo[a,h]antraceno	C22H14	278.36	53-70-3	15	2A
Benzo[g,h,i]perileno	C22H12	276.34	191-24-2	N/D	3

Nota. Se muestra la posición que ocupan los plaguicidas seleccionados para este trabajo con base en el ranking de las 275 sustancias prioritarias de la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección al Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) del año 2022 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2023). La clasificación de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) es con base en el listado de agentes clasificados por las monografías de dicha organización, Grupo 1 (Cancerígeno para los humanos), Grupo 2A (Probablemente cancerígeno para los humanos, Grupo 2B (Posiblemente cancerígeno para los humanos) y Grupo 3 (No clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para los seres humanos) (International Agency for Research on Cancer [IARC], 2023). El peso molecular se obtuvo consultando el software ECOSAR 2.2 (United States Environmental Protection Agency, 2022).

### Generalidades del uso del bioensayo con *Allium cepa*

Los bioensayos de toxicidad son una herramienta muy utilizada para obtener una visión general completa de la peligrosidad de un compuesto liberado en los ecosistemas (Feretti *et al.*, 2008). Los bioensayos hacen uso de especies que denotan

alguna clase de efecto como resultado de una exposición a compuestos químicos o sustancias tóxicas ante presencia producto de la contaminación (Souza *et al.*, 2013).

Las evaluaciones de riesgos ecológicos por la presencia de contaminantes en los diferentes ambientes son un tema de interés a nivel global. Para conocer la peligrosidad de las concentraciones de las sustancias químicas se ha empleado a *Allium cepa* (cebolla blanca) como un sujeto de prueba de ensayo toxicológico debido a su sensibilidad ante la presencia de xenobióticos en el ambiente. La introducción de la especie dentro de un ensayo toxicológico se realizó en la década de los años treinta por parte de Levan (1938), la cual fue llevada a cabo con el fin de evaluar los efectos del medicamento Colchicina en la mitosis radicular de la cebolla (Hillesh *et al.*, 1938). Desde entonces el bioensayo ha sido mejorado, logrando, hoy en día, que *Allium cepa* sea empleada para evaluar la genotoxicidad de plaguicidas organoclorados y organofosforados, metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos e incluso diferentes tipos de fármacos (Jayawardena *et al.*, 2021; Laís *et al.*, 2022).

La popularidad de este bioensayo radica en los bajos costos de adquisición de los ejemplares, lo fácil de su mantenimiento y en las características del material genético, el cual se presenta en 8 pares de cromosomas, los cuales son de gran tamaño, facilitando la visualización del ciclo mitótico y los daños producidos en el material genético, sumado a la gran respuesta de los organismos de dicha especie para denotar cambios a nivel celular y molecular (Grant, 1982).

## **Genotoxicidad y citotoxicidad**

La genotoxicidad hace referencia a la capacidad que poseen los compuestos químicos de causar alguna afectación sobre la secuencia del material genético, tanto de ADN como de ARN, como por ejemplo, la formación de aductos, los cuales son estructuras químicas formadas tras la unión de un compuesto en sitios dentro de la secuencia; entrecruzamientos, roturas en la secuencia de ADN y/o mutaciones, así como alteraciones celulares resultantes, como la promoción o inhibición de la apoptosis celular, originadas por dichos efectos (Emam *et al.*, 2014; Soldi *et al.*, 2023).

Las células pueden presentar diferentes tipos de anormalidades en su estructura producto de las alteraciones genotóxicas, como los micronúcleos, los cuales, según Fenech (2006), son pequeñas estructuras citoplasmáticas que se forman durante la división celular y contienen cromosomas o fragmentos de estos que no lograron incorporarse de forma adecuada a los núcleos de las células hijas; células binucleadas; núcleos arriñonados, los cuales, como su nombre lo menciona, asemejan la forma de un riñón; núcleos condensados, en los cuales este organelo presenta la cromatina en mayor densidad, confiriéndole a este un aspecto más opaco y compacto en comparación con aquellos que no presentan esta condición; y núcleos con yemas, los cuales, según Ortiz *et al.*, (2023), son pequeñas protuberancias de forma irregular formadas a partir del núcleo y conectadas a este mediante material nucleoplásmico. Sin embargo, es el primero de estos uno de los principales marcadores empleados en los estudios de genotoxicidad por su alta incidencia y factibilidad de generación en las células de organismos que han sido expuestos a compuestos químicos genotóxicos (Figura 4). Los ensayos genotóxicos se utilizan para la evaluación de la toxicidad

potencial de muestras de agua o suelos contaminados como una primera aproximación para un posterior análisis químico a detalle de dichas muestras (Abdel *et al.*, 2007).

Por su parte, la citotoxicidad, también conocida como toxicidad celular, según Hernández *et al.* (2015) se puede definir como los efectos adversos que resultan de la interferencia con la estructura, procesos celulares, o ambos, que son fundamentales para un correcto funcionamiento, supervivencia y división celular. Esto último está determinado por la mitosis celular, pues algunos compuestos tóxicos tienen la capacidad de inhibir los procesos mitóticos en las células y por ende el crecimiento de tejido, efecto observado en las raíces de *Allium cepa* tras la exposición a sustancias tóxicas (Hidalgo *et al.*, 1989). Una evidencia de estos efectos puede ser observada a través de la medición de los índices mitóticos, los cuales hacen la relación entre el número total de células en división celular y el número total de células observadas (Maity *et al.*, 2020).



*Figura 4. Micronúcleo formado en célula de Allium cepa. Imagen propia obtenida durante las observaciones en el microscopio de las células de la muestra SIS05 evaluada en este trabajo.*

## JUSTIFICACIÓN

La presencia de contaminantes orgánicos en las costas de la península de Yucatán es un problema que ha sido documentado por diferentes autores a lo largo de los años, denotando una tendencia creciente a medida que se promueve el desarrollo económico y crecimiento poblacional en esta región del país. Esto último, aunado a las características hidrogeológicas del acuífero yucateco, despiertan el interés por conocer los efectos que puede ocasionar la contaminación hídrica esta región del país, ya que él acuífero en cuestión es la principal fuente de abastecimiento del vital líquido para la sociedad y los ecosistemas.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los plaguicidas organoclorados son contaminantes de gran interés por organizaciones, tanto gubernamentales, sociales y académicas a nivel nacional e internacional, ya que se busca la eliminación o bien, la reducción de las emisiones al ambiente debido a los efectos adversos que generan este tipo de compuestos orgánicos cuando son liberados al ambiente.

Una de las formas de la evaluación de la toxicidad de muestras ambientales se realiza mediante el uso de especies, sensibles a la presencia de contaminantes como la especie *Allium cepa* (cebolla blanca) cuyo tejido radicular puede denotar efectos citotóxicos y/o genotóxicos al ser expuesta a sustancias químicas con este tipo de propiedades.

La presente investigación surge como respuesta a las diferentes problemáticas sobre la gestión y contaminación de los recursos hídricos en la península de Yucatán. La información generada a partir de la interpretación de los resultados obtenidos en este trabajo podrá contribuir a establecer la línea base sobre el estado de

contaminación de los ecosistemas acuáticos costeros al momento de generar propuestas encaminadas hacia la reducción de la contaminación y una adecuada gestión de los recursos hídricos de dichos ambientes de la península de Yucatán, tema que cobra especial relevancia ya que las características hidrogeológicas propios del karst yucateco propician una interconexión y dependencia de este tipo de ambientes con el acuífero yucateco, el cual no sólo funge como la principal fuente de agua, sino que además, como el principal receptor de contaminantes, teniendo la capacidad de movilizarlos desde el interior de la península hasta las zonas costeras de la región.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Correlacionar los efectos genotóxicos y citotóxicos de extractos orgánicos, de muestras de agua superficiales obtenidas en ambientes acuáticos costeros (marinas, ciénegas y ojos de agua) en Sisal, en el estado de Yucatán con la presencia de plaguicidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos policíclicos.

### **Objetivos Particulares**

1. Evaluar los efectos genotóxicos y citotóxicos de extractos orgánicos de muestras de aguas superficiales obtenidas en ambientes acuáticos costeros en Sisal, Yucatán.
2. Determinar los niveles de contaminación de cuerpos de agua superficiales por plaguicidas organoclorados e hidrocarburos aromáticos policíclicos.
3. Determinar si existe una variación espacial de la toxicidad de los extractos orgánicos de agua proveniente de la zona marina, la ciénega y los ojos de agua de Sisal, Yucatán.
4. Evaluar si existe una correlación entre la presencia y concentraciones de los contaminantes con los efectos genotóxicos y citotóxicos en los organismos.

## HIPÓTESIS

Debido a la presencia de contaminantes orgánicos en los diferentes ambientes acuáticos costeros, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y los plaguicidas organoclorados, se espera que extractos obtenidos de muestras de agua provenientes de dichos ecosistemas generen la aparición de efectos citotóxicos y genotóxicos observables en las raíces de la especie *Allium cepa* (cebolla blanca).

De igual manera se espera que los efectos genotóxicos y citotóxicos provocados en la especie aumenten en función de la concentración de los contaminantes extraídos de las muestras ambientales.

Así mismo, se espera que las concentraciones se verán incrementadas en aquellas zonas con una mayor influencia de las diferentes practicas llevadas a cabo por los pobladores de Sisal.

## METODOLOGÍA

### Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en la franja costera del norte de Yucatán, obteniendo las muestras dentro y en la periferia de la comunidad de Sisal, ubicada en el municipio de Hunucmá en el estado de Yucatán, México (Figura 5).

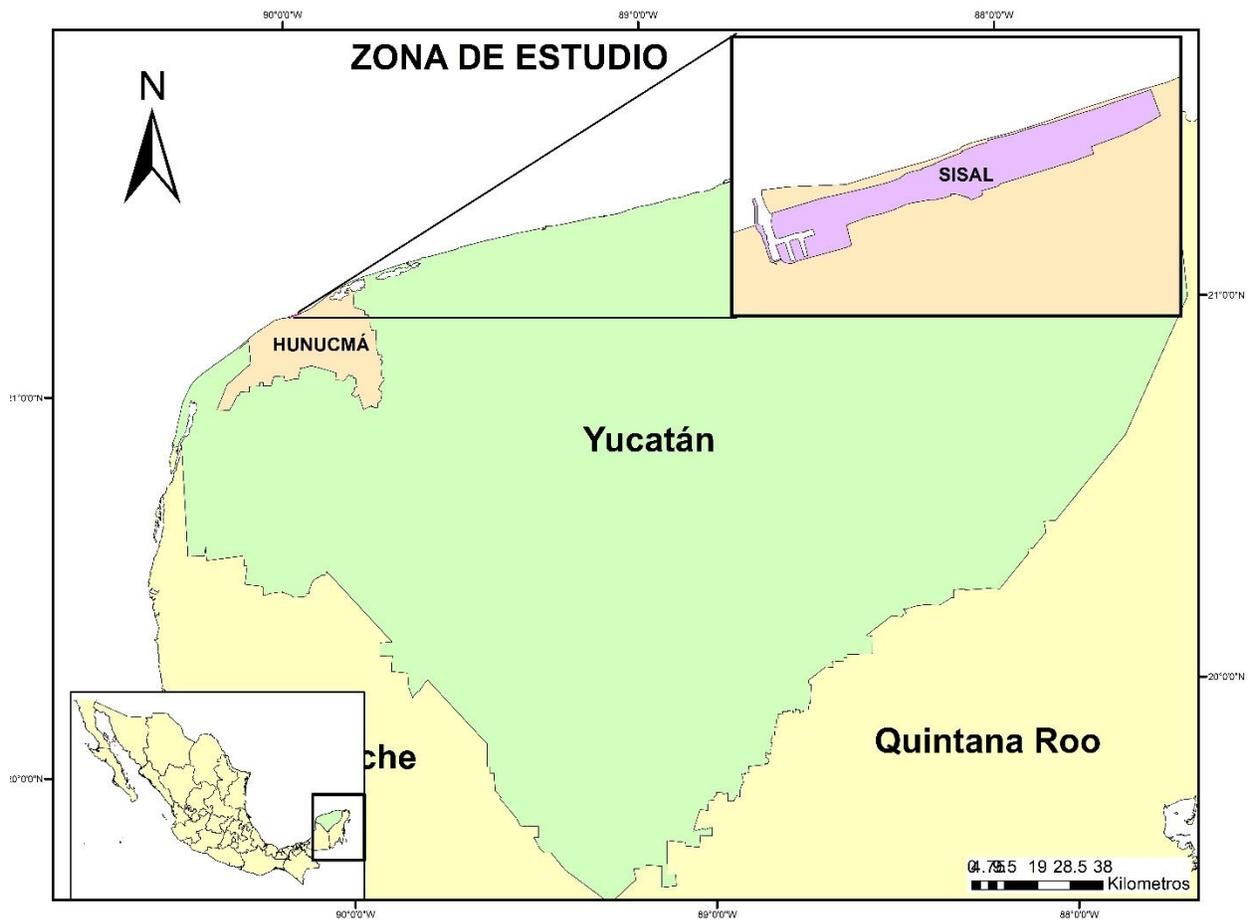


Figura 5. Localización dentro del estado de Yucatán de la zona de estudio, elaboración propia con información de INEGI (2022).

Se realizó una toma de muestras de agua en 28 puntos a lo largo de la costa, de las cuales 18 se localizaron en la zona marina, dos en el Puerto de Abrigo, principal puerto pesquero de la comunidad, cinco en ojos de agua y tres en zonas de ciénega

(Figura 6). En cada una de las estaciones de muestreo se colectó 1 litro de agua en una botella ámbar de vidrio a una profundidad de 10 centímetros desde la superficie. Las muestras fueron almacenadas en refrigeradores a una temperatura de 4° C hasta su

USO.

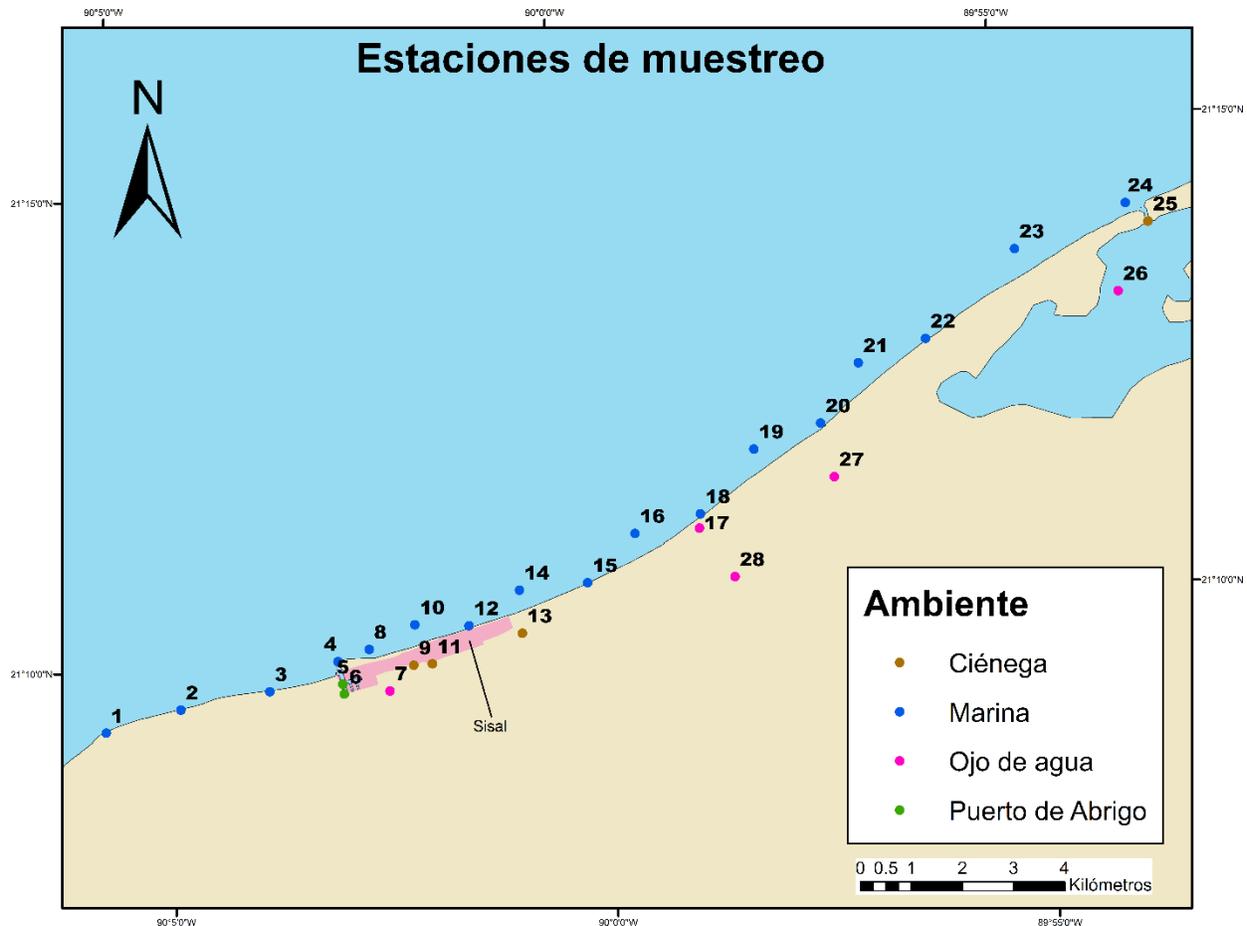


Figura 6. Localización de las estaciones de muestreo. Los diferentes ecosistemas acuáticos costeros se representan por cuatro diferentes colores, café para ciénegas; azul para marinas, rosa para ojos de agua y verde para las muestras obtenidas en el Puerto de Abrigo. Elaboración propia con información de (INEGI, 2022).

Las muestras fueron nombradas con la palabra “SIS” haciendo referencia a la obtención de estas en el poblado de Sisal, seguidas por el número del punto de muestreo de donde fueron obtenidas, el cual fue del 1 al 28 (Figura 6).

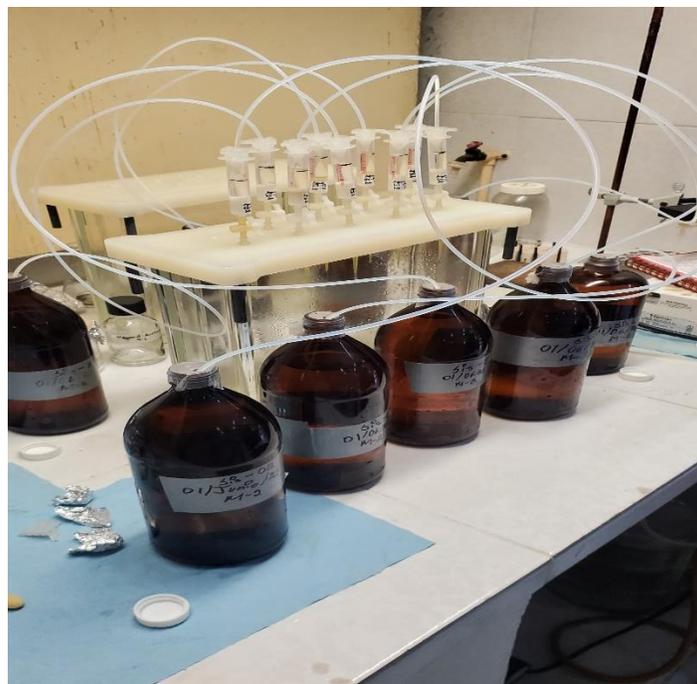
## **Determinación de contaminantes en el agua**

### **Preparación de los extractos de agua**

Se realizó una extracción en fase sólida de las muestras de agua con el fin de separar a los contaminantes de tipo orgánico de otras interferencias encontradas en el agua como iones mayores, menores y nutrientes. Se utilizaron cartuchos Strata-X de 500 mg/6 mL (Phenomenex, 8B-S100-HCH), un manifold y un sistema de vacío (Figura 7). Se comenzó con un acondicionamiento de los cartuchos, realizando una elución secuencial con disolventes de creciente polaridad (10 mL de acetato de etilo, 10 mL de metanol y 10 mL de agua Tipo I, la cual es la más apta para técnicas analíticas tan sensibles como la cromatografía, pues no posee ninguna clase de iones disueltos).

Una vez acondicionados los cartuchos, se pasó 1 L de muestra con un flujo de 10-15 mL/min, evitando en todo momento que los cartuchos se secaran. Al finalizar el filtrado de las muestras, los cartuchos se enjuagaron con 10 mL de agua Tipo I para eliminar sales y otras interferencias y posteriormente se secaron con ayuda de vacío durante aproximadamente 120 min. Los compuestos extraídos en cada cartucho fueron recuperados eluyendo con 15 mL de acetato de etilo.

Los extractos obtenidos se concentraron empleando una corriente suave de nitrógeno hasta concentrarlos en viales de 2 mL, donde las muestras fueron evaporadas a sequedad, para después ser reconstituídas con 100  $\mu$ L de etanol. A partir de estos extractos se prepararon las muestras de agua para el bioensayo.



*Figura 7. Sistema de extracción de los contaminantes orgánicos de las muestras.*

Se analizó la presencia y concentración de 20 plaguicidas organoclorados, 1 plaguicida organofosforado, 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos, enlistados en las Tablas 1 y 2, y, como marcador de descargas de aguas residuales en los diferentes ambientes costeros, la cafeína. La obtención de extractos y el análisis de contaminantes orgánicos se realizó en el Laboratorio de Ciencias Ambientales Costeras de la Unidad de Química en Sisal de la Facultad de Química de la UNAM. Los análisis de cafeína forman parte de los proyectos de investigación del Laboratorio Nacional de Resiliencia Costera, en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI) en Sisal, Yucatán, y fueron llevados a cabo por David Parra Valencia, estudiante del posgrado de Ciencias del Mar y Limnología de dicha sede de investigación.

Las muestras se reconstituyeron con 50  $\mu\text{L}$  de acetato de etilo y fueron colocadas en insertos cónicos de vidrio de 250  $\mu\text{L}$  para poder realizar el análisis cromatográfico de las mismas, empleando un automuestreador e inyectando 1  $\mu\text{L}$  de la muestra. La identificación y cuantificación de los compuestos individuales se realizó empleando un cromatógrafo de gases 7890B con detector selectivo de masas 5977 de la marca Agilent Technologies (Figuras 8 y 9) combinando lo eficaz que resulta la separación mediante la cromatografía con la sensibilidad de la detección de masas para generar un análisis más eficaz de las muestras de agua, equipado con una columna capilar J&W HP-5MS, de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de grosor de película. La detección de los analitos se realizó en modo de monitoreo selectivo de iones (modo SIM).

La identificación de los compuestos se llevó a cabo analizando las señales obtenidas en los cromatogramas, utilizándose el tiempo de retención y la presencia de un ion de cuantificación y un ion calificador para considerar como positiva la identificación de cada compuesto en las muestras.

Para el análisis cromatográfico, se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de muestra en modo split-less (0.5 min) con una temperatura del inyector de 280°C y empleando Helio Ultra Alta Pureza (UAP) como gas acarreador con un flujo de 0.8 mL/min. Para el análisis de plaguicidas, la temperatura inicial del horno fue de 50°C durante 0 min, con una primera rampa de temperatura de 10°C/min hasta 180°C durante 0 min, una segunda rampa de 1.5°C/min hasta 200°C durante 2 min y una última rampa de 6°C/min hasta 290°C durante 1 min, con un tiempo total de corrida de 45 min. Para el análisis de los HAP, la

temperatura inicial del horno fue de 60°C durante 0 min, con una rampa de temperatura de 6°C/min hasta 290°C durante 11.67 min, con un tiempo total de corrida de 50 min.

La concentración de los contaminantes fue determinada al sustituir el valor de las áreas bajo la curva de la señal en los cromatogramas para cada uno de los compuestos en la ecuación de la recta (Ecuación 1) obtenida de las curvas de calibración a concentraciones de 1 ng/L, 5 ng/L, 10 ng/L, 20 ng/L, 50 ng/L y 75 ng/L, debido al conocimiento de los factores y (área bajo la curva), a (pendiente de la recta) y b (ordenada al origen) de la ecuación, el factor x (la concentración) se obtuvo con la Ecuación 2. Lo anterior se realizó para cada uno de los contaminantes antes mencionados.

$$y = ax + b \quad (1)$$

$$x = \frac{y-b}{a} \quad (2)$$



*Figura 8. Cromatógrafo de gases 7890B con detector selectivo de masas 5977 de la marca Agilent Technologies empleado en la determinación de los contaminantes de las muestras*



*Figura 9. Montaje de los extractos en el cromatógrafo de gases.*

Además de calcular las concentraciones de los diferentes contaminantes orgánicos mediante curvas de calibración y realizar la identificación de los compuestos con base en estándares analíticos (Clorpirifos PESTANAL® 45395-100MG, Pesticide 8081 Std Mix Supelco CRM46845, QTM PAH Mix Supelco CRM47930), empleando el tiempo de retención y la presencia y proporción de iones calificadores; se utilizaron estándares internos (fenantreno-d10 para el análisis de PAHs y decaclorobifenilo para los organoclorados) y se corrieron blancos de reactivos para monitorear que no hubiera contaminación cruzada.

## **Análisis de contaminantes con métodos *in silico***

Se analizaron los diferentes contaminantes encontrados en las muestras de agua mediante el uso de modelos QSAR, en específico el software ToxRead de la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) por sus siglas en inglés, utilizando la clave CAS y la especificación de introducción linear molecular simplificada (SMILES) por sus siglas en inglés, de cada una de las sustancias químicas de interés. ToxRead es un método *in silico*, lo cual significa que este permite al usuario analizar las características químicas de diferentes compuestos y algunas interacciones con los organismos a partir de bases de datos que contienen información de dichas interacciones entre las sustancias químicas y su comportamiento en los sistemas orgánicos para la evaluación de la respuesta ante una hipotética exposición a las sustancias químicas (Gini *et al.*, 2014).

## **Reconstitución de las muestras**

Se reconstituyeron las muestras a partir de los extractos obtenidos para el análisis cromatográfico, eliminando el factor de la salinidad, debido a que esto impediría el desarrollo de nuevas raíces. Se llevaron a sequedad con corriente suave de nitrógeno cromatográfico, una vez realizado este proceso las muestras fueron reconstituídas añadiendo a cada una de ellas 100  $\mu$ L de etanol. Finalmente, para la preparación de las muestras para el bioensayo se tomaron 10  $\mu$ L de la mezcla obtenida y se mezclaron con 70 mL de agua destilada, lo anterior fue replicado un total de 3 veces para cada muestra ambiental, obteniendo al final 84 analitos.

Las muestras de control y control solvente, ambos tipos controles negativos, se prepararon de manera similar a las muestras ambientales, las primeras fueron

preparadas con 70 mL de agua destilada, mientras que las segundas fueron preparadas con 70 mL de agua destilada con 10  $\mu$ L de etanol, obteniendo seis muestras, tres para cada control.

### **Bioensayo**

Se prepararon un total de 90 organismos de la especie *Allium cepa*, 86 para la exposición a las muestras y 6 para los controles, teniendo de esta forma un total de 3 organismos por cada una de las muestras de agua (28 ambientales y 2 testigos). A los organismos se les retiró la parte inferior del bulbo para dejar expuesto el primordio de la raíz, de igual manera se retiraron las primeras 2 capas del cuerpo de la cebolla (Figura 10).

Se acondicionaron pequeños vasos de precipitados, forrándolos por su cara exterior con aluminio con el fin de tener condiciones de ausencia de luz dentro del vaso, con lo cual se previene la alteración de aquellos compuestos foto reactivos, además de proveer un medio de oscuridad para un óptimo desarrollo del material radicular de las cebollas.



*Figura 10. Preparación de las cebollas removiendo las primeras capas y dejando al descubierto el primordio radicular.*

Se sumergió la parte inferior del bulbo en agua destilada por 48 horas para que iniciase el crecimiento de las raíces. Una vez cumplido dicho lapso, los organismos fueron expuestos a las diferentes muestras de agua obtenidas por un total de 24 horas (Figura 11).



*Figura 11. Exposición de los organismos a las muestras reconstituídas y a las muestras control. Se presenta una fracción del total de organismos utilizados para el bioensayo.*

Las raíces de las cebollas se midieron una vez cumplidas las 48 horas de exposición de los organismos al agua destilada, midiendo 3 raíces por cada una de las cebollas registrando la longitud y el crecimiento promedio en cada una de las cebollas (Figura 12). Posteriormente pasadas las 24 horas de exposición a las muestras reconstituídas a partir de los extractos de las muestras recolectadas en el trabajo de campo se volvieron a medir aquellas raíces previamente medidas, obteniendo así el valor de la longitud final para calcular el valor promedio del crecimiento generado durante la exposición a las muestras. Por último, el valor del crecimiento se obtuvo con la diferencia entre las longitudes iniciales con las finales.

Después de la exposición se recolectaron las raicillas de los organismos para una posterior fijación en etanol al 70%, en este estado permanecieron a la sombra hasta el momento de su manipulación para la preparación de los frotis.



*Figura 12. Medición de las raíces de una de las cebollas tras 24 horas de exposición a muestras de agua destilada. Las raíces fueron medidas con un Vernier desde la base de la raíz hasta la punta, posteriormente, los organismos fueron devueltos a los vasos para continuar con el crecimiento de las raíces por 24 horas más.*

### **Tinción y preparación de frotis**

Se seleccionaron tres de las raíces al azar por cada uno de los bulbos expuestos, a las cuales se les extrajo la punta, pues era esta sección generada durante el periodo de la exposición a las muestras de agua.

Las raíces fueron cubiertas por ácido clorhídrico 1 N durante 20 minutos, pasado este tiempo, las raíces fueron cubiertas por aceto-carmín 1% con la finalidad de teñir el núcleo celular, dicha tinción tuvo una duración de 60 minutos.

Las raíces teñidas fueron montadas en un portaobjetos, añadiendo una gota de glicerina y aplastadas contra un cubreobjetos para distribuir el tejido a lo largo del portaobjetos y apreciar de mejor manera a las células (Figura 13). Al final de este

último proceso se logró la preparación de tres frotis por cada una de las cebollas, teniendo de esta forma, un total de 3 portaobjetos con 9 frotis por cada una de las muestras de agua.

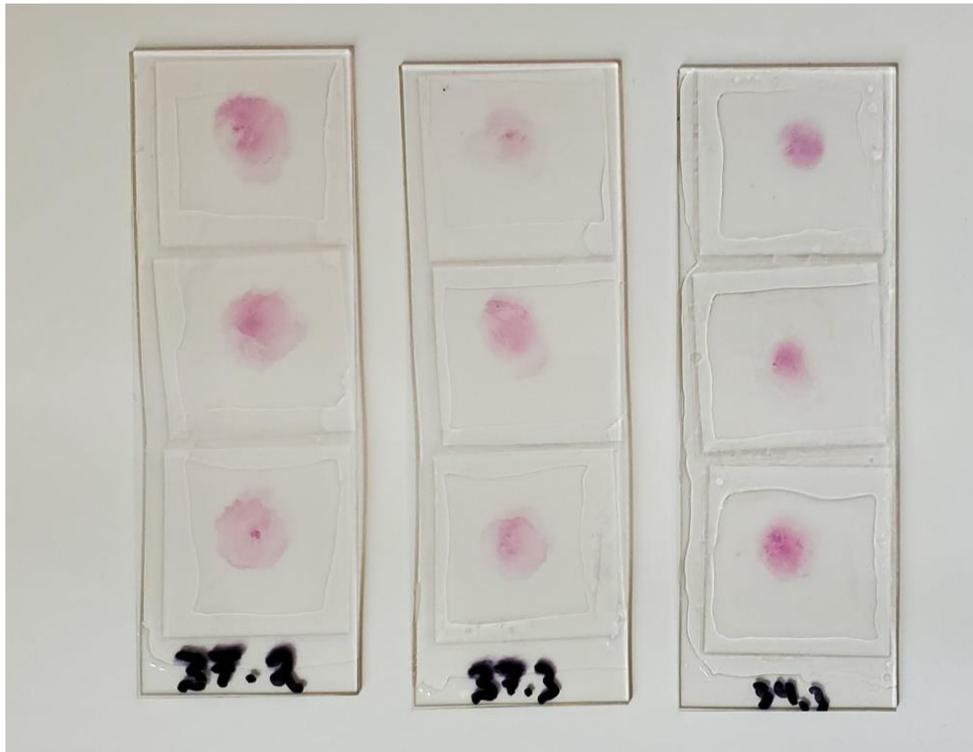
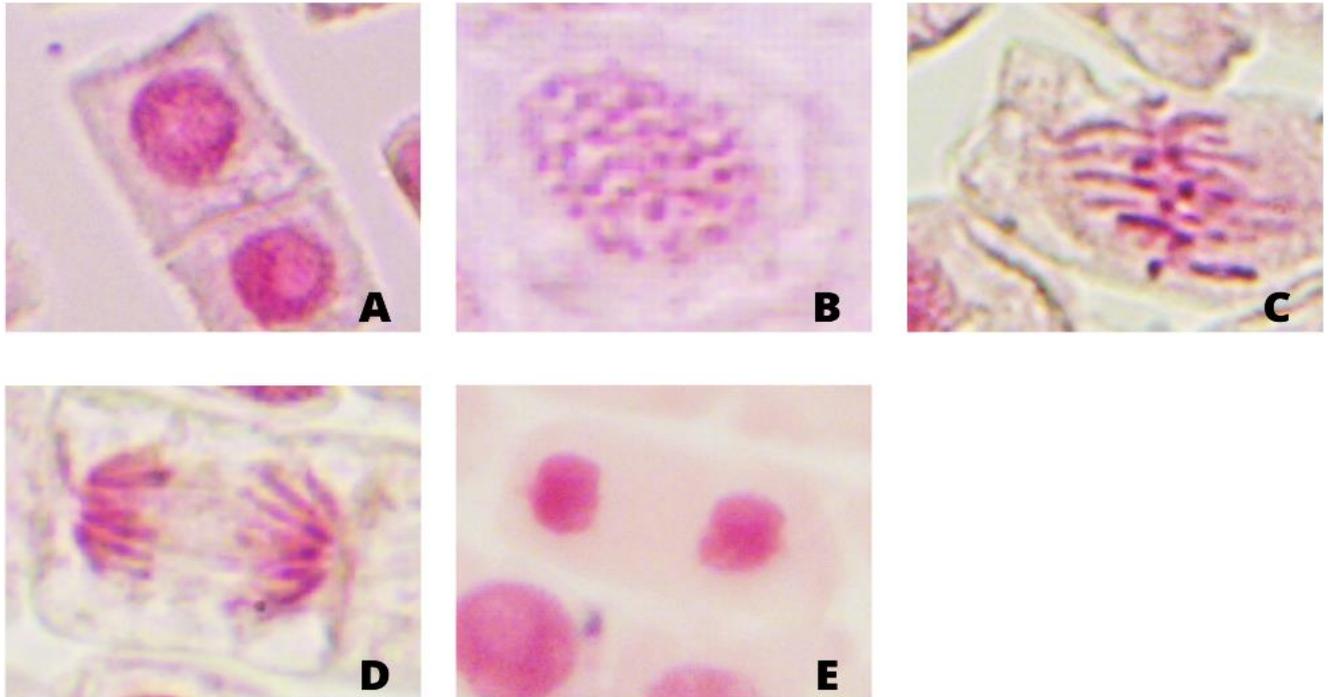


Figura 13. Frotis con células de raíz de *Allium cepa* para el análisis en el microscopio.

### Conteo celular y de anomalías en el núcleo

Se utilizó un microscopio óptico (VELAB, modelo VE-T1) empleando un objetivo 40x. Se contabilizaron alrededor de 1000 a 1150 células por cada una de las réplicas, sin embargo, en la muestra SIS22, en una de ellas sólo se contabilizaron 500 células por deficiencias en la preparación de los frotis. Dando como resultado el conteo de alrededor de 3000 para cada una de las estaciones de muestreo, de las cuales se registró de manera simultánea el número de células en alguna fase de la mitosis celular, profase, metafase, anafase o telofase (Figura 14) y ,de igual manera, las

células con alguna las siguientes anormalidades en los núcleos: micronúcleos, núcleos condensados, células binucleadas, núcleos arriñonados y núcleos con yema (Figura 15).



*Figura 14. Fases de la mitosis celular observadas en los conteos, en cada uno de los recuadros se muestra cada una de las fases mitóticas, siendo A- Interfase normal, B -Profase, C- Metafase, D-Anafase y E-Telofase.*

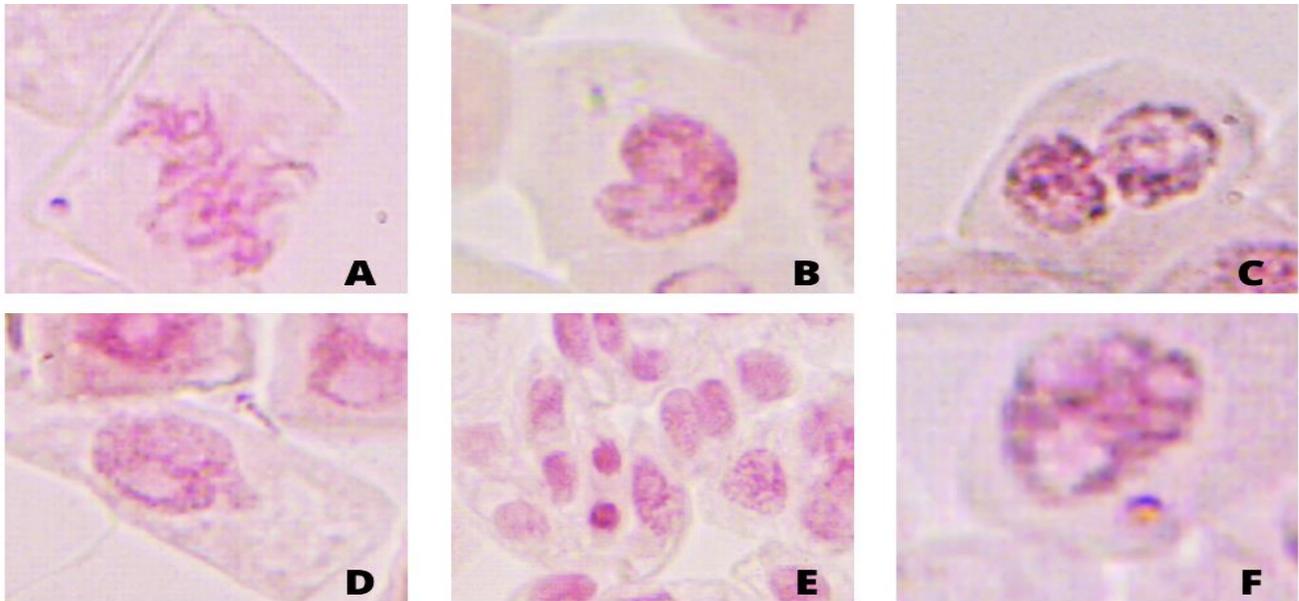


Figura 15. Aberraciones nucleares observadas durante los conteos, siendo el recuadro A- Metafase con la presencia de micronúcleo, B- Célula arriñonada, C- Célula binucleada, D- Célula con yema, E- Núcleos condensados y F- Célula en interfase con micronúcleo.

Una vez realizado el conteo de las células se obtuvo el índice mitótico (IM) y el índice de anomalías (IA) de cada una de las réplicas, obteniendo 3 IM y 3 IA en cada una de las muestras, el valor de la primer variable se obtuvo por la relación entre el número total de células en división celular y el número total de células observadas, de acuerdo con la Ecuación 3; el segundo se obtuvo por la relación entre el número de anomalías contabilizadas y el número total de células en interfase contabilizadas, de acuerdo con la Ecuación 4. Con lo cual se procedió a realizar pruebas estadísticas para conocer la correlación entre las concentraciones de los diferentes contaminantes o sustancias presentes en las muestras de agua con la actividad mitótica de las células y la incidencia de anomalías nucleares.

$$IM = \frac{\text{número total de células en mitosis}}{\text{número total de células observadas}} \times 100 \quad (3)$$

$$IA = \frac{\text{número de células con anormalidades}}{\text{número de células en interfase normales}} \times 100 \quad (4)$$

## **Análisis estadístico de los datos**

### **Prueba de Kruskal Wallis**

Los resultados obtenidos de las cebollas expuestas a las muestras ambientales mediante el bioensayo para cada una de las variables, tanto de crecimiento radicular, índice mitótico e índice de anormalidades fueron comparadas de manera individual con los resultados obtenidos de las muestras control con la finalidad de comprobar si existieron diferencias significativas entre las muestras. Los datos fueron analizados con un análisis de varianza unidireccional de Kruskal-Wallis para comprobar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de las variables observadas de las muestras ambientales con los resultados obtenidos en las muestras control entre las muestras.

### **Regresión lineal múltiple**

De igual manera, se analizó la relación de las variables de citotoxicidad y genotoxicidad con los valores registrados de los contaminantes presentes en los extractos de las muestras ambientales, mediante una regresión lineal múltiple, siendo las variables obtenidas a partir del bioensayo las variables dependientes y los valores de contaminantes las variables independientes dentro del modelo de regresión lineal. Cada una de las variables fue analizada con el grupo de contaminantes encontrados en las muestras de agua, de tal forma que para cada una de las variables medidas en las cebollas se obtuvo el nivel de significancia que tuvieron los contaminantes en los

valores de estas. Ambos análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software Rstudio.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

### **Cuantificación de contaminantes en el agua**

Se evaluó la presencia o ausencia de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos mencionados previamente, en cada una de las muestras recolectadas en las zonas de estudio. De los cuales, se registró la presencia del Naftaleno, Acenaftileno, Acenaftreno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[k]fluorantreno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Indeno[1, 2, 3-cd]pireno y Dibenzo[a, h]antraceno en al menos una de las muestras analizadas, mientras que para el caso del Benzo[g, h, i]perileno no se detectó su presencia en ninguno de los extractos analizados. El único compuesto que fue registrado en cada uno de los análisis cromatográficos de agua fue el Naftaleno.

Los análisis de SIS05 y SIS06 presentaron las mayores concentraciones de HAP totales en agua, siendo éstas de 14.06 y 13.86 ng/L, respectivamente. Cabe mencionar que los puntos de muestreo de donde fueron obtenidas estas muestras se localizaron en el principal puerto pesquero de la comunidad de Sisal, el Puerto de Abrigo, el cual presenta un tráfico constante de embarcaciones marítimas motorizadas (Figura 16). La muestra SIS11 mostró la tercera mayor concentración de HAP, dicho punto de muestreo se localiza cercano a una estación de recarga de combustible. Las tres estaciones antes mencionadas coinciden en la característica de que, en ellas, o cercanas a ellas, se llevan a cabo actividades relacionadas con el uso de hidrocarburos, solventes o procesos de combustión como el uso de vehículos con

motores de combustión para la generación de movimiento o el pintado de las embarcaciones (Tablas 3-A, 3-B, 3-C).



*Figura 16. Zona de obtención de la muestra SIS05 ubicada en el Puerto de Abrigo.*

Tabla 3-A. Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases (Naftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno)

	<u>Naftaleno</u>	<u>Acenaftileno</u>	<u>Acenafteno</u>	<u>Fluoreno</u>	<u>Fenantreno</u>	<u>Antraceno</u>
<i>Ion Cuantificado</i>	128	152	154	166	178	178
<i>Muestra</i>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
<i>SIS01</i>	0.03	3.50	ND	ND	2.05	0.89
<i>SIS02</i>	0.03	3.16	ND	ND	1.98	2.17
<i>SIS03</i>	0.03	0.82	ND	ND	1.77	0.32
<i>SIS04</i>	0.03	0.81	ND	ND	1.65	0.26
<i>SIS05</i>	0.05	3.54	0.91	0.25	2.14	2.93
<i>SIS06</i>	0.32	5.81	0.32	0.55	3.51	0.35
<i>SIS07</i>	0.04	ND	0.13	ND	0.15	0.04
<i>SIS08</i>	0.04	3.17	ND	ND	0.71	0.04
<i>SIS09</i>	0.23	4.44	ND	0.14	1.70	0.05
<i>SIS10</i>	0.04	0.68	ND	ND	1.82	0.41
<i>SIS11</i>	0.16	4.84	3.52	ND	2.85	0.36
<i>SIS12</i>	0.04	ND	ND	ND	ND	ND
<i>SIS13</i>	0.13	4.08	0.37	0.32	2.09	0.41
<i>SIS14</i>	0.05	0.83	ND	ND	0.24	0.04
<i>SIS15</i>	0.05	0.70	ND	0.07	1.61	0.22
<i>SIS16</i>	0.04	0.90	0.10	0.29	0.20	0.16
<i>SIS17</i>	0.04	ND	ND	ND	ND	ND
<i>SIS18</i>	0.07	ND	ND	ND	0.74	0.44
<i>SIS19</i>	0.05	0.35	ND	ND	ND	0.18
<i>SIS20</i>	0.07	0.78	ND	ND	1.52	1.35
<i>SIS21</i>	0.11	3.11	ND	ND	0.18	0.27
<i>SIS22</i>	0.15	0.22	ND	ND	0.37	0.38
<i>SIS23</i>	0.08	0.61	ND	ND	ND	0.87
<i>SIS24</i>	0.12	0.66	ND	ND	0.28	0.37
<i>SIS25</i>	0.15	0.27	ND	ND	0.41	0.14
<i>SIS26</i>	0.09	ND	ND	ND	ND	ND
<i>SIS27</i>	0.17	0.35	ND	ND	ND	0.09
<i>SIS28</i>	0.08	ND	ND	ND	ND	0.05

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de cada uno de los HAP evaluados en la presente investigación indicando el ion que fue evaluado para la detección a partir de las técnicas de cromatografía de gases. Se observa que, a excepción del Naftaleno, ningún contaminante se presentó en el cien por ciento de los extractos analizados.

ND: No Detectados

Tabla 3-B Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (Fluoranteno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[b+k]fluoranteno, Benzo[a]pireno)

	<u>Fluoranteno</u>	<u>Pireno</u>	<u>Benzo[a] antraceno</u>	<u>Criseno</u>	<u>Benzo[b+k] fluoranteno</u>	<u>Benzo[a] pireno</u>
<i>Ion Cuantificado</i>	202	202	228	228	252	252
<i>Muestra</i>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
SIS01	0.17	0.05	ND	0.08	0.09	0.16
SIS02	0.16	0.08	0.30	0.09	0.03	0.32
SIS03	0.20	0.17	0.14	ND	0.03	0.20
SIS04	0.18	0.16	0.16	ND	0.04	0.32
SIS05	0.39	0.43	0.50	0.13	0.07	2.32
SIS06	0.04	0.17	1.05	0.61	0.05	0.26
SIS07	0.23	0.10	ND	ND	0.02	0.63
SIS08	0.22	0.07	0.65	0.19	0.02	0.16
SIS09	0.35	0.05	0.30	0.31	0.11	2.28
SIS10	0.11	0.04	0.54	0.15	0.02	0.21
SIS11	0.14	0.23	0.71	0.33	ND	ND
SIS12	ND	ND	ND	ND	ND	2.30
SIS13	0.06	0.21	0.14	0.17	0.05	0.53
SIS14	0.07	ND	0.99	0.20	ND	ND
SIS15	0.10	0.07	0.47	0.12	ND	0.17
SIS16	0.07	0.10	0.60	0.20	0.03	0.29
SIS17	0.06	ND	ND	ND	ND	ND
SIS18	0.06	ND	ND	ND	ND	ND
SIS19	ND	ND	0.21	ND	0.02	ND
SIS20	0.16	0.06	0.28	0.20	ND	0.30
SIS21	0.05	0.19	0.78	0.16	ND	0.38
SIS22	0.17	0.10	0.15	0.08	ND	0.15
SIS23	0.16	0.08	0.55	0.13	ND	0.20
SIS24	0.15	0.09	0.35	0.10	ND	0.18
SIS25	0.08	0.09	ND	ND	0.21	0.87
SIS26	0.05	0.05	ND	ND	ND	0.56
SIS27	0.06	0.04	ND	ND	ND	0.30
SIS28	ND	ND	ND	ND	ND	0.23

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de cada uno de los HAP evaluados en la presente investigación indicando el ion que fue evaluado para la detección a partir de las técnicas de cromatografía de gases.

ND: No Detectados

Tabla 3-C Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. Indeno[1,2,3,-cd]pireno, Dibenzo[a,h]perileno, Benzo[g,h,i]perileno, HAP Totales, HAP b.p.m., HAP a.p.m.)

	<u>Indeno</u> <u>[1,2,3,-cd]</u> <u>pireno</u>	<u>Dibenzo[a,h]</u> <u>perileno</u>	<u>Benzo</u> <u>[g,h,i]</u> <u>perileno</u>	<u>HAP</u> <u>Totales</u>	<u>HAP</u> <u>b.p.m</u>	<u>HAP</u> <u>a.p.m</u>
<i>Ion Cuantificado</i>	276	278	276			
<i>Muestra</i>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
SIS01	ND	0.62	ND	7.63	6.46	1.17
SIS02	ND	0.75	ND	9.07	7.34	1.73
SIS03	ND	0.48	ND	4.16	2.95	1.21
SIS04	ND	0.47	ND	4.08	2.74	1.34
SIS05	0.40	ND	ND	14.06	9.82	4.25
SIS06	0.32	0.47	ND	13.82	10.86	2.96
SIS07	ND	ND	ND	1.33	0.35	0.98
SIS08	ND	0.33	ND	5.58	3.95	1.63
SIS09	ND	ND	ND	9.97	6.57	3.41
SIS10	ND	ND	ND	4.03	2.95	1.08
SIS11	ND	0.34	ND	13.47	11.72	1.75
SIS12	0.07	ND	ND	2.42	0.04	2.37
SIS13	ND	ND	ND	8.57	7.41	1.16
SIS14	ND	0.34	ND	2.75	1.15	1.60
SIS15	ND	ND	ND	3.56	2.65	0.91
SIS16	ND	ND	ND	2.99	1.69	1.30
SIS17	ND	ND	ND	0.10	0.04	0.06
SIS18	ND	ND	ND	1.31	1.25	0.06
SIS19	ND	ND	ND	0.81	0.58	0.23
SIS20	3.38	ND	ND	8.10	3.72	4.37
SIS21	ND	ND	ND	5.22	3.66	1.55
SIS22	ND	ND	ND	1.78	1.12	0.65
SIS23	ND	ND	ND	2.67	1.56	1.11
SIS24	ND	ND	ND	2.29	1.43	0.86
SIS25	ND	ND	ND	2.21	0.97	1.24
SIS26	ND	ND	ND	0.76	0.09	0.67
SIS27	ND	ND	ND	1.01	0.61	0.40
SIS28	ND	ND	ND	0.35	0.12	0.23

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de cada uno de los HAP evaluados en la presente investigación indicando el ion que fue evaluado para la detección a partir de las técnicas de cromatografía de gases. Se puede apreciar que el Benzo[g,h,i]perileno es el único contaminante que no fue detectado en ninguno de los extractos analizados.

ND: No Detectados

a.p.m.: alto peso molecular

b.p.m: bajo peso molecular

Por su parte, las muestras obtenidas en ojos de agua, en general, registraron los valores más bajos de HAP (concentraciones que iban de 0.09 a 1.33 ng/L) en comparación con aquellas obtenidas del resto de los ambientes, esto puede explicarse por el constante flujo de agua proveniente del acuífero por lo que el agua está en constante recambio, además de estar ubicadas en zonas alejadas de actividades humanas que relacionadas con el uso o manejo de este tipo de sustancias. Lo anterior denota que a pesar de que las concentraciones de este tipo de contaminantes son las más bajas en comparación con el resto de las muestras, existe la presencia de estos contaminantes en las aguas subterráneas de la península, migrando desde el interior de la península hacia la franja costera (Valenzuela *et al.*, 2005). Las concentraciones de HAP totales en el resto de las muestras presentaron una gran heterogeneidad como se muestra en la figura 17.

La suma de las concentraciones de HAP de bajo peso molecular, aquellos con un peso molecular  $< 200$  g/mol, (Naftaleno, Acenaftileno, Acenaftreno, Fluoreno, Fenantreno y Antraceno) fue mayor en comparación con la de los HAP de alto peso molecular, aquellos con masa molecular  $> 200$  g/mol, (Fluorantreno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Indeno[1, 2, 3-cd]pireno, Dibenzo[a, h]antraceno y Benzo[g, h, i]perileno) en la mayoría de las muestras, de las cuales, la SIS11, SIS06 y SIS05 fueron aquellas con una mayor concentración de este tipo de hidrocarburos, mismas que, como se mencionó anteriormente, fueron obtenidas en zonas con actividades humanas que involucran la liberación de este tipo de compuestos (Figura 18).

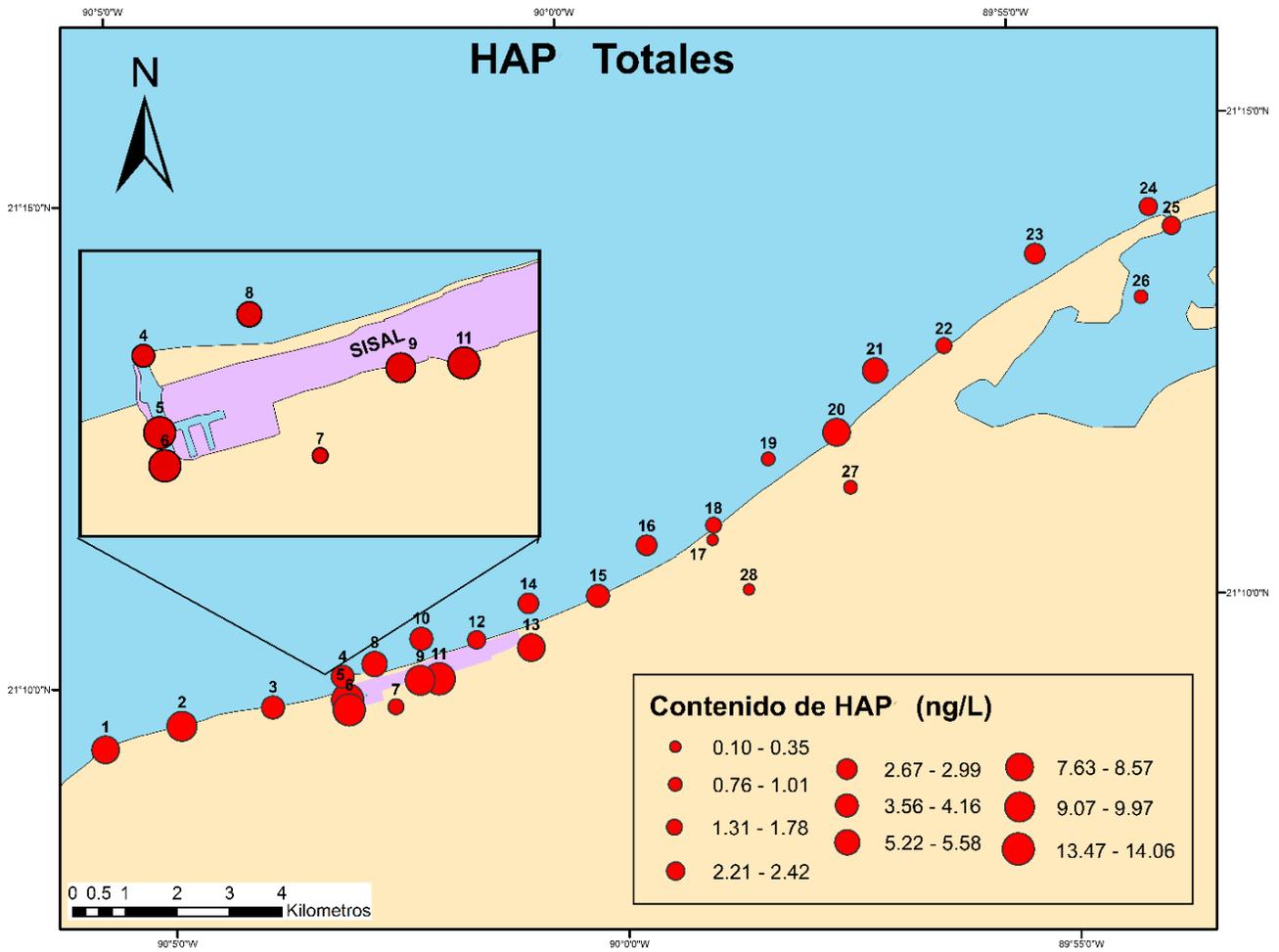


Figura 17. Concentración de los HAP totales en los diferentes puntos de muestreo. El tamaño de los círculos es proporcional al contenido de estos contaminantes agrupados con el método de clasificación Jenks en 10 clases.

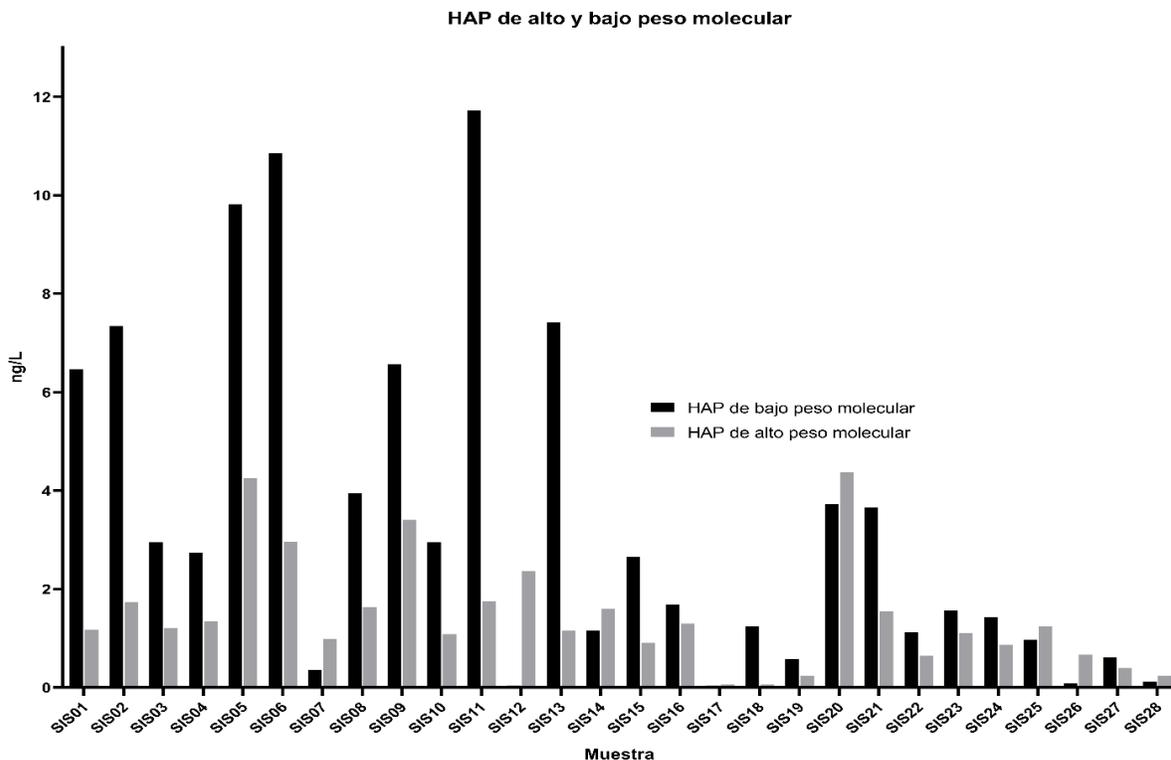


Figura 18. Grafica del contenido de HAP de alto y bajo peso molecular en las diferentes muestras obtenidas. Las barras negras expresan la concentración en ng/L de los HAP de alto peso molecular, mientras que las barras grises expresan la concentración en ng/L de los HAP de bajo peso molecular en las muestras analizadas.

Al clasificar las estaciones por tipo y ubicación respecto al pueblo de Sisal (Figura 19) se tiene que las muestras marinas provenientes del Puerto de Abrigo en promedio, comparándolas con el resto de ellas, registraron una mayor concentración de HAP, seguidas por las que fueron obtenidas de ciénegas dentro del poblado de Sisal y aquellas de origen marino al oeste del pueblo, teniendo de esta forma, las mayores concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras obtenidas dentro del perímetro del pueblo o cercano a este, reflejando la influencia de la sociedad en el nivel de HAP registrados. Por su parte, las medias más bajas de concentración fueron registradas en los ojos de agua, tanto aquellos ubicados al este como en el pueblo de Sisal.

Si bien, los HAP tienen como una de sus principales características el hecho de ser altamente hidrofóbicos y poco solubles en agua, poseen una alta afinidad de adsorción a partículas orgánicas e inorgánicas suspendidas en el agua, como lo es la materia orgánica y minerales, por lo que a pesar de que gran parte de los hidrocarburos se volatilizan desde el agua, muchos de ellos consiguen recorrer grandes distancias desde la fuente adheridas al material particulado presente en el agua (Villar, 2005). Debido a que su principal medio de adherencia en ambientes acuáticos es el sedimento acuático, es de esperarse que la concentración sea mayor a la concentración de HAP en el agua.

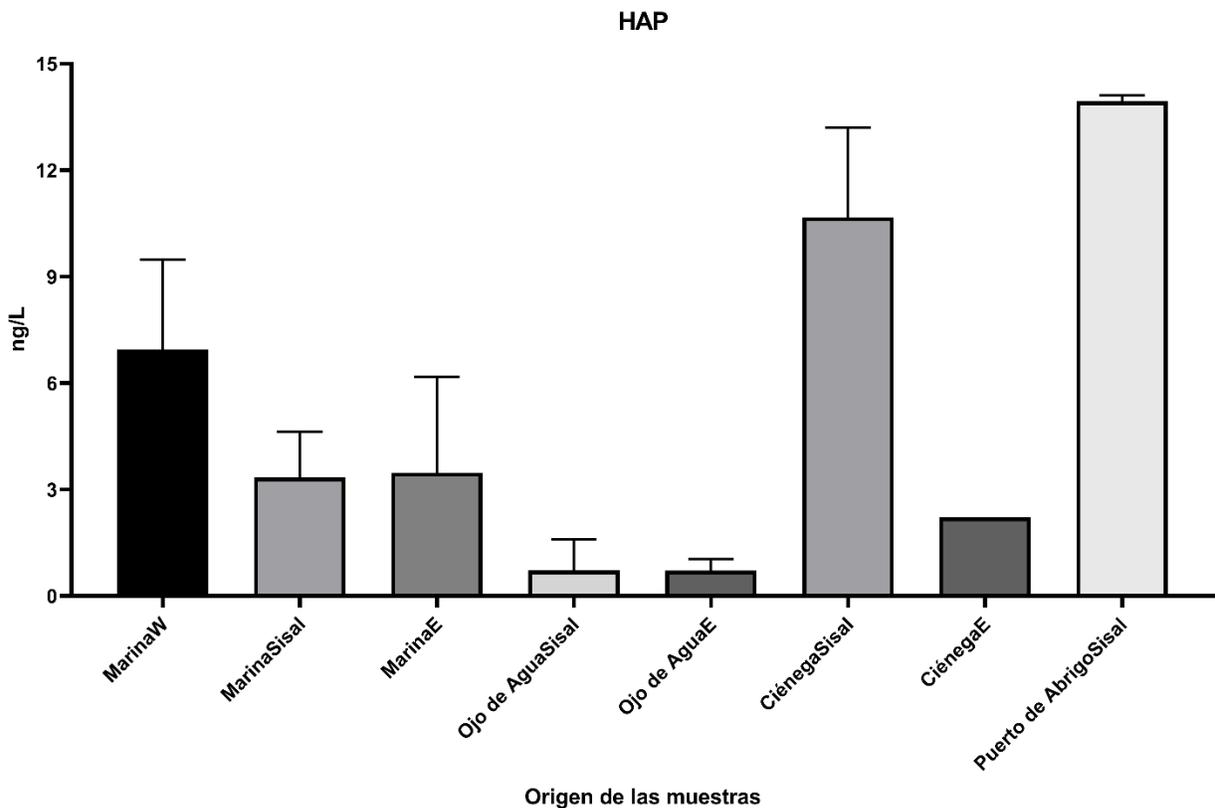


Figura 19. Contenido de HAP totales (HAP de bajo y alto peso molecular) por cada uno de los ambientes acuáticos muestreados dependiendo de la localización con respecto al pueblo de Sisal. Se aprecia que las muestras obtenidas en el puerto de abrigo fueron las que presentaron un mayor contenido en promedio de este tipo de contaminantes en comparación con el resto de los ambientes analizados.

De los 21 plaguicidas analizados 11 de ellos no se detectaron en ninguna de las muestras (Aldrin, Heptacloro epóxido, trans-Clordano, cis-Clordano, Endosulfán I, Endosulfán sulfato, Endrín, DDT, DDD, Endrín aldehído, Endrín cetona), dos se encontraron solamente en una muestra (Dieldrín y Endosulfán II), el resto de los plaguicidas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -HCH, Heptacloro, Clorpirifos, DDE, Metoxicloro) se encontraron en la mayoría, o en su defecto, en el total de las muestras analizadas (Tablas 4-A, 4-B, 4-C). Del grupo anterior, para el  $\beta$ ,  $\gamma$ -HCH, la concentración se obtuvo como la suma de ambos isómeros debido a que no se logró una adecuada separación de los dos picos con el método cromatográfico empleado; el Clorpirifos y el  $\delta$ -HCH fueron los plaguicidas cuya suma de las concentraciones en el total de las muestras fue mayor.

La concentración más elevada de estos compuestos fue de 882.38 ng/L, la cual se presentó en la muestra SIS09, obtenida de una zona de ciénega dentro de la comunidad, teniendo una gran influencia de esta debido a la cercanía y convivencia continua de los pobladores con este ambiente acuático (Figura 20), seguida por las muestras SIS11 y SIS21, la primera de ellas, de igual manera que en el caso de los HAP en la zona de ciénega cercana a una estación de gasolina y la segunda en la fracción marina al este del pueblo (Figura 21). Las muestras SIS06 y SIS12 presentaron las concentraciones más bajas de plaguicidas organoclorados en comparación con el resto, encontrándose concentraciones de 31.51 y 58.96 ng/L respectivamente, la primera de éstas obtenida en la zona del Puerto de Abrigo y la segunda frente a la playa (Figura 22).



*Figura 20. Zona de obtención de la muestra SIS09, ubicada en la zona de ciénega frente al pueblo de Sisal.*



*Figura 21. Zona de obtención de la muestra SIS11, ubicada en la zona de ciénega frente a la estación de gasolina del pueblo de Sisal.*

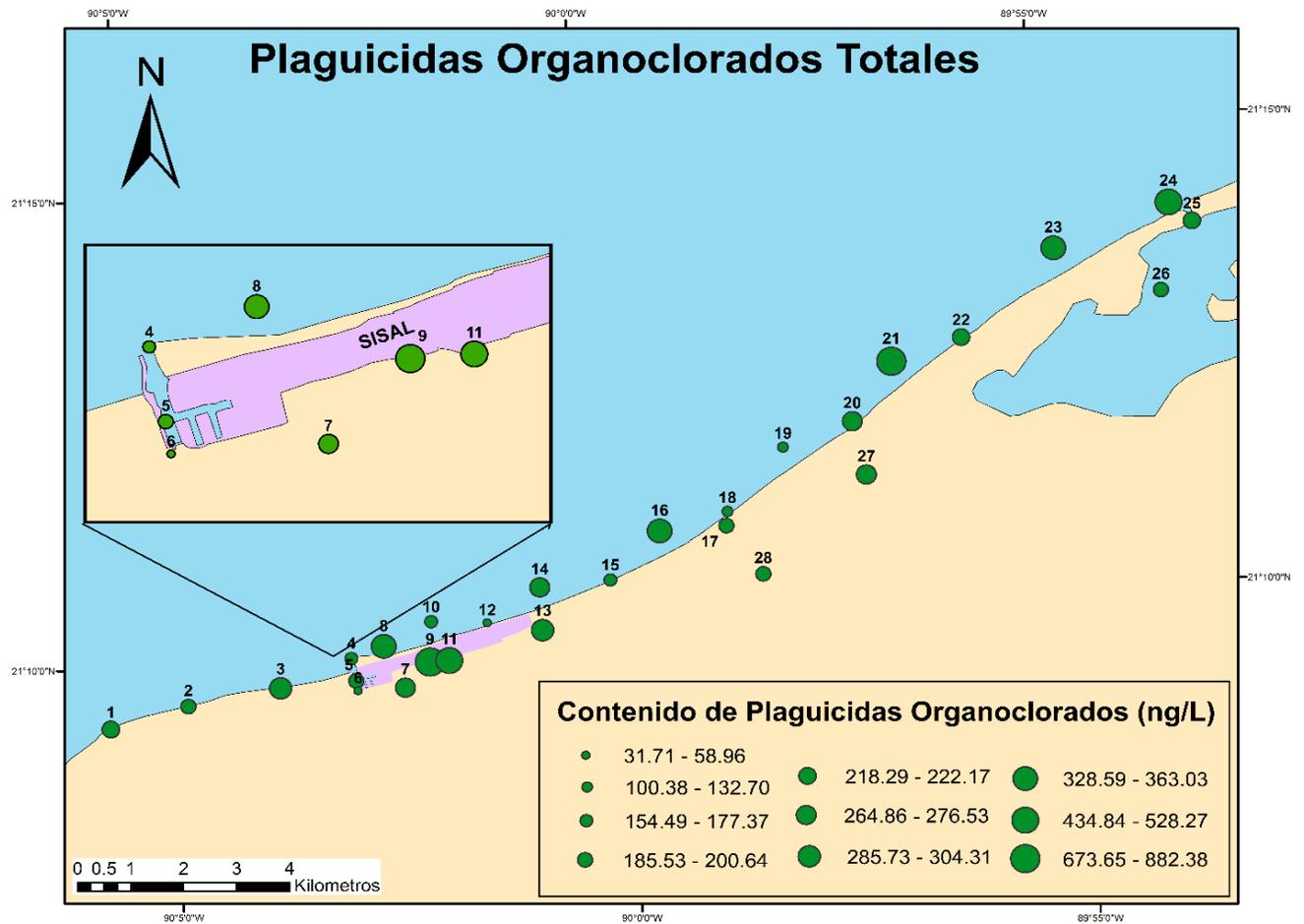


Figura 22 Concentración de los Plaguicidas Organoclorados totales en los diferentes puntos de muestreo. El tamaño de los círculos es proporcional al contenido de estos contaminantes; las muestras fueron agrupadas con el método de clasificación Jenks en 10 clases. Elaboración propia.

Tabla 4-A Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH +  $\gamma$ -HCH,  $\delta$ -HCH, Heptacloro, Aldrín, Clorpirifos y Heptacloro epóxido)

	<u><math>\alpha</math>-HCH</u>	<u><math>\beta</math>-HCH + <math>\gamma</math>-HCH</u>	<u><math>\delta</math>-HCH</u>	<u>Heptacloro</u>	<u>Aldrín</u>	<u>Clorpirifos</u>	<u>Heptacloro epóxido</u>
<i>Ion Cuantificado</i>	181	181	181	100	66	97	353
<i>Muestra</i>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
SIS01	9.66	162.28	ND	4.09	ND	22.29	ND
SIS02	17.82	137.52	ND	2.71	ND	11.66	ND
SIS03	29.73	228.17	ND	6.30	ND	21.52	ND
SIS04	15.96	118.72	ND	ND	ND	16.38	ND
SIS05	8.31	169.51	ND	ND	ND	21.29	ND
SIS06	14.44	ND	ND	ND	ND	11.34	ND
SIS07	8.25	226.63	ND	ND	ND	37.91	ND
SIS08	15.17	285.23	ND	ND	ND	29.18	ND
SIS09	56.28	346.65	434.12	ND	ND	39.83	ND
SIS10	9.83	125.36	ND	2.34	ND	16.95	ND
SIS11	49.59	388.75	ND	ND	ND	37.96	ND
SIS12	1.67	3.11	ND	ND	ND	4.04	ND
SIS13	28.78	107.07	128.59	25.36	ND	10.59	ND
SIS14	10.71	190.86	ND	ND	ND	40.51	ND
SIS15	9.80	130.69	ND	5.14	ND	21.56	ND
SIS16	12.73	282.85	ND	ND	ND	33.00	ND
SIS17	4.21	135.03	ND	ND	ND	13.65	ND
SIS18	1.53	94.15	ND	ND	ND	4.70	ND
SIS19	4.37	108.92	ND	2.56	ND	16.85	ND
SIS20	20.55	175.66	19.89	ND	ND	17.90	ND
SIS21	31.46	507.13	ND	ND	ND	92.81	ND
SIS22	14.80	121.61	42.30	ND	ND	20.04	ND
SIS23	12.80	269.34	24.73	ND	ND	38.05	ND
SIS24	10.50	353.99	15.57	ND	ND	54.78	ND
SIS25	11.34	177.73	ND	ND	ND	16.72	ND
SIS26	4.20	153.51	8.56	ND	ND	19.47	ND
SIS27	7.20	242.72	ND	ND	ND	26.61	ND
SIS28	4.59	165.45	ND	ND	ND	23.20	ND

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de los plaguicidas evaluados en el presente trabajo, indicando el ion que fue analizado para cada compuesto químico. Para la evaluación del  $\beta$ -HCH y el  $\gamma$ -HCH se consideró la suma de ambos contaminantes por lo difuso de su señal cromatográfica. Se observa que el Aldrín y el Heptacloro epóxido no fueron detectados en ninguna de los extractos analizados

ND: No Detectados

Tabla 4-B Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (trans-Clordano, Endosulfán I, cis-Clordano, Dieldrín, DDE, Endrín, Endosulfán II)

<u>Ion Cuantificado</u>	<u>trans-Clordano</u>	<u>Endosulfán I</u>	<u>cis-Clordano</u>	<u>Dieldrín</u>	<u>DDE</u>	<u>Endrín</u>	<u>Endosulfán II</u>
<u>Muestra</u>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
SIS01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS02	ND	ND	ND	ND	0.82	ND	3.11
SIS03	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS06	ND	ND	ND	ND	5.93	ND	ND
SIS07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS08	ND	ND	ND	ND	0.32	ND	ND
SIS09	ND	ND	ND	ND	5.51	ND	ND
SIS10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS11	ND	ND	ND	ND	4.87	ND	ND
SIS12	ND	ND	ND	30.47	0.28	ND	ND
SIS13	ND	ND	ND	ND	3.93	ND	ND
SIS14	ND	ND	ND	ND	0.93	ND	ND
SIS15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS17	ND	ND	ND	ND	1.58	ND	ND
SIS18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS20	ND	ND	ND	ND	0.46	ND	ND
SIS21	ND	ND	ND	ND	1.38	ND	ND
SIS22	ND	ND	ND	ND	0.78	ND	ND
SIS23	ND	ND	ND	ND	0.82	ND	ND
SIS24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS26	ND	ND	ND	ND	0.15	ND	ND
SIS27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SIS28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de los plaguicidas evaluados en el presente trabajo, indicando el ion que fue analizado para cada compuesto químico. Se observa que el trans-Clordano, Endosulfán I, cis-Clordano, Endrín y el Endosulfán II no fueron detectados en ninguna de los extractos analizados, por su parte, el Dieldrín sólo fue detectado en la muestra SIS11.

ND: No Detectados

Tabla 4-C Concentraciones detectadas de HAP en los extractos de agua mediante cromatografía de gases. (DDD, Endrín aldehído, Endosulfán sulfato, DDT, Endrín cetona, Metoxicloro y el valor de Plaguicidas totales)

	<u>DDD</u>	<u>Endrín aldehído</u>	<u>Endosulfán sulfato</u>	<u>DDT</u>	<u>Endrín cetona</u>	<u>Metoxicloro</u>	<u>Plaguicidas totales</u>
<i>Ion</i>	235	67	272	235	67	227	
<i>Cuantificado</i>							
<i>Muestra</i>	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
SIS01	ND	ND	ND	ND	ND	19.97	218.29
SIS02	ND	ND	ND	ND	ND	27.01	200.64
SIS03	ND	ND	ND	ND	ND	ND	285.73
SIS04	ND	ND	ND	ND	ND	26.30	177.37
SIS05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	199.11
SIS06	ND	ND	ND	ND	ND	ND	31.71
SIS07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	272.80
SIS08	ND	ND	ND	ND	ND	21.76	351.66
SIS09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	882.38
SIS10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	154.49
SIS11	ND	ND	ND	ND	ND	47.10	528.27
SIS12	ND	ND	ND	ND	ND	19.40	58.96
SIS13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	304.31
SIS14	ND	ND	ND	ND	ND	21.98	264.99
SIS15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	167.19
SIS16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	328.59
SIS17	ND	ND	ND	ND	ND	31.06	185.53
SIS18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.38
SIS19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	132.70
SIS20	ND	ND	ND	ND	ND	30.41	264.86
SIS21	ND	ND	ND	ND	ND	40.87	673.65
SIS22	ND	ND	ND	ND	ND	21.49	221.02
SIS23	ND	ND	ND	ND	ND	17.28	363.02
SIS24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	434.84
SIS25	ND	ND	ND	ND	ND	16.38	222.17
SIS26	ND	ND	ND	ND	ND	ND	185.89
SIS27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	276.53
SIS28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	193.24

Se muestran las concentraciones en nanogramos por litro de los plaguicidas evaluados en el presente trabajo, indicando el ion que fue analizado para cada compuesto químico. Se observa que el (DDD, Endrín aldehído, Endosulfán sulfato, DDT y el Endrín cetona no fueron detectados en ninguna de los extractos analizados. La muestra SIS09 fue la que registró una mayor concentración de plaguicidas

ND: No Detectados

La media de las concentraciones de plaguicidas al agruparlas por ambiente y ubicación respecto al pueblo mostró nuevamente que las muestras obtenidas de las ciénegas frente a Sisal, en promedio, poseían una mayor concentración de dichos compuestos, seguida por el valor obtenido en la fracción marina al este de la comunidad (Figura 23). Para el caso de estos contaminantes, la media obtenida en el Puerto de Abrigo fue la menor. Si bien, los ojos de agua no fueron los puntos con menor contenido de plaguicidas con respecto al resto de ambientes y dado que la comunidad de Sisal no practica actividades agrícolas, siendo la pesca la principal actividad económica, es de suponerse que los plaguicidas organoclorados tengan un origen alóctono desde el interior de la península. Metcalfe (2011) menciona que la detección de plaguicidas puede deberse a la agricultura cercana a la zona de estudio, sin embargo, al no estar está presente en las cercanías de la zona en donde se realiza el estudio, el origen de este tipo de sustancias es alóctono ya que estos compuestos tienen la capacidad de moverse a través de los flujos de agua subterráneos hasta la región costera de la península de Yucatán. La movilidad en este tipo de sustancias químicas en los sistemas acuáticos, al igual que con los HAP, se da gracias a la adsorción en partículas, tanto orgánicas como inorgánicas y, de igual manera, la concentración de este tipo de plaguicidas es mayor en el sedimento acuático que en la columna de agua, debido al depósito en el fondo de los cuerpos de agua (Sierra *et al.*, 2019).

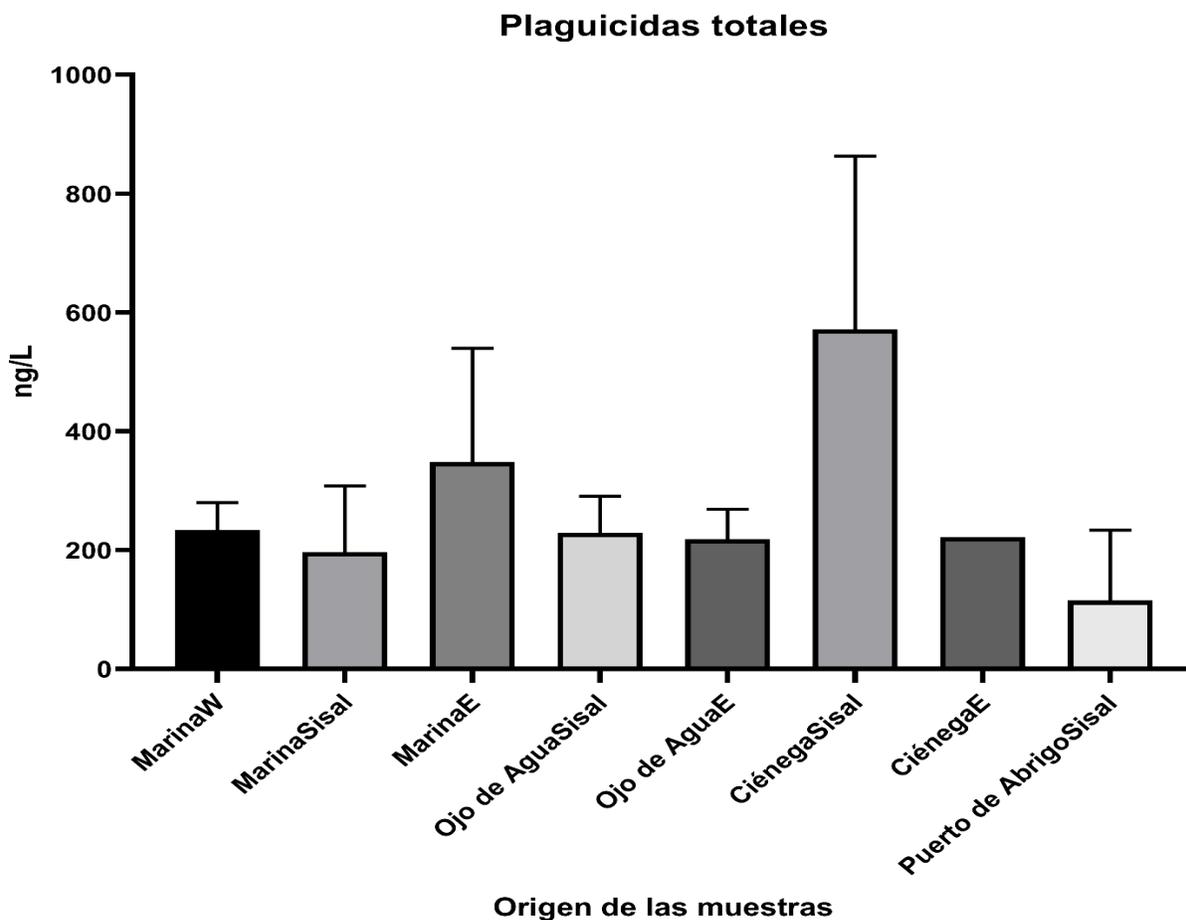


Figura 23. Grafica del contenido de Plaguicidas Organoclorados totales por cada uno de los ambientes acuáticos muestreados dependiendo de la localización con respecto al pueblo de Sisal. Las muestras obtenidas de los ambientes de ciénegas dentro del pueblo de Sisal fueron las que presentaron, en promedio, las mayores concentraciones de plaguicidas en comparación con el resto de los ambientes, caso contrario, aquellas obtenidas del Puerto de Abrigo registraron las menores concentraciones promedio

## Cafeína

La cafeína es un compuesto químico persistente en ambientes acuáticos, por lo que puede recorrer grandes distancias desde la fuente, además, Edwards *et al.*, (2015) mencionan que la vida media de la cafeína en ambientes acuáticos puede ir de entre diez a veinte mil años si las condiciones de pH y degradación microbiana lo permiten, por lo cual, en los últimos años, este compuesto ha cobrado popularidad para trazar descargas de aguas residuales en los ambientes acuáticos pues es un compuesto que

no se libera de forma natural en el ambiente, existiendo exclusivamente en la dieta de las personas. Por tales motivos se evaluó su presencia o ausencia de esta sustancia en los diferentes análisis cromatográficos realizados.

La cafeína fue registrada en 25 de las 28 muestras, quedando excluidas de este contaminante aquellas obtenidas en los sitios denominados SIS17, SIS18 y SIS26, los dos primeros tratándose de un nacimiento de agua y del mar frente a dicho ambiente acuático, el tercero de éstos, un ojo de agua (Figura 24). La media más elevada de las concentraciones de cafeína se obtuvo en las muestras obtenidas en las ciénegas dentro del pueblo de Sisal, lo cual era de esperarse, debido a que estos sistemas acuáticos son el principal receptor de las descargas domésticas de la comunidad, seguida por la de las muestras obtenidas de los ojos de agua dentro del pueblo y la de los ojos de agua al este de la localidad (Figura 25).

Si bien la mayor concentración de cafeína se presentó en las ciénegas dentro de Sisal, cobra especial relevancia la presencia del contaminante en aquellas obtenidas en los ojos de agua, algunos de los cuales son destinos turísticos, lo que supondría una contaminación de tipo autóctona, algunos de ellos se mantienen alejados de actividades turísticas con lo cual se puede presumir la presencia de descargas de aguas residuales llevadas a ellos por medio del acuífero yucateco desde el interior de la península hasta la región costera. Por lo anterior, no se puede descartar que algún porcentaje de los contaminantes evaluados en este trabajo sean de origen alóctono a las estaciones de muestreo pudiendo haber llegado a través de flujos subterráneos de descargas de aguas residuales, mismas que incrementan la probabilidad de presencia de contaminantes que no fueron evaluados en este estudio como los emergentes, los

metales pesados o los plaguicidas organofosforados, que de igual manera pudieron tener un efecto sinérgico en la incidencia de aberraciones en los núcleos celulares de la especie seleccionada para el ensayo toxicológico (Ebrahimzadeh *et al.*, 2021; Whittall *et al.*, 2021).

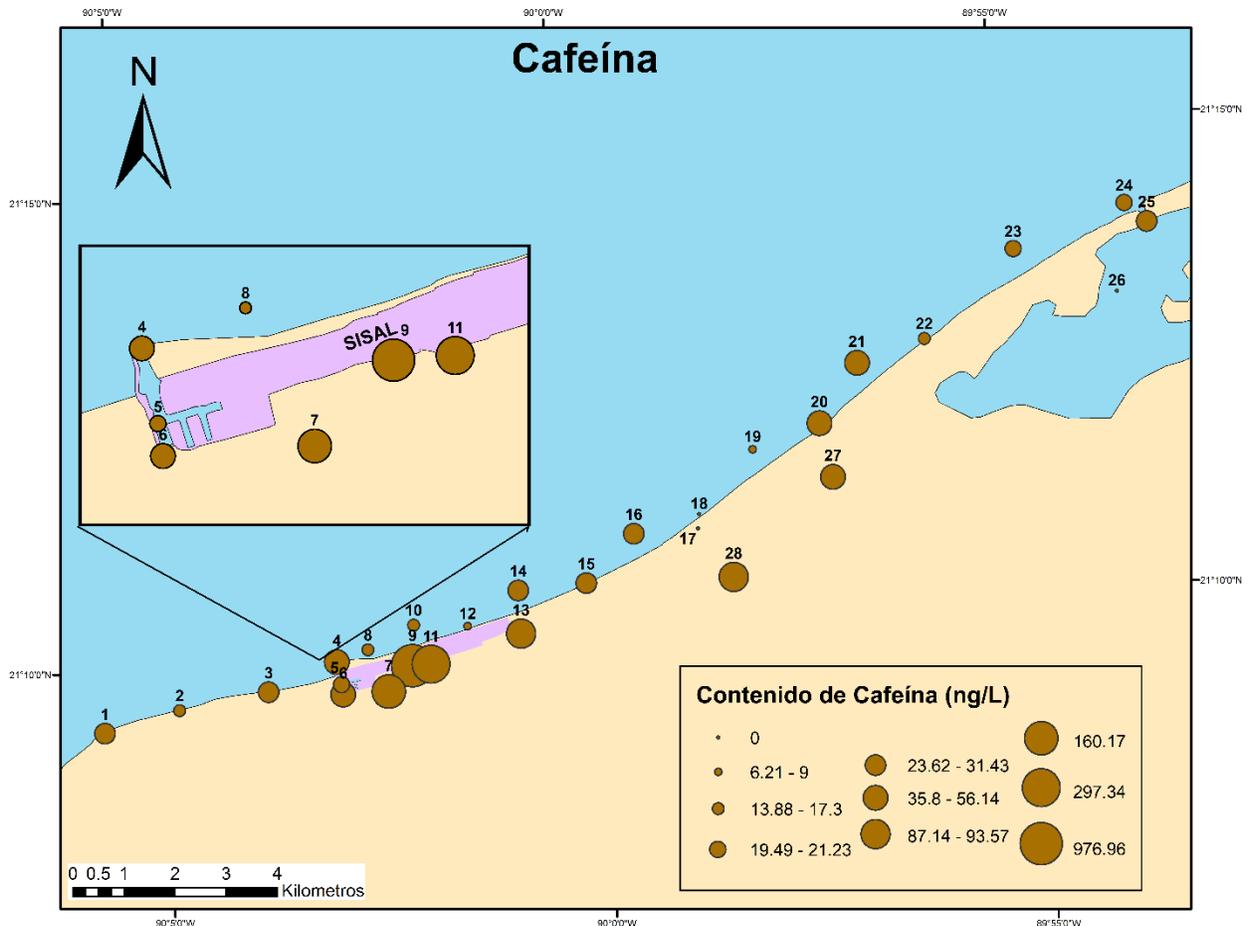


Figura 24. Concentración de Cafeína en los diferentes puntos de muestreo. El tamaño de los círculos es proporcional al contenido de estos contaminantes; las muestras fueron agrupadas con el método de clasificación Jenks en 10 clases. Elaboración propia.

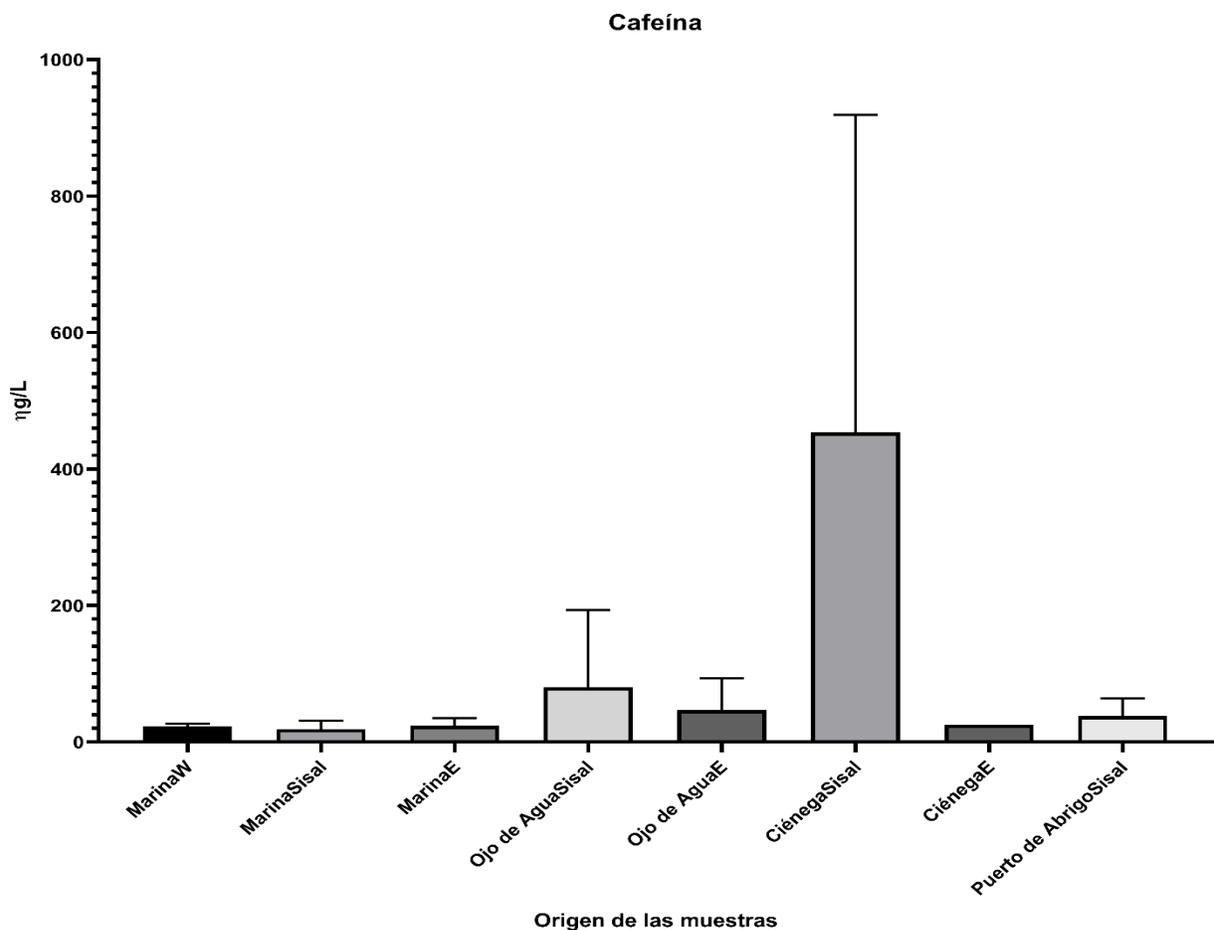


Figura 25. Grafica del contenido de Cafeína por cada uno de los ambientes acuáticos muestreados dependiendo de la localización con respecto al pueblo de Sisal. Las ciénegas ubicadas dentro del poblado presentaron las concentraciones más altas en promedio en comparación con el resto de los ambientes muestreados.

## Bioensayo

### Crecimiento radicular de *Allium cepa*

El total de las cebollas expuestas a los extractos de las muestras de agua presentaron crecimiento radicular, por lo cual ninguna de las muestras reconstituidas tuvo concentraciones de contaminantes que impidieran la generación de nuevas raíces. La prueba estadística Kruskal-Wallis, a la cual fueron sometidos los resultados de

crecimiento radicular, demostró que solo el crecimiento promedio de las raíces de las cebollas expuestas a la muestra SIS04 presentaron diferencias estadísticamente significativas en comparación con las muestras control (Tabla 5), siendo estas raíces las que desarrollaron un menor crecimiento en comparación con las del resto de cebollas (Figura 26); sin embargo, es posible observar una disminución del crecimiento en dicho tejido de las cebollas expuestas a las muestras ambientales en comparación con aquellas expuestas a las de control. La consulta de resultados detallados del bioensayo se encuentra disponible en el siguiente enlace: [Resultados del bioensayo](#).<sup>2</sup>

Tabla 5 Resultados de la prueba de Kruskal Wallis del crecimiento radicular, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas.<sup>3</sup>

<u>Prueba de Dunn para comparaciones múltiples</u>	<u>Diferencia de rango medio.</u>	<u>¿Significancia?</u>	<u>Resumen</u>	<u>Valor ajustado de P</u>
Control vs. Control Solvente	15.83	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS01	21.50	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS02	30.83	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS03	29.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS04	67.33	Sí	*	0.0462
Control vs. SIS05	3.833	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS06	-6.333	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS07	27.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS08	20.50	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS09	18.17	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS10	15.17	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS11	12.50	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS12	38.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS13	14.83	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS14	19.17	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS15	52.33	No	ns	0.4098
Control vs. SIS16	-0.1667	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS17	43.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS18	46.33	No	ns	0.8645

<sup>2</sup> [https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y\\_8AINszyYimPo1IzBk\\_UNI1FyT/edit#gid=1486979080](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y_8AINszyYimPo1IzBk_UNI1FyT/edit#gid=1486979080)

<sup>3</sup> Tabla 5 (Continúa en la siguiente página)

<i>Control vs. SIS19</i>	11.33	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS20</i>	10.00	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS21</i>	11.33	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS22</i>	51.00	No	ns	0.4867
<i>Control vs. SIS23</i>	52.67	No	ns	0.3923
<i>Control vs. SIS24</i>	45.00	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS25</i>	46.50	No	ns	0.8476
<i>Control vs. SIS26</i>	62.67	No	ns	0.0957
<i>Control vs. SIS27</i>	35.17	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS28</i>	29.83	No	ns	>0.9999

*Nota. La muestra denominada como SIS04 fue la única que mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con el resto de las muestras analizadas en términos del crecimiento radicular de las raíces.*

*\* Diferencias significativas*

*ns: no significativas*

La citotoxicidad hace referencia a los efectos causados por los contaminantes en la multiplicación celular, lo cual se manifestó en este trabajo afectando el crecimiento de los tejidos radiculares ya que todas las muestras, excepto la SIS06, mostraron valores inferiores a los obtenidos en los controles. Lo anterior sugiere que esta reducción, aunque estadísticamente no significativa, se debe a la presencia de los contaminantes presentes en el agua (Anacleto *et al.*, 2017). Algunos de estos contaminantes se han asociado a efectos citotóxicos en diferentes estudios, por ejemplo, Dizdari y Koplíku, (2013) mencionan que el  $\gamma$ -HCH (Lindano) inhibe la tasa mitótica de las células en las raíces de las cebollas de manera directamente proporcional a la concentración del contaminante; por su parte, Hoshina y Marin-Morales (2009) mencionan que muestras de agua contaminadas con hidrocarburos provenientes de refinerías mostraron una disminución en el índice mitótico de *Allium cepa*.

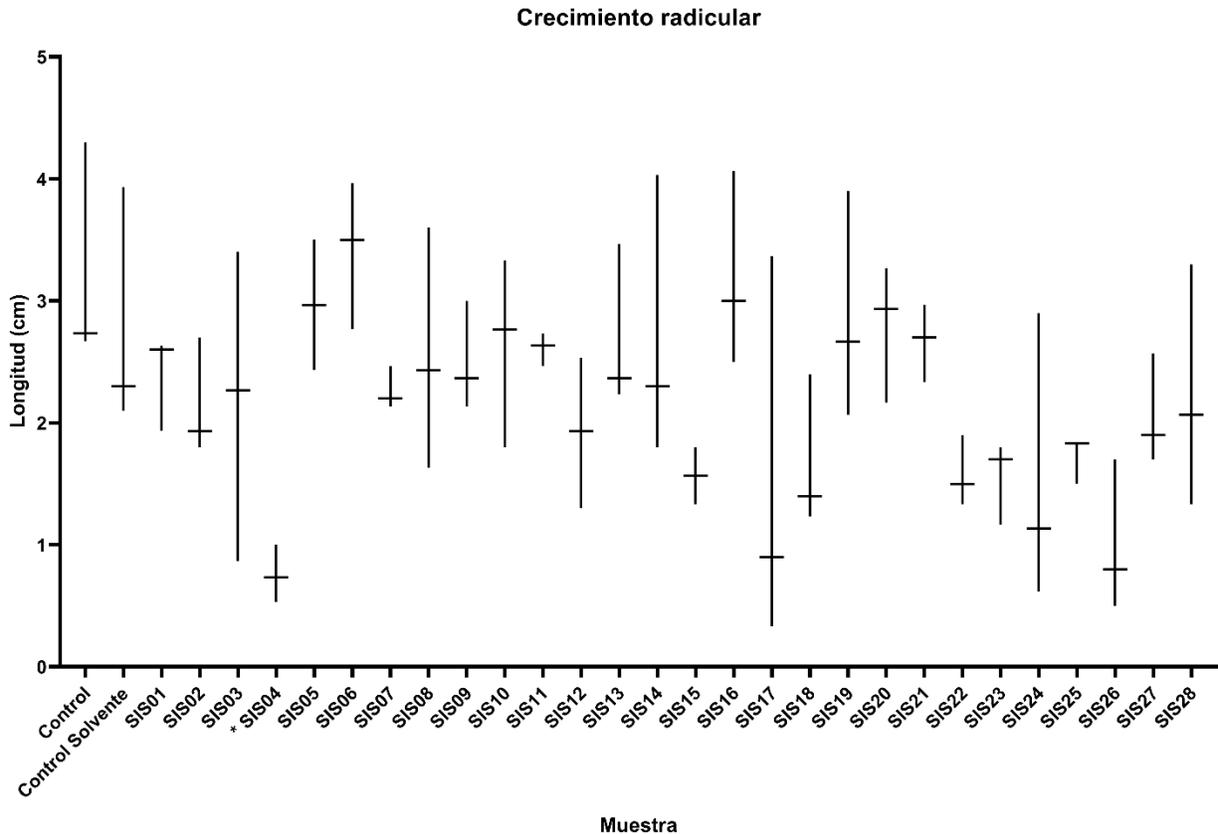


Figura 26. Medianas de crecimiento radicular de las cebollas por muestra. La línea se ubica sobre la mediana obtenida, la línea en vertical representa el rango intercuartílico a partir de las 3 mediciones de los organismos expuestos por cada muestra. Los valores registrados en los organismos expuestos a la muestra SIS04 fueron los más bajos en promedio en comparación con el resto de los crecimientos observados en el resto de los organismos. SIS06 provocó los mayores crecimientos, siendo estos incluso mayores a los registrados en las muestras Control. \* Diferencias significativas en comparación con las muestras control.

Si bien, no se mostraron diferencias estadísticamente significativas, la media del crecimiento radicular en las muestras obtenidas en la ciénega al este del pueblo, así como las de los ojos de agua en sisal y aquellos ubicados al este de Sisal, fueron las más bajas en comparación con los valores obtenidos en las muestras control (Figura 27). A pesar de que los ojos de agua a simple vista parecían ser ambientes conservados por las propiedades organolépticas del agua, la hidrología de la península hace de estos lugares los yacimientos de los flujos subterráneos desde el interior de la península, acarreado con ellos a los contaminantes inyectados al acuífero mediante

aguas residuales domésticas e industriales (Valenzuela *et al.*, 2005). Por esta razón es que incluso en las muestras de ojos de agua se produjeron reducciones en la tasa de crecimiento de las raíces de los bulbos de las cebollas, ya que como se mencionó anteriormente, estas muestras no estuvieron exentas de contener plaguicidas organoclorados y HAP.

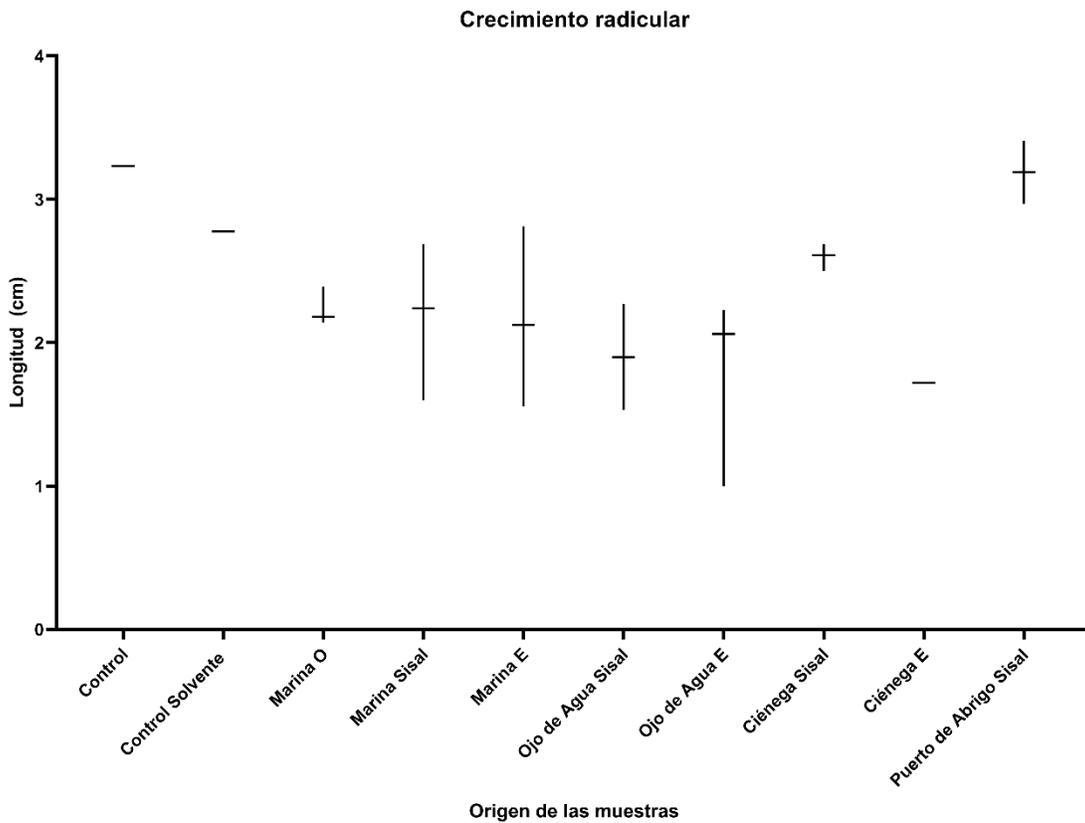


Figura 27. Mediana del crecimiento radicular promedio presentado en los bulbos de las cebollas por origen de la muestra respecto al pueblo de Sisal. Las muestras al este de sisal fueron, según el rango intercuartílico las que, en promedio, tuvieron un menor crecimiento en comparación con el resto de los ambientes evaluados, de igual manera se aprecia que aquellas cebollas expuestas a las muestras provenientes del puerto de abrigo fueron las que presentaron crecimientos similares a aquellas expuestas a las muestras control.

Las muestras del Puerto de Abrigo, si bien fueron aquellas que presentaron los valores más altos en HAP, obtuvieron valores similares de crecimiento radicular a los controles, Shabbir *et al.*, (2021) mencionan que, así como los contaminantes inhiben el crecimiento en organismos tanto vegetales como animales, también pueden promover la tasa mitótica induciendo una proliferación descontrolada en la reproducción celular, en este caso es posible que los diferentes contaminantes, tanto aquellos evaluados como aquellos que no lo fueron hayan promovido el crecimiento de las raíces de *Allium cepa* pese a ser los sitios más contaminados.

La regresión lineal múltiple evaluando la influencia de los contaminantes con el crecimiento radicular mostrado por las cebollas arrojó como resultado que ninguno de los contaminantes encontrados tuvo una influencia estadísticamente significativa sobre el desarrollo de las raíces, ya que para todos los contaminantes se obtuvo un valor de  $p > 0.5$ , para la regresión el valor de R cuadrada fue de 0.182 con un valor de  $p = 0.1981$ , con lo cual no se puede adjudicar los efectos sobre el crecimiento de las raíces a un solo contaminante, sino más bien el resultado de un efecto sinérgico de la mezcla de las diferentes sustancias químicas contaminantes, tanto aquellas evaluadas como aquellas que no lo fueron (Tabla 6). Una vez realizado el modelo de regresión lineal, el cálculo de los residuales mostró que, al tener una distribución normal, el modelo fue idóneo obteniendo resultados confiables sobre la significancia de los contaminantes sobre la variable del crecimiento radicular (Figura 28).

Tabla 6. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de los diferentes contaminantes con el crecimiento de las raíces de *Allium cepa*.

	<u>Estimación</u>	<u>Error estándar</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Pr(&gt; t )</u>
(Intersección)	1.486118	0.3168	4.691	0.00021 ***
Crec.-HAP bajo peso molecular	0.009538	0.068665	0.139	0.89116
Crec.-HAP alto peso molecular	0.321023	0.161545	1.987	0.06326
Crec.- a-HCH	-0.015727	0.027163	-0.579	0.57019
Crec.-b-HCH+g-HCH	0.001408	0.003286	0.428	0.67374
Crec.-d-HCH	-0.005922	0.004698	-1.26	0.22453
Crec.-Heptacloro	0.043745	0.041	1.067	0.30091
Crec.-Clorpirifos	0.004744	0.016295	0.291	0.77446
Crec.-DDE	0.151559	0.134181	1.13	0.27437
Crec.-Metoxicloro	-0.012153	0.010756	-1.13	0.27422
Crec.-Cafeína	0.001775	0.002452	0.724	0.4791

Nota. Se obtuvieron valores para el error estándar residual: 0.5869 en 17 grados de libertad, R cuadrada múltiple: 0.485, R cuadrado ajustado: 0.1.1891, Estadístico F: 1.601 en 10 y 17 grados de libertad, valor p: 0.1891

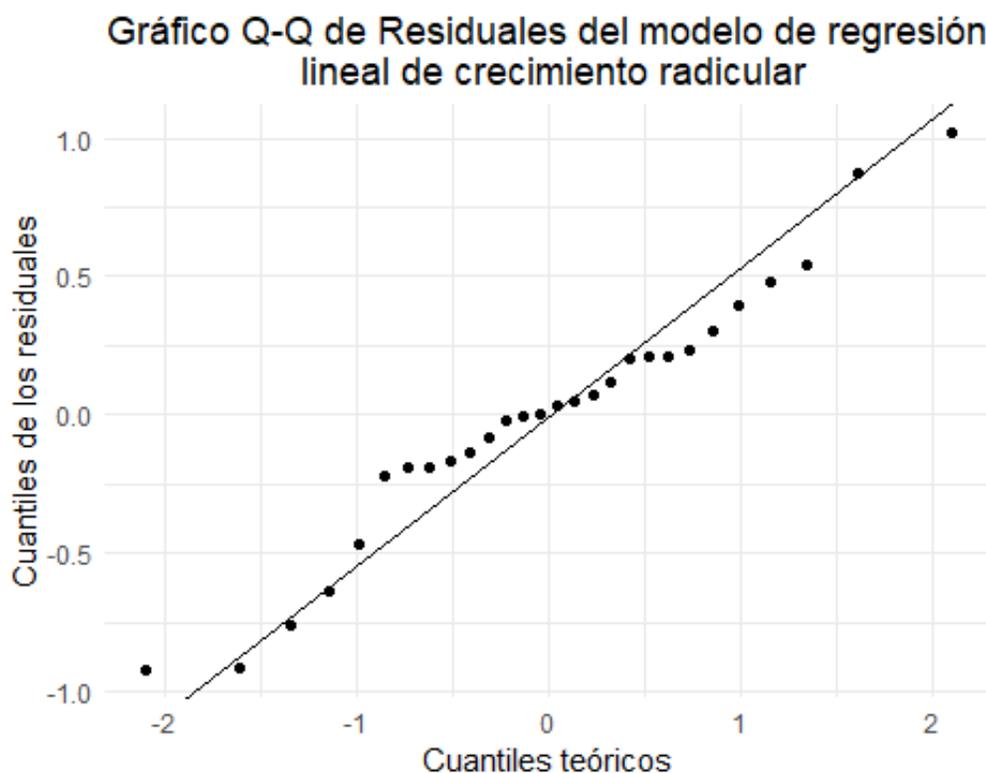
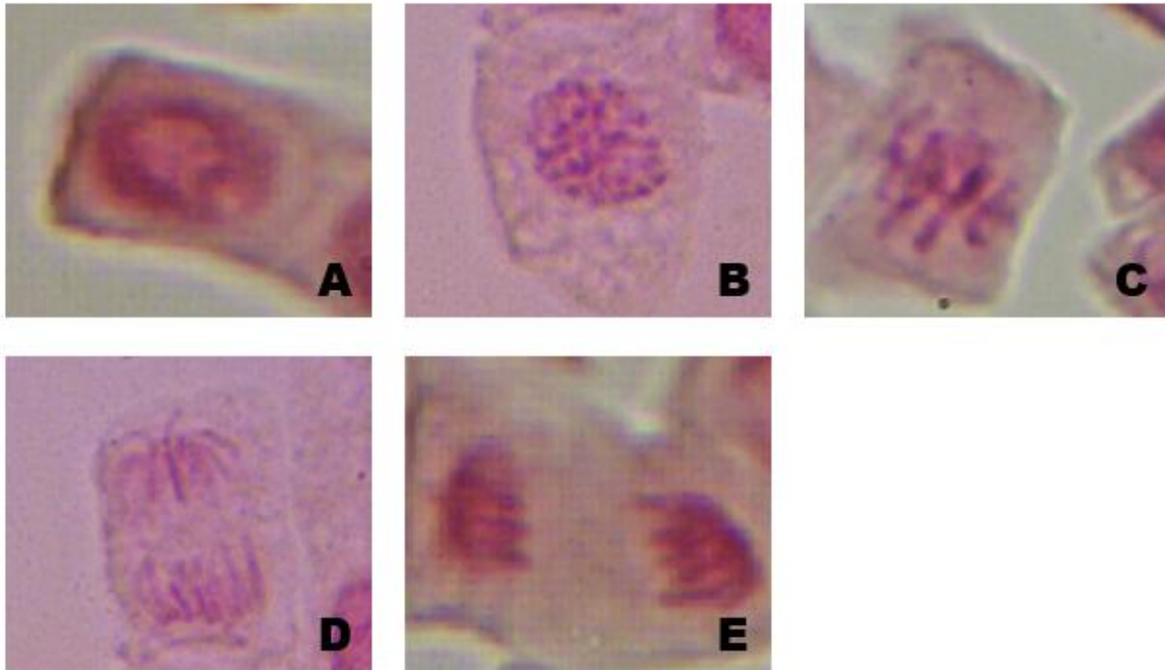


Figura 28. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal del crecimiento radicular

## Índices mitóticos (IM)

Se consideró dentro de la mitosis a todas aquellas células con algún crecimiento en el diámetro del núcleo, denotando una profase temprana. Si bien se cuantificaron cada una de las fases de la mitosis celular, al final, estas se agruparon dentro de la categoría de “células en mitosis”, lo anterior debido a que la obtención del valor de índice mitótico requiere el número total de célula en alguna de las fases mitóticas. La figura (29) muestra cada una de las fases del ciclo celular observadas al microscopio de las muestras analizadas.



*Figura 29. Fases de la mitosis celular observadas en los conteos, en cada uno de los recuadros se muestra cada una de las fases mitóticas, siendo A- Interfase normal, B -Profase, C- Metafase, D-Anafase y E-Telofase.*

Las medias para los índices mitóticos se mantuvieron en el rango de entre 10% y 16%, siendo los organismos expuestos a las muestras control con agua destilada aquellos que presentaron un mayor índice mitótico en comparación con el resto de las muestras (Figura 30). En cuanto a las muestras ambientales, SIS12 , SIS14 (ambas muestras marinas), y SIS25 (muestra de ciénega) fueron las que provocaron la mayor disminución en la tasa mitótica de las células de las raíces de *Allium cepa* según el rango intercuartílico, caso contrario las muestras SIS19, SIS22 (ambas muestras marinas) y SIS27 (muestra de ojos de agua) aquellas que presentaron los valores más cercanos a los obtenidos en las muestras control, según los rangos intercuartílicos de los resultados de obtenidos, generando los valores promedio de índice mitótico mayor entre las muestras de origen ambiental. La consulta de resultados detallados del bioensayo se encuentra disponible en el siguiente enlace: [Resultados del bioensayo.](#)<sup>4</sup>

El total de los valores de índices mitóticos, no mostraron diferencias significativas en los análisis estadísticos de las medias obtenidas para cada una de las estaciones, lo anterior basado en los resultados de la prueba Kruskal-Wallis obteniendo un valor de  $p > 0.05$  en cada una de las comparaciones de los índices mitóticos obtenidos con las muestras ambientales con los obtenidos en la muestra control, sin embargo, todos los índices mitóticos de los organismos expuestos a las muestras ambientales tuvieron una media por debajo de la media del índice mitótico de los organismos expuestos a las muestras control.

---

<sup>4</sup> [https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y\\_8AINszyYimPo1lzBk\\_UNI1FyT/edit#gid=1486979080](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y_8AINszyYimPo1lzBk_UNI1FyT/edit#gid=1486979080)

Si bien no existieron diferencias significativas entre las muestras, la presencia de los diferentes contaminantes pudo haber provocado dichas disminuciones en la tasa mitótica de las células de *Allium cepa*, sin embargo, estas sustancias no se presentaron a una concentración que provocara que se inhibiera en mayor medida el índice mitótico y por lo tanto provocara diferencias significativas con respecto a las muestras control (Tabla 7).

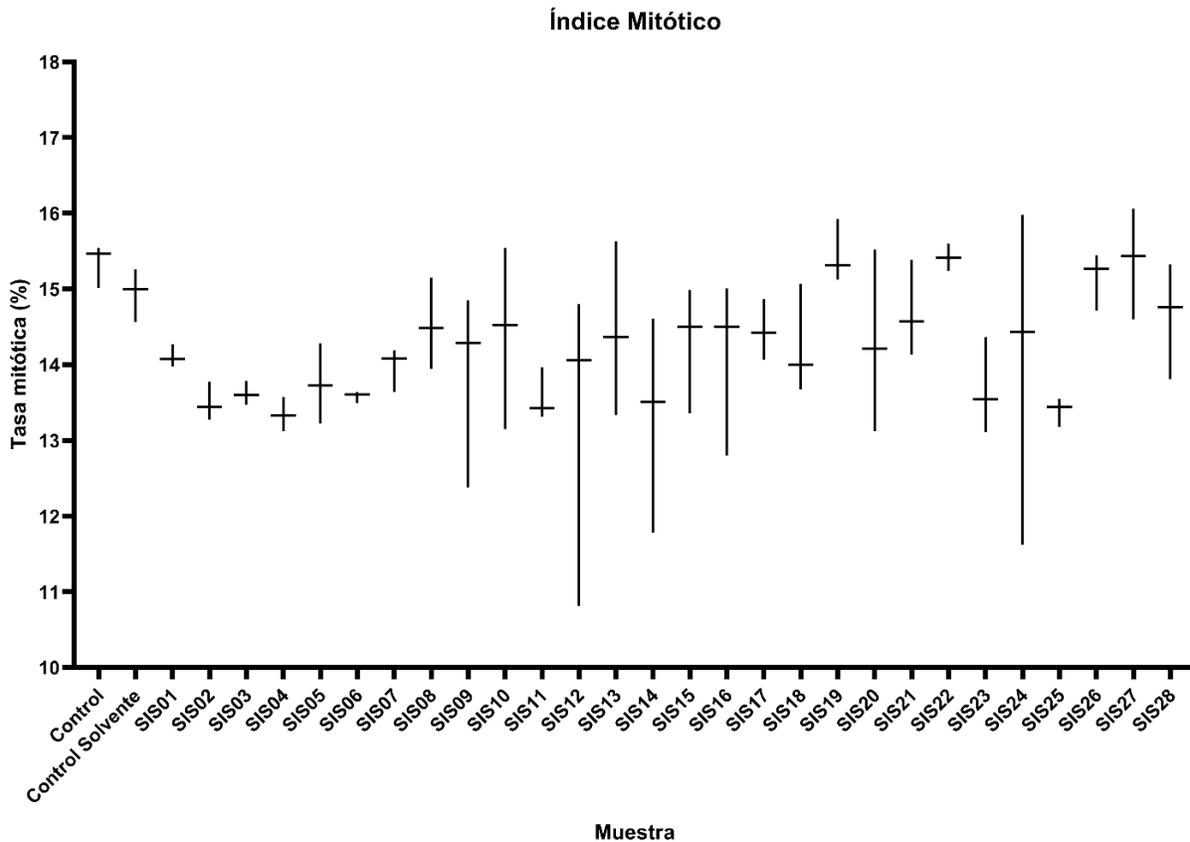


Figura 30. Medianas de índice mitótico obtenido para cada una de las muestras. La línea horizontal se ubica sobre la mediana y la línea vertical el rango intercuartílico. Las muestras SIS11, SIS14 y SIS25 presentaron, en promedio, los índices mitóticos más bajos en comparación con el resto de las muestras. Todos los índices mostraron alguna reducción en esta variable cuantificada en comparación con los resultados obtenidos de los conteos celulares realizados en los organismos expuestos a las muestras control.

Tabla 7. Resultados de la prueba de Kruskal Wallis de los índices mitóticos, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas.

<u>Prueba de Dunn para comparaciones múltiples</u>	<u>Diferencia de rango medio.</u>	<u>¿Significancia?</u>	<u>Resumen</u>	<u>Valor ajustado de P</u>
Control vs. Control Solvente	12.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS01	37.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS02	57.33	No	ns	0.2086
Control vs. SIS03	52.00	No	ns	0.4285
Control vs. SIS04	62.83	No	ns	0.0934
Control vs. SIS05	48.33	No	ns	0.6802
Control vs. SIS06	52.67	No	ns	0.3929
Control vs. SIS07	40.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS08	25.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS09	40.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS10	28.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS11	56.33	No	ns	0.2397
Control vs. SIS12	44.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS13	27.83	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS14	50.00	No	ns	0.5532
Control vs. SIS15	33.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS16	35.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS17	26.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS18	32.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS19	0.000	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS20	33.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS21	18.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS22	-1.000	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS23	52.33	No	ns	0.4103
Control vs. SIS24	30.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS25	61.00	No	ns	0.1230
Control vs. SIS26	6.000	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS27	2.000	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS28	20.67	No	ns	>0.9999

Se obtuvieron valores que muestran la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los índices mitóticos obtenidos en los conteos celulares de las raíces expuestas a los extractos de muestras ambientales con aquellos obtenidos tras una exposición a las muestras control.

ns: no significativo

Hidalgo *et al.*, (1989) propusieron la hipótesis de que los valores de índices mitóticos pueden verse disminuidos gracias a los efectos inhibidores de los contaminantes sobre las células, las cuales disminuyen las producciones de algunas proteínas encargadas de la señalización celular para la mitosis. Lo cual es probable que haya ocurrido en este caso por los contaminantes analizados, o bien por aquellos que no fueron en esta investigación; sin embargo, como se mencionó anteriormente los contaminantes también pueden promover la tasa mitótica induciendo una proliferación descontrolada en la reproducción celular, lo que pudo haber contrarrestando el efecto sobre los índices mitóticos (Shabbir *et al.*, 2021)

Agrupando los valores de acuerdo con el origen de las muestras, en aquellas obtenidas en la fracción marina al oeste del pueblo y de la ciénega al este de Sisal se obtuvieron las medias más bajas de índices mitóticos en comparación con el resto de las muestras, caso contrario, las provenientes de ojos de agua provocaron una menor reducción de la tasa mitótica en comparación con los controles y controles solventes, esto pudo deberse a las bajas concentraciones de contaminantes encontrados en ellas en comparación con el resto de las muestras (Figura 31).

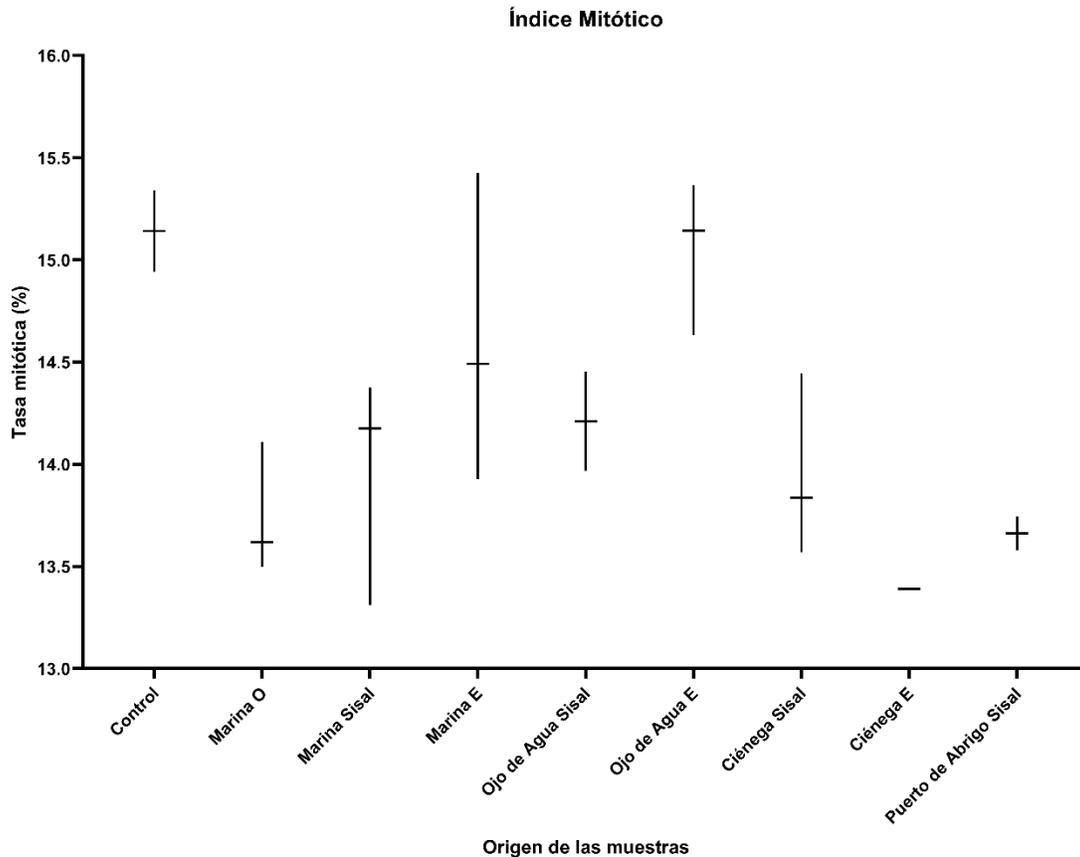


Figura 31. Medianas de los índices mitóticos (IM) agrupados por el origen de las muestras respecto al pueblo de Sisal. Se observa que los organismos expuestos a las muestras provenientes de las ciénegas al este y marinas al oeste del pueblo generaron, en promedio las mayores reducciones de los índices mitóticos en comparación con el resto de los ambientes acuáticos analizados.

Lo anterior también se pudo observar en los contenidos de HAP detectados durante los análisis cromatográficos, ya que para las muestras provenientes de ojos de agua los valores de estos contaminantes fueron los menores en comparación con el resto de las muestras, con lo cual esta diferencia de concentraciones podría ser la responsable de causar las diferencias en los índices mitóticos en las células de las raíces de las cebollas, Chowdhary *et al.*, (2022) reportan disminuciones en índices mitóticos en el bioensayo con *Allium cepa* evaluando la citotoxicidad de muestras con contaminantes orgánicos a medida que la concentración de estos aumenta.

Ya que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas se puede inferir que los contaminantes presentes en las muestras de agua no estaban en concentraciones tales que se diera una inhibición más grande de los índices mitóticos, ya que a concentraciones más elevadas los índices mitóticos se reducen de manera drástica en el bioensayo con *Allium cepa* debido a la interferencia que generan los contaminantes en los procesos de división celular y por ende para el caso de la cebolla, también tiene repercusiones en la longitud de las raíces (Bhat *et al.*, 2018; Lyu *et al.*, 2018).

Los valores obtenidos en la regresión lineal múltiple sugirieron que ninguno de los contaminantes encontrados en los extractos de las muestras ambientales tuvo una influencia determinante sobre los índices mitóticos en las células de las raíces de las cebollas, ya que todos ellos obtuvieron un valor de  $p > 0.05$ , para la regresión lineal, el valor de R cuadrada fue de 0.3141 y un valor de  $p = 0.6486$ , y una vez más, no se pudo obtener evidencia para adjudicar los efectos sobre las tasas mitóticas a un solo contaminante, sino más bien el resultado de un efecto sinérgico de la mezcla de las diferentes sustancias químicas contaminantes, tanto aquellas evaluadas como aquellas que no lo fueron, posiblemente el efecto de promoción que tienen algunos de los contaminantes sobre la multiplicación celular encubrió los efectos negativos sobre las células de las raíces de *Allium cepa* (Tabla 8).

De igual manera, el cálculo de los residuales mostró que, al tener una distribución normal, el modelo fue idóneo y mostró resultados confiables sobre la significancia de los contaminantes sobre los valores contabilizados de tasas mitóticas observadas en las células de las raíces de las cebollas (Figura 32).

Tabla 8. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de los diferentes contaminantes con la tasa mitótica de las células de las raíces de *Allium cepa*.

	<u>Estimación</u>	<u>Error estándar</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Pr(&gt; t )</u>
(Intersección)	14.426664	0.366971	39.313	<2e-16 ***
IM-HAP bajo peso molecular	0.007174	0.079539	0.090	0.929
IM-HAP alto peso molecular	-0.247070	0.187129	-1.320	0.204
IM- a-HCH	-0.007336	0.031465	-0.233	0.818
IM- b-HCH+g-HCH	0.002182	0.003806	0.573	0.574
IM- d-HCH	0.006666	0.005442	1.225	0.237
IM- Heptacloro	-0.019679	0.047493	-0.414	0.684
IM-Clorpirifos	-0.004220	0.018876	-0.224	0.826
IM-DDE	0.039101	0.155431	0.252	0.804
IM-Metoxicloro	-0.006098	0.012460	-0.489	0.631
IM-Cafeína	-0.003071	0.002841	-1.081	0.295

Nota. Se obtuvieron valores para el error estándar residual: 0.6799 en 17 grados de libertad, R cuadrada múltiple: 0.3141, R cuadrado ajustado: -0.08935, Estadístico F: 0.7785 en 10 y 17 grados de libertad, valor p: 0.6486.

## Gráfico Q-Q de Residuales del modelo de regresión lineal de IM

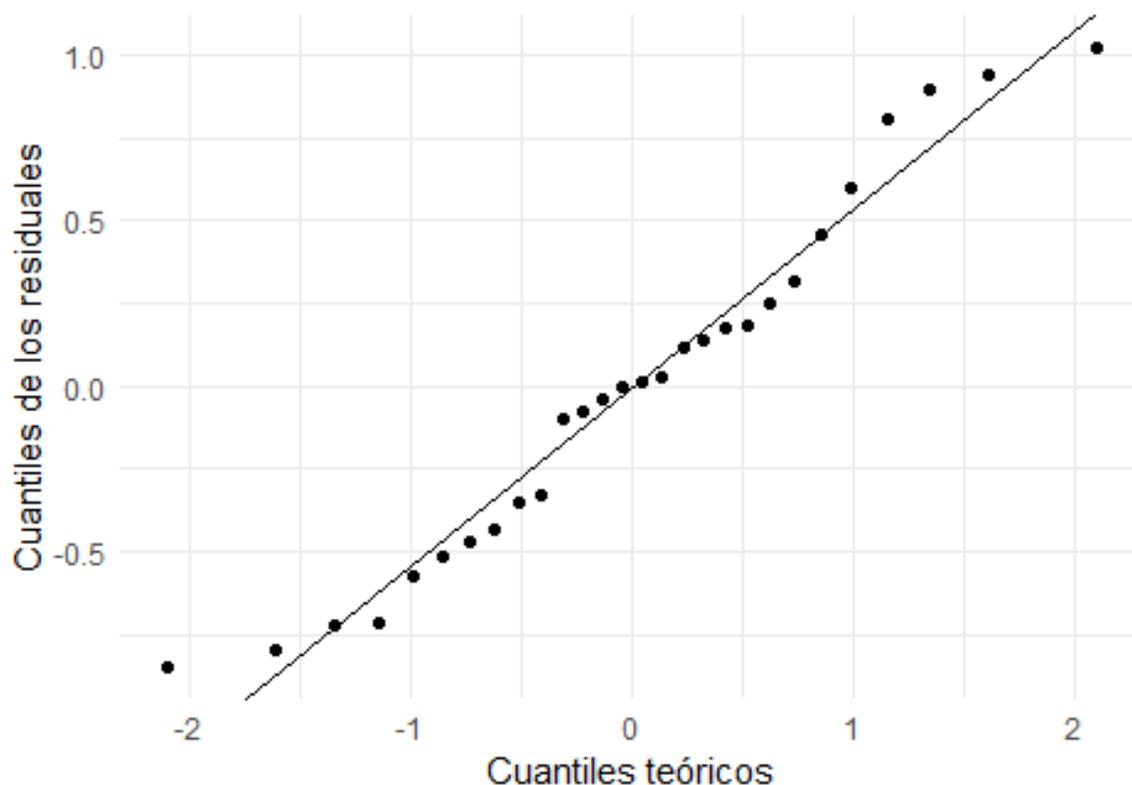


Figura 32. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal de IM.

## Genotoxicidad

### Índices de anormalidades (IA)

Las anormalidades nucleares contempladas para este trabajo fueron micronúcleos, células binucleadas, células anucleadas, núcleos condensados, núcleos arriñonados y núcleos con acreciones irregulares (Figura 33), los cuales fueron categorizados en la categoría de “Anormalidades” (Castro *et al.*, 2004). Cada uno de estos tipos fueron observados en mayor o menor medida dentro de los conteos realizados, pese a que para fines de este trabajo no importaba el tipo de daño genotóxico, sino más bien el número de estos, los micronúcleos junto con las

acreciones irregulares fueron las anomalías en el núcleo más frecuentes con respecto de los demás tipos contemplados. La consulta de resultados detallados del bioensayo se encuentra disponible en el siguiente enlace: [Resultados del bioensayo<sup>5</sup>](#)

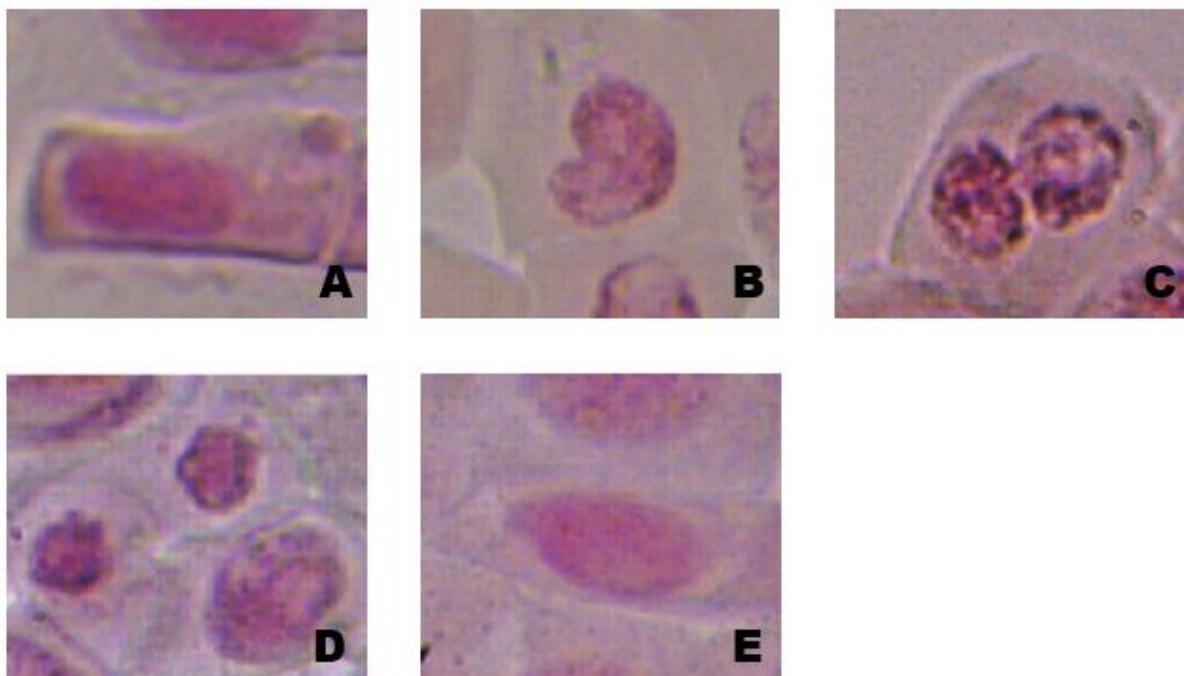


Figura 33. Aberraciones nucleares observadas durante los conteos, siendo el recuadro A- Interfase con micronúcleo, B- Célula arriñonada, C- Célula binucleada, D- Núcleos condensados y E- Célula con yema.

Todas las muestras ambientales provocaron la generación de anomalías en los núcleos de las células de las raíces de *Allium cepa*, sin embargo, los índices más altos de anomalías obtenidos durante los conteos celulares se presentaron en las células de los organismos expuestos a aquellas obtenidas en el Puerto de Abrigo (SIS05 y SIS06) y en la ciénega próxima a una gasolinera (SIS11) obteniendo una media de 8.54%, 11.00% y 6.18% respectivamente (Figura 34), coincidiendo con los valores más altos de hidrocarburos aromáticos policíclicos en comparación con el resto

<sup>5</sup> [https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y\\_8AINszyYimPo1IzBk\\_UNI1FyT/edit#gid=1486979080](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1NBq--Y_8AINszyYimPo1IzBk_UNI1FyT/edit#gid=1486979080)

de los puntos de muestreo. Los valores más bajos de anomalías se presentaron en los organismos expuestos a las muestras SIS27 y SIS28, fueron obtenidas en ojos de agua al este de la comunidad de Sisal, cuyas medias obtenidas fueron 0.22% y 0.26% respectivamente. El análisis estadístico de Kruskal-Wallis, mostró diferencias significativas en las muestras SIS01, SIS02, SIS05, SIS06, SIS09, SIS11 y SIS13 en comparación con aquellas de tipo control, en el resto de ellas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con dicha prueba estadística.

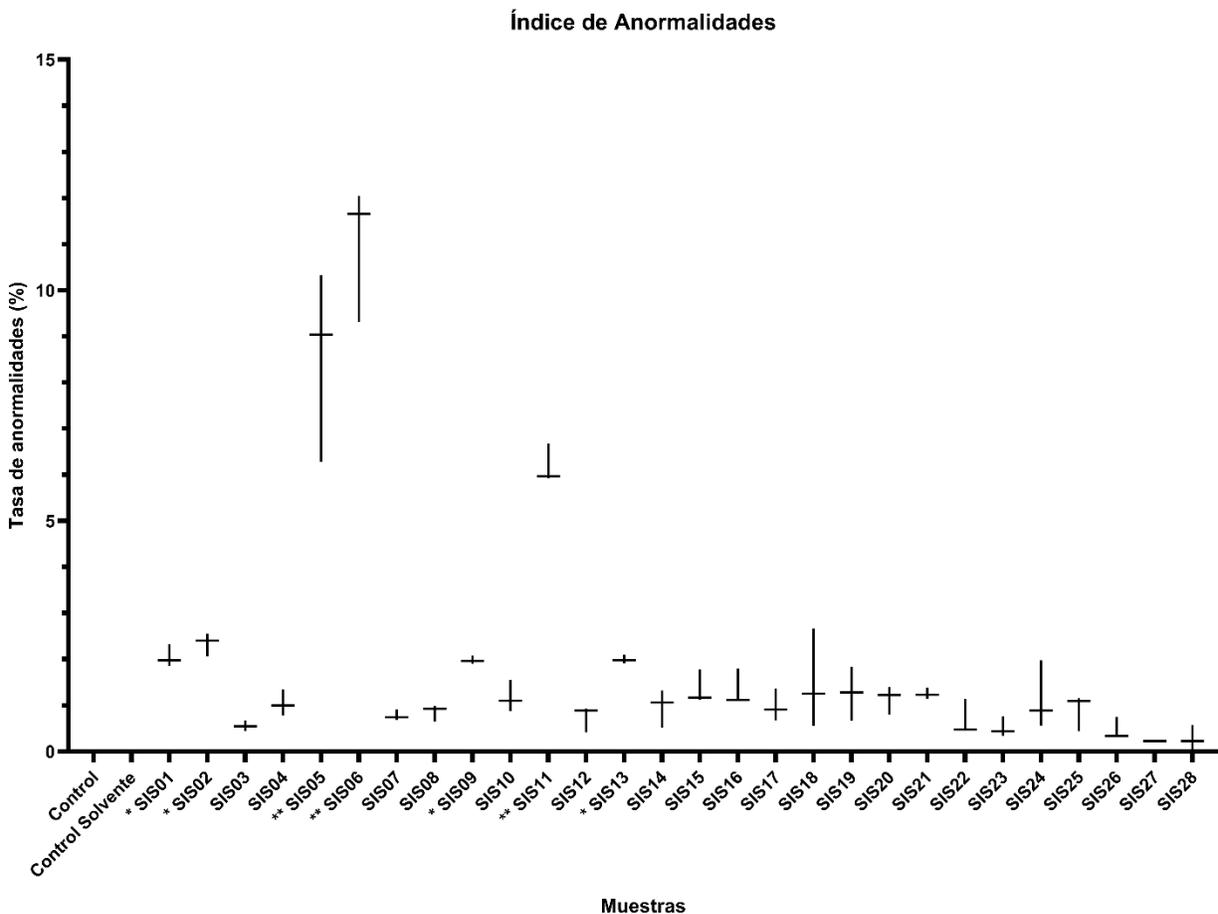


Figura 34. Medianas de los índices de anomalías obtenidos para cada una de las muestras. La línea horizontal se ubica sobre la mediana y la línea vertical el rango intercuartílico. Los resultados de los índices de anomalías mostraron que las muestras del Puerto de Abrigo fueron las que provocaron un mayor número de efectos genotóxicos en las células de las raíces de los organismos expuestos a ellas. \* Diferencias significativas \*\* Diferencias altamente significativas.

Las muestras que presentaron diferencias significativas, coincidieron con las concentraciones más altas de HAP de bajo peso molecular, SIS01 y SIS02 fueron obtenidas en el mar al oeste del pueblo de Sisal, a una distancia relativamente cercana del Puerto de Abrigo, zona de obtención de SIS05 y SIS06, finalmente, SIS09, SIS11 y SIS13 fueron obtenidas en la ciénega frente al pueblo de Sisal dejando a la región del este exenta de muestras que produjesen valores elevados de anormalidades en comparación con el resto de ellas (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de la prueba de Kruskal Wallis índices de anormalidades, comparando los resultados de las muestras ambientales con la muestra control para identificar diferencias significativas.<sup>6</sup>

<u>Prueba de Dunn para comparaciones múltiples</u>	<u>Diferencia de rango medio.</u>	<u>¿Significancia?</u>	<u>Resumen</u>	<u>Valor ajustado de P</u>
Control vs. Control Solvente	0.000	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS01	-68.67	Sí	*	0.0372
Control vs. SIS02	-74.00	Sí	*	0.0151
Control vs. SIS03	-18.83	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS04	-42.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS05	-82.00	Sí	**	0.0035
Control vs. SIS06	-84.67	Sí	**	0.0021
Control vs. SIS07	-29.33	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS08	-32.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS09	-68.00	Sí	*	0.0415
Control vs. SIS10	-45.00	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS11	-79.33	Sí	**	0.0058
Control vs. SIS12	-27.50	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS13	-69.67	Sí	*	0.0315
Control vs. SIS14	-37.67	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS15	-52.33	No	ns	0.4097
Control vs. SIS16	-50.33	No	ns	0.5296
Control vs. SIS17	-39.17	No	ns	>0.9999
Control vs. SIS18	-49.67	No	ns	0.5760
Control vs. SIS19	-46.67	No	ns	0.8308
Control vs. SIS20	-47.00	No	ns	0.7984
Control vs. SIS21	-52.33	No	ns	0.4097

<sup>6</sup> Tabla 9. (Continúa en la página siguiente).

<i>Control vs. SIS22</i>	-26.33	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS23</i>	-17.33	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS24</i>	-40.83	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS25</i>	-34.33	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS26</i>	-15.00	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS27</i>	-5.667	No	ns	>0.9999
<i>Control vs. SIS28</i>	-8.667	No	ns	>0.9999

*Las muestras denominadas como SIS05, SIS06, SIS11 mostraron las diferencias más grandes en los valores obtenidos en los índices de anormalidades obtenidos en los conteos celulares en comparación con los valores obtenidos en aquellos organismos con exposición a las muestras control, seguidas por las muestras SIS01, SIS02, SIS09 y SIS13, que de igual manera mostraron diferencias significativas en esta variable.*

*\* Diferencias significativas*

*\* Diferencias altamente significativas*

Como se mencionó anteriormente, en el pueblo de Sisal, se llevan a cabo actividades relacionadas con el manejo, almacenamiento y quema de combustibles fósiles, como en la zona del Puerto de Abrigo la cual presenta un constante tránsito de lanchas motorizadas y la estación de gasolina, frente al punto de obtención de la muestra SIS11, área en la cual se presenta un flujo de agua que conecta las partes de la ciénega divididas por la carretera que conecta al pueblo de Sisal con Hunucmá (Figura 35). Con lo cual, es muy probable que gran porcentaje de la contaminación por hidrocarburos sea de tipo autóctona dispersándose desde la fuente por los flujos de agua dentro de los sistemas acuáticos.

Al agrupar las muestras por su origen y con respecto a su localización, la media de las anormalidades presentes en las muestras provenientes de los ojos de agua, tanto aquellos al este como aquellos dentro de Sisal, fueron las más bajas en comparación con el resto de las muestras (Figura 36). Caso contrario, la media de las anormalidades observadas en los organismos expuestos a las muestras provenientes del Puerto de Abrigo y la ciénega de Sisal son las que presentaron un mayor valor. La

diferencia anterior puede verse reflejada de igual manera en la concentración de los contaminantes, siendo los ojos de agua los que presentaron los niveles más bajos de HAP mientras que las muestras del Puerto de Abrigo y ciénega de sisal fueron aquellas con mayor concentración de este tipo de contaminantes. Es importante señalar que las células tienen procesos encargados de la reparación de los efectos genotóxicos, con lo cual es probable que los contaminantes ocasionaran un mayor número de anomalías, y que estos hayan sido reparados por las mismas células (Rodríguez *et al.*, 2015).



*Figura 35. Imagen aérea con la localización de las muestras obtenidas de la ciénega frente a Sisal. Imagen obtenida de Google Earth, Airbus 2023.*

### Índice de Anormalidades por ambiente y localización.

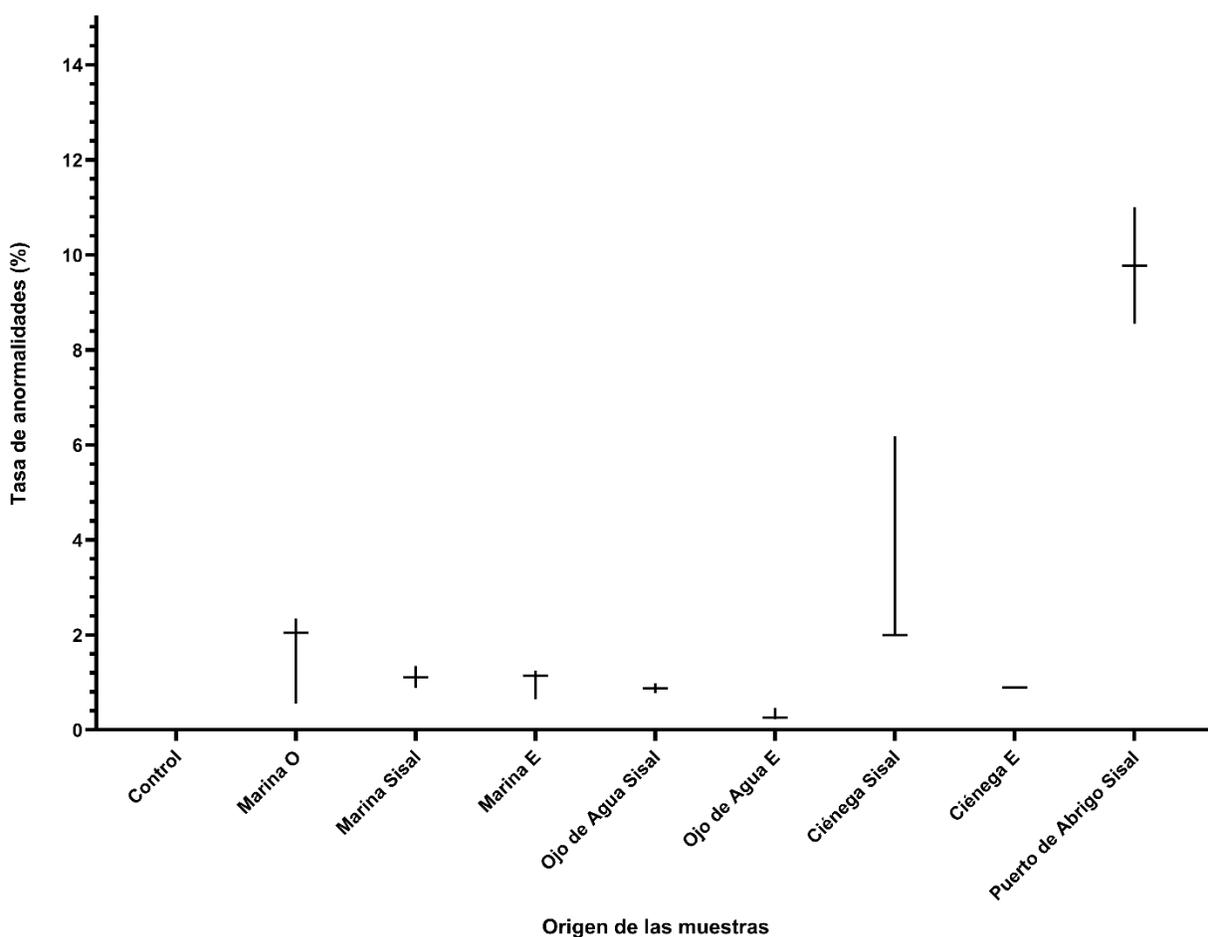


Figura 36 Medianas de los índices de anomalías (IA) agrupados por el origen de las muestras respecto al pueblo de Sisal. Se observa que las muestras de obtenidas del Puerto de Abrigo y las ciénegas dentro del pueblo de Sisal fueron las que ocasionaron, en promedio, el mayor número de anomalías en comparación con el resto de los ambientes analizados.

Los valores obtenidos en la regresión lineal para los índices de anomalías evaluando la influencia de los contaminantes sobre la generación de anomalías sugieren que los HAP de bajo peso molecular, el DDE, el metoxicloro y el heptacloro presentaron una relación positiva entre el contenido de estos contaminantes con el número de anomalías generadas en las células de las raíces de la cebolla (Tabla 10). El valor de la R cuadrada de la regresión fue de 0.9515 con un valor de  $p=3.367e^{-9}$ , con lo cual se puede sugerir que los contaminantes analizados y los efectos sinérgicos

de la presencia de estos en los extractos, pudieron haber sido los responsables de la aparición de las diferentes anomalías observadas durante los conteos celulares. Leme y Marin (2008) reportaron índices de anomalías en los núcleos celulares de *Allium cepa* producto de exposición muestras de aguas contaminadas con HAP, similares a las encontradas en las observaciones realizadas en el presente estudio, cabe señalar que en dicho trabajo el análisis de las muestras detectó los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos analizados en el presente trabajo. Adicionalmente, se menciona que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de dichos contaminantes con la incidencia de las anomalías en los núcleos celulares, efecto observable en este trabajo.

Tabla 10. Resultados de la regresión lineal múltiple para determinar la significancia de las concentraciones de contaminantes con los índices de anomalías contabilizadas en las células de las raíces de *Allium cepa*.

	<u>Estimación</u>	<u>Error estándar</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Pr(&gt; t )</u>
(Intersección)	0.843945	0.374650	2.253	0.037786 *
IA-HAP bajo peso molecular	0.556118	0.081204	6.848	2.83e-06 ***
IA-HAP alto peso molecular	0.299175	0.191044	1.566	0.135773
IA- a-HCH	-0.041029	0.032124	-1.277	0.218690
IA- b-HCH+g-HCH	-0.003333	0.003886	-0.858	0.402973
IA- d-HCH	-0.007475	0.005556	-1.345	0.196180
IA- Heptacoloro	-0.147264	0.048487	-3.037	0.007440 **
IA-Clorpirifos	0.019191	0.019271	0.996	0.333287
IA-DDE	0.683709	0.158684	4.309	0.000476 ***
IA-Metoxicloro	-0.049415	0.012720	-3.885	0.001191 **
IA-Cafeína	-0.001347	0.002900	-0.465	0.648107

Nota. Se obtuvieron valores para el error estándar residual: 0.6941 en 17 grados de libertad, R cuadrado múltiple: 0.9515, R cuadrado ajustado: 0.923, Estadístico F: 33.36 en 10 y 17 grados de libertad, valor p: 3.367e-09.

\*Significante

\* Muy Significante

\*\* Altamente Significante

Al igual que con los modelos anteriores, el cálculo de los residuales mostró que, al tener una distribución normal, el modelo fue idóneo y mostró resultados confiables sobre la significancia de los contaminantes sobre los valores contabilizados de tasas mitóticas observadas en las células de las raíces de las cebollas (Figura 37).

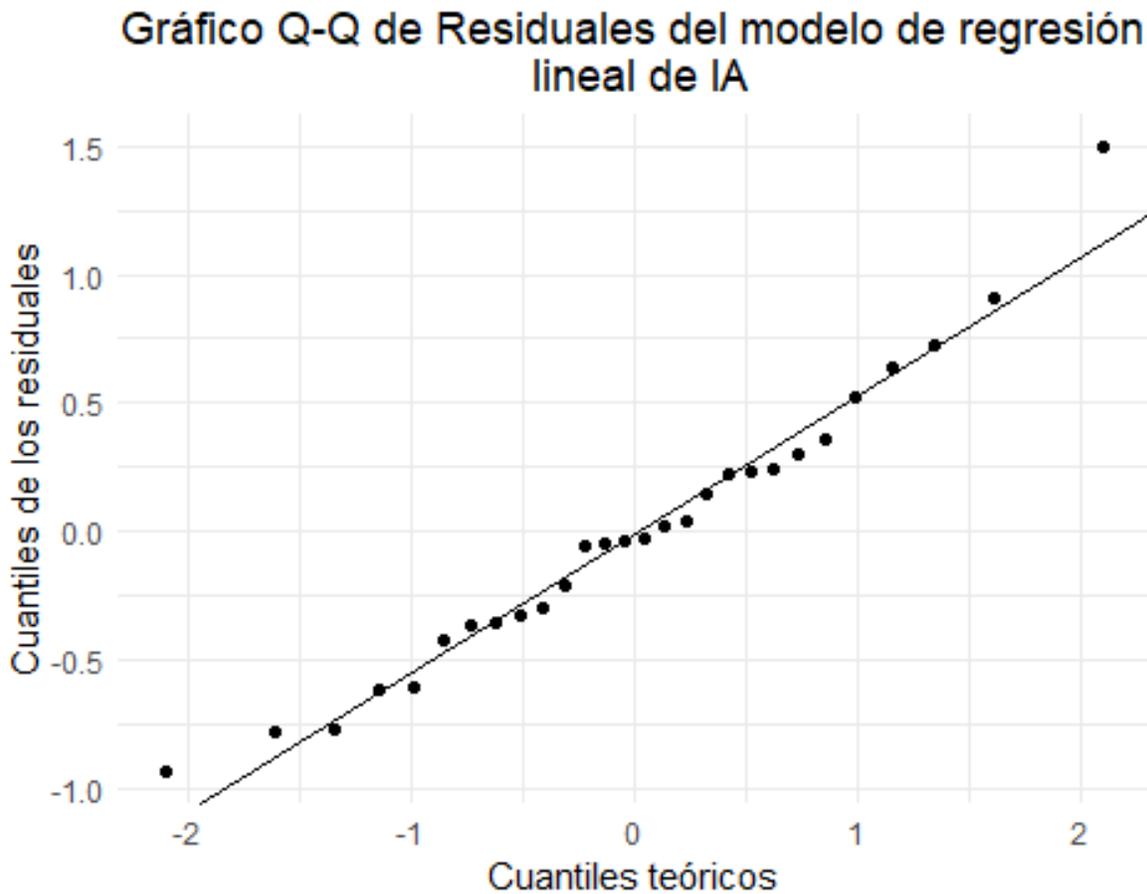


Figura 37. Gráfica Q-Q de residuales del modelo de regresión lineal de IA.

Es importante señalar que si bien, los resultados estadísticos sugieren que algunos contaminantes tuvieron una mayor significancia sobre la generación de efectos genotóxicos en las células de la especie seleccionada, al tratarse de muestras con un

gran número de sustancias químicas en ellas, resulta complicado conocer el rol que desempeñan cada uno de ellos de manera individual, así como la manera en que los efectos se pueden ver alterados ante la presencia de contaminantes que estuvieron fuera de la investigación, como los plaguicidas organofosforados, los metales pesados y/o los contaminantes emergentes, por lo cual un análisis evaluando los efectos genotóxicos

El análisis *in silico* de los HAP detectados en los extractos de las muestras mostró a 12 de los 16 como mutagénicos según las características de sus moléculas y de los estudios toxicológicos que son usados como referencia por el software ToxRead para la evaluación de los compuestos químicos. Para el caso de los HAP de bajo peso molecular se obtuvieron valores de no mutagenicidad para el Naftaleno y Acenaftreno, probablemente mutagénico para el Fluoreno y mutagénico para el Acenaftileno, Fenantreno y Antraceno (Figura 38). Por parte del grupo de los HAP de alto peso molecular, todos los compuestos fueron clasificados como mutagénicos por los análisis realizados en el programa, el cual asigna un color verde a aquellas moléculas sin evidencia de mutagenicidad, amarillo para aquellos compuestos con alta probabilidad de ser mutagénicos y el color rojo para aquellas sustancias con evidencia científica de causar efectos mutagénicos. Lo anterior sugiere que si bien, estadísticamente no se encontró una relación significativa con los HAP de alto peso molecular, estos compuestos también pudieron haber provocado la generación de algún porcentaje de las anomalías contabilizadas. Los resultados obtenidos con el software ToxRead mostraron una confiabilidad alta para la evaluación *in silico* de este tipo de contaminantes, pues concuerda con información reportada en los análisis toxicológicos



que demuestran que es genotóxico en células animales y no así para organismos procariontes (Chen, 2014).

Dizdari y Kopliku (2013) reportan la presencia de efectos adversos citotóxicos y genotóxicos en *Allium cepa* tras la exposición al  $\gamma$ -HCH (Lindano), de igual manera Clorpirifos ha ocasionado la disminución en la tasa mitótica y la presencia de micronúcleos en células de raíces de *Allium cepa* tras la exposición a este contaminante, incrementando la magnitud de dichos efectos a medida que se incrementa la concentración (Shabbir *et al.*, 2021). Zeyad (2019) en su estudio, evaluando la genotoxicidad de muestras de agua contaminada con plaguicidas organoclorados, señala la relación positiva entre la concentración de estos contaminantes con la incidencia de anomalías en los núcleos de células de bacterias y plantas.

Al igual que los HAP, solo un grupo de los plaguicidas detectados en las muestras mostró relación estadísticamente significativa entre la concentración del contaminante con la incidencia de anomalías, sin embargo, nuevamente aquellos compuestos que no mostraron dicha significancia pudieron haber promovido o en su defecto, causado la incidencia de las diferentes anomalías contabilizadas al inducir cierto grado de sinergia en los efectos ocasionados por la presencia de contaminantes.

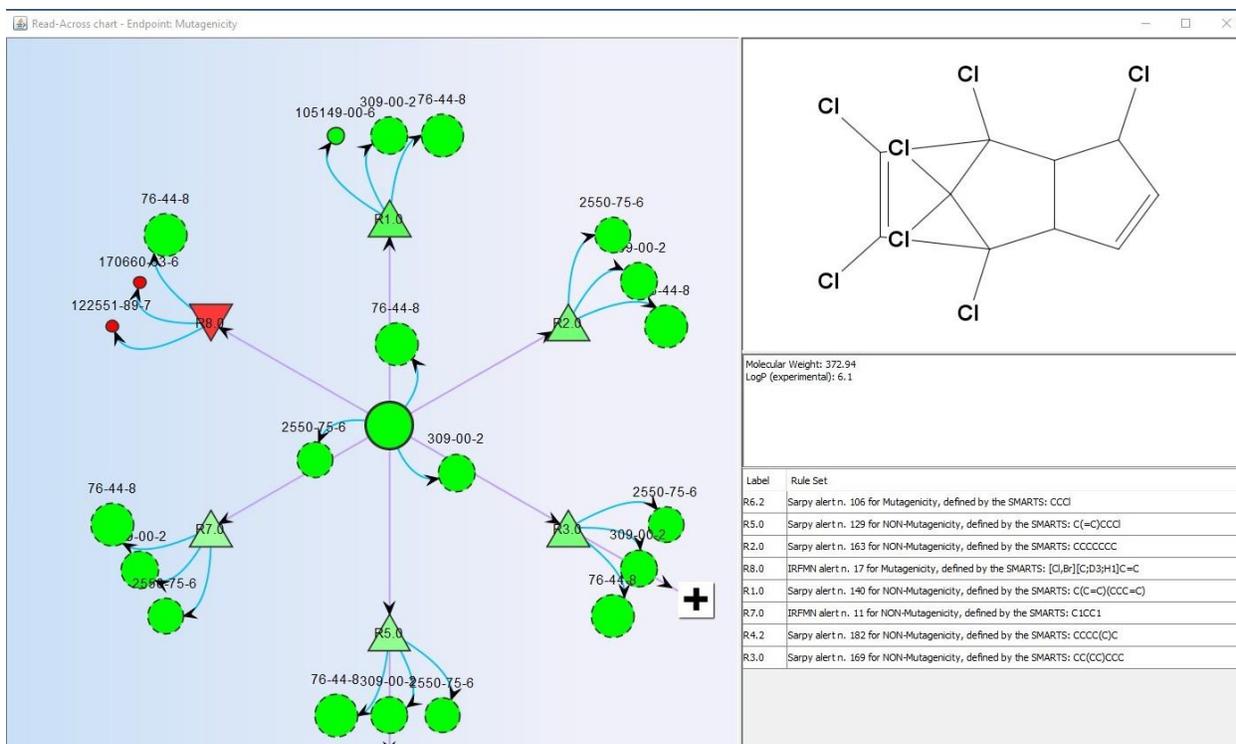


Figura 39. Pantalla del software ToxRead mostrando la mutagenicidad del heptacloro, se muestra en el círculo del centro el compuesto objetivo y los tres círculos alrededor son compuestos con gran similitud fisicoquímica.

Es importante señalar que además de los compuestos químicos analizados en las muestras, estas pudieron contener muchos otros contaminantes ajenos a los evaluados en este trabajo, por ejemplo, los plaguicidas organofosforados y los contaminantes emergentes, los cuales han sido evaluados en términos de citotoxicidad y genotoxicidad en bioensayos con *Allium cepa* dando resultados positivos para estas dos variables, (Herrero *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2019; Kumari *et al.*, 2011; Shabbir *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONES

•La determinación de contaminantes en los extractos de agua reflejó la presencia de los mismos en los ambientes acuáticos costeros, siendo las muestras de agua obtenidas en ojos de agua aquellas que presentaron, en promedio, una menor concentración de este tipo de sustancias, mientras que las ciénegas y el Puerto de Abrigo del pueblo de Sisal aquellos sistemas con una mayor concentración promedio de hidrocarburos aromáticos policíclicos y plaguicidas organoclorados, denotando la influencia de las actividades humanas en este tipo de ambientes. Por otra parte, la presencia de cafeína en cada una de las muestras es un indicio inequívoco de la presencia de aguas residuales en todos los ambientes acuáticos analizados, demostrando el flujo de compuestos contaminantes desde el interior de la península de Yucatán hasta la franja costera al norte de la región.

•Los resultados de los conteos celulares sugieren que los contaminantes presentes en las muestras de agua fueron responsables de la aparición de efectos genotóxicos en las células de las raíces de *Allium cepa*, principalmente los resultados estadísticos reflejan una correlación entre el contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos de bajo peso molecular, heptacloro, DDE y metoxicloro; sin embargo es importante recalcar que la presencia del resto de sustancias analizadas como aquellas que no lo fueron y que pudieron haberse presentado también podrían generar un efecto sinérgico en la incidencia de anomalías en los núcleos celulares.

•Si bien los efectos citotóxicos no fueron tan evidentes y estadísticamente no significativos, se logró apreciar una disminución de los valores de índices mitóticos y crecimiento radicular de todos los organismos expuestos a las muestras ambientales

en comparación con los resultados obtenidos en aquellos tratados con las muestras control, con lo cual dichas diferencias, tal como lo mencionan diferentes autores citados a lo largo de este trabajo, se debe a la presencia de contaminantes en las muestras de agua.

- Un análisis de este tipo, evaluando por separado a los contaminantes, daría un mejor entendimiento del papel que llevan a cabo cada uno de ellos en los ambientes acuáticos y de la peligrosidad que representan para los ecosistemas en los que se encuentran. De igual manera se sugiere para la península de Yucatán estudios que midan la toxicidad de las aguas presentes en la región costera del estado, pues esta parte de la península es el destino de muchos contaminantes provenientes desde el interior de la misma por las características kársticas del acuífero yucateco, de esta forma se puede conocer el estado de contaminación hídrica y proponer una mejor legislación en tema de tratamiento y descarga de aguas residuales para promover una óptima calidad del agua tanto en el acuífero como en los ambientes que se relacionan con él.

## REFERENCIAS

- Abdel Migid, H. M., Azab, Y. A., y Ibrahim, W. M. (2007). Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.011>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2023). *2022 Substance Priority List*. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/#2022spl>.
- Alavanja, M. C. R., Hoppin, J. A., y Kamel, F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: Cancer and neurotoxicity. *Annual Review of Public Health*, 25, 155–197. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PUBLHEALTH.25.101802.123020>
- Anacleto, L. R., Roberto, M. M., y Marin-Morales, M. A. (2017). Toxicological effects of the waste of the sugarcane industry, used as agricultural fertilizer, on the test system *Allium cepa*. *Chemosphere*, 173, 31–42. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.01.033>
- Atreya, K., Sitaula, B. K., Johnsen, F. H., y Bajracharya, R. M. (2011). Continuing Issues in the Limitations of Pesticide Use in Developing Countries. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 24(1), 49–62. <https://doi.org/10.1007/S10806-010-9243-9/TABLES/2>
- Bautista, F., Palacio-Aponte, G., Quintana, P., y Zinck, J. A. (2011). Spatial distribution and development of soils in tropical karst areas from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Geomorphology*, 135(3–4), 308–321. <https://doi.org/10.1016/J.GEOMORPH.2011.02.014>
- Bhat, S. A., Singh, J., y Vig, A. P. (2018). Vermiremediation and detoxification of sugar beet pulp waste using *Allium cepa* bioassay. *Energy, Ecology and Environment*, 3(4), 242–249. <https://doi.org/10.1007/S40974-018-0096-9/METRICS>
- Biswas, S., y Ghosh, B. (2014). Chrysene. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 959–962. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00286-4>

- Castro, R., Ramírez, V., y Cuenca, P. (2004). Micronúcleos y otras anormalidades nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical*, 52(3), 611–621. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442004000300023&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442004000300023&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Chen, G. (2014). Methoxychlor. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 254–255. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00162-7>
- Chowdhary, P., Singh, A., Chandra, R., Kumar, P. S., Raj, A., y Bharagava, R. N. (2022). Detection and identification of hazardous organic pollutants from distillery wastewater by GC-MS analysis and its phytotoxicity and genotoxicity evaluation by using *Allium cepa* and *Cicer arietinum* L. *Chemosphere*, 297, 134123. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134123>
- Coke, J. G. (2019). Underwater Caves of the Yucatan Peninsula. En *Encyclopedia of Caves* (pp. 1089–1095). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814124-3.00127-8>
- Crayol, E., Huneau, F., Garel, E., Mattei, A., Santoni, S., Pasqualini, V., y Re, V. (2023). Socio-hydrogeological survey and assessment of organic pollutants to highlight and trace back pollution fluxes threatening a coastal groundwater-dependent ecosystem. *Science of The Total Environment*, 898, 165343. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.165343>
- (Dizdari), A. M., y Kopliku, D. (2013). Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. *Procedia Technology*, 8, 19–26. <https://doi.org/10.1016/J.PROTCY.2013.11.005>
- Ebrahimzadeh, G., Nodehi, R. N., Alimohammadi, M., Rezaei Kahkah, M. R., y Mahvi, A. H. (2021). Monitoring of caffeine concentration in infused tea, human urine, domestic wastewater and different water resources in southeast of Iran- caffeine an alternative indicator for contamination of human origin. *Journal of Environmental Management*, 283, 111971. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.111971>

- Edwards, Q. A., Kulikov, S. M., y Garner-O'Neale, L. D. (2015). Caffeine in surface and wastewaters in Barbados, West Indies. *SpringerPlus*, 4(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S40064-015-0809-X/FIGURES/6>
- Emam, A. N., Girgis, E., Khalil, W. K. B., y Mohamed, M. B. (2014). Toxicity of Plasmonic Nanomaterials and Their Hybrid Nanocomposites. *Advances in Molecular Toxicology*, 8, 173–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63406-1.00005-2>
- Escolero, O. A., Marin, L. E., Steinich, B., y Pacheco, J. (2000). Delimitation of a hydrogeological reserve for a city within a karstic aquifer: the Merida, Yucatan example. *Landscape and Urban Planning*, 51(1), 53–62. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00096-7](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00096-7)
- Estrada-Medina, H., Jiménez-Osornio, J. J., Álvarez-Rivera, O., y Barrientos-Medina, R. C. (2019). El karst de Yucatán: su origen, morfología y biología. *Acta Universitaria*, 29, 2292. <http://doi.org/10.15174.au.2019.2292>
- Fenech, M. (2006). Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600(1–2), 58–66. <https://doi.org/10.1016/J.MRFMMM.2006.05.028>
- Feretti, D., Zerbini, I., Ceretti, E., Villarini, M., Zani, C., Moretti, M., Fatigoni, C., Orizio, G., Donato, F., y Monarca, S. (2008). Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests. *Water Research*, 42(15), 4075–4082. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.018>
- Gad, S. C., y Gad, S. E. (2023). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00917-9>
- Ghosh, P., y Mukherji, S. (2021). Environmental contamination by heterocyclic Polynuclear aromatic hydrocarbons and their microbial degradation. *Bioresource Technology*, 341, 125860. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125860>

- Gini, G., Franchi, A. M., Manganaro, A., Golbamaki, A., y Benfenati, E. (2014). ToxRead: A tool to assist in read across and its use to assess mutagenicity of chemicals. *http://dx.doi.org/10.1080/1062936X.2014.976267*, 25(12), 999–1011. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2014.976267>
- Grant, W. F. (1982). Chromosome aberration assays in allium: A report of the U.S. environmental protection agency gene-tox program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 99(3), 273–291. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(82\)90046-X](https://doi.org/10.1016/0165-1110(82)90046-X)
- Gutiérrez, J. M., da Conceição, M. B., Molisani, M. M., y Weber, L. I. (2018). Genotoxicity Biomonitoring Along a Coastal Zone Under Influence of Offshore Petroleum Exploration (Southeastern Brazil). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(3), 338–343. <https://doi.org/10.1007/S00128-018-2276-X/FIGURES/3>
- He, F., Li, X., Huo, C., Chu, S., Cui, Z., Li, Y., Wan, J., y Liu, R. (2022). Evaluation of fluorene-caused ecotoxicological responses and the mechanism underlying its toxicity in *Eisenia fetida*: Multi-level analysis of biological organization. *Journal of Hazardous Materials*, 437, 129342. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2022.129342>
- He, F., Wan, J., Chu, S., Li, X., Zong, W., y Liu, R. (2022). Toxic mechanism on phenanthrene-triggered cell apoptosis, genotoxicity, immunotoxicity and activity changes of immunity protein in *Eisenia fetida*: Combined analysis at cellular and molecular levels. *Science of The Total Environment*, 819, 153167. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.153167>
- Hernandez, I. C., Hernandez, I. C., González, N. M., Carmenates, G. F., Torres, S. F., y Blanco, D. P. (2015). Citotoxicidad in vitro y potencialidades de los compuestos quinoides como agentes antitumorales. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(1). <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/346>
- Herrero, O., Pérez Martín, J. M., Fernández Freire, P., Carvajal López, L., Peropadre, A., y Hazen, M. J. (2012). Toxicological evaluation of three contaminants of

- emerging concern by use of the *Allium cepa* test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 743(1–2), 20–24. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2011.12.028>
- Hidalgo, A., González-Reyes, J. A., Navas, P., y García-Herdugo, G. (1989). Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham. *Cytobios*, 57(228), 7–14.
- Hilleshø, A. L., Landskrona, S. F., y Blakeslee, A. (1938). THE EFFECT OF COLCHICINE ON ROOT MITOSES IN ALLIUM. *Hereditas*, 24(4), 471–486. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5223.1938.TB03221.X>
- Hoshina, M. M., y Marin-Morales, M. A. (2009). Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(8), 2090–2095. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2009.07.002>
- Igwe, O. U., Nnaji, J. C., Izunwa, M. A., y Friday, C. (2022). Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Heavy Metals in Two Leafy Vegetables Grown in Aba Metropolis. *Polycyclic Aromatic Compounds*. <https://doi.org/10.1080/10406638.2021.1996408>
- INEGI. (2006). *Conjunto de datos vectoriales escala 1:1000000. Precipitación media anual*.
- INEGI. (2008). *Conjunto de datos vectoriales escala 1:1000000. Unidades climáticas*.
- INEGI. (2022). *Conjunto de datos vectoriales escala 1:250000. División Política Estatal*.
- International Agency for Research on Cancer [IARC]. (2023). *IARC MONOGRAPHS ON THE IDENTIFICATION OF CARCINOGENIC HAZARDS TO HUMANS*, <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>.
- Jayaraj, R., Megha, P., y Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3–4), 90. <https://doi.org/10.1515/INTOX-2016-0012>

- Jayawardena, U. A., Wickramasinghe, D. D., y Udagama, P. v. (2021). Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban wetland: Micronucleus and comet induction in the Indian green frog (*Euphlyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay. *Chemosphere*, 277, 130278. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.130278>
- Khan, S., Anas, M., y Malik, A. (2019). Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. *Toxicology Reports*, 6, 193–201. <https://doi.org/10.1016/J.TOXREP.2019.02.002>
- Kuk-Dzul, J. G., Gold-Bouchot, G., y Ardisson, P. L. (2012). Benthic infauna variability in relation to environmental factors and organic pollutants in tropical coastal lagoons from the northern Yucatan Peninsula. *Marine Pollution Bulletin*, 64(12), 2725–2733. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2012.09.022>
- Kumari, M., Khan, S. S., Pakrashi, S., Mukherjee, A., y Chandrasekaran, N. (2011). Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1–3), 613–621. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2011.03.095>
- Laís Eckert, G., Smaniotto, A., Dartora, N., Garlet De Pelegrin, C. M., y Baroni, S. (2022). The chemical composition of different leaf extracts of *Lantana fucata* Lindl. influences its cytotoxic potential: A study using the *Allium cepa* model. *Journal of Ethnopharmacology*, 289, 115003. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115003>
- Lamas Cosío, E., Ocegüera Vargas, I., Sosa, A., Vadillo Pérez, I., y Árcega Cabrera, F. (2021). La península de Yucatán, una región entre dos mundos: superficial y subterráneo. En F. Árcega Cabrera, P. Robledo Ardila, G. Rodríguez Fuentes, & J. Durán Valsero (Eds.), *Los ojos de Yucatán, una ventana al mundo subterráneo* (1a ed., Vol. 1, pp. 21–36). UNAM.
- Leme, D. M., y Marin-Morales, M. A. (2008). Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—A case study. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 650(1), 80–86. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2007.10.006>

- LEVAN, A. (1938). THE EFFECT OF COLCHICINE ON ROOT MITOSES IN ALLIUM. *Hereditas*, 24(4), 471–486. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5223.1938.TB03221.X>
- Li, H., Yuan, L., Wang, Z., Shi, L., Dong, R., y Hu, X. (2022). Effects of dietary whole grain buckwheat and oat on benzo[a]pyrene-induced genotoxicity, oxidative and pyroptotic injury in liver of mice. *Journal of Functional Foods*, 93, 105082. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2022.105082>
- Long, D. T., Pearson, A. L., Voice, T. C., Polanco-Rodríguez, A. G., Sanchez-Rodríguez, E. C., Xagorarakí, I., Concha-Valdez, F. G., Puc-Franco, M., Lopez-Cetz, R., y Rzotkiewicz, A. T. (2018). Influence of rainy season and land use on drinking water quality in a karst landscape, State of Yucatán, Mexico. *Applied Geochemistry*, 98, 265–277. <https://doi.org/10.1016/J.APGEOCHEM.2018.09.020>
- López-Macias, R., Cobos-Gasca, V., Cabañas-Vargas, D., y Rendón von Osten, J. (2019). Presence and Spatial Distribution of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Groundwater of Merida City, Yucatan, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(4), 538–543. <https://doi.org/10.1007/S00128-019-02580-7/FIGURES/3>
- Lyu, J., Park, J., Kumar Pandey, L., Choi, S., Lee, H., De Saeger, J., Depuydt, S., y Han, T. (2018). Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 225–232. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2017.11.006>
- Maity, S., Chatterjee, A., Guchhait, R., De, S., y Pramanick, K. (2020). Cytogenotoxic potential of a hazardous material, polystyrene microparticles on *Allium cepa* L. *Journal of Hazardous Materials*, 385, 121560. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2019.121560>
- Mehlhorn, P., Humphries, M., Gensel, J., Buah-Kwofie, A., Tyohemba, R. L., y Haberzettl, T. (2022). Organochlorine pesticide contamination in sediments from Richards Bay, South Africa: spatial trends and ecotoxicological risks. *Environmental Science and Pollution Research* 2022, 1–13. <https://doi.org/10.1007/S11356-022-22298-0>

- Metcalfe, C. D., Beddows, P. A., Bouchot, G. G., Metcalfe, T. L., Li, H., y Van Lavieren, H. (2011). Contaminants in the coastal karst aquifer system along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Environmental Pollution*, 159(4), 991–997. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2010.11.031>
- Naccari, C., Cristani, M., Giofrè, F., Ferrante, M., Siracusa, L., y Trombetta, D. (2011). PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Research International*, 44(3), 716–724. [https://www.academia.edu/29435419/PAHs\\_concentration\\_in\\_heat\\_treated\\_milk\\_samples](https://www.academia.edu/29435419/PAHs_concentration_in_heat_treated_milk_samples)
- Ortiz-García, R. G., Gómez-Meda, B. C., Gutiérrez-Sevilla, J. E., Gallegos-Arreola, M. P., Zamora-Perez, A. L., Ortiz-García, Y. M., García-Arias, V. E., Torres-Mendoza, B. M., y Zúñiga-González, G. M. (2023). Micronuclei and nuclear buds in amniotic tissue of rats treated with cyclophosphamide. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 890, 503659. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2023.503659>
- Ortiz-Salinas, R., Cram, S., y Sommer, I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Universidad y ciencia*, 28(2), 131–144. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-29792012000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792012000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Perry, E., Marin, L., McClain, J., y Velazquez, G. (1995). Ring of Cenotes (sinkholes), northwest Yucatan, Mexico: Its hydrogeologic characteristics and possible association with the Chicxulub impact crater. *Geology*, 23(1), 17–20. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1995\)023<0017:ROCSNY>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1995)023<0017:ROCSNY>2.3.CO;2)
- Polanco Rodríguez, A. G., Alberto, J. A. N., Sánchez, J. S., Rejón, G. J. M., Gómez, J. M., y del Valls Casillas, T. A. (2015). Contamination by organochlorine pesticides in the aquifer of the Ring of Cenotes in Yucatán, México. *Water and Environment Journal*, 29(1), 140–150. <https://doi.org/10.1111/WEJ.12080>

- Ramsinghani, S. (2022). Dibenz[a,h]anthracene. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00368-7>
- Robles, H. (2014). Naphthalene. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 437–439. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00520-0>
- Rocha, H., Cardona, A., Graniel, E., Alfaro, C., Castro, J., Rde, T., Herrera, E., Heise, L., Rocha, H., Cardona, A., Graniel, E., Alfaro, C., Castro, J., Rde, T., Herrera, E., y Heise, L. (2015). Interfases de agua dulce y agua salobre en la región Mérida-Progreso, Yucatán. *Tecnología y ciencias del agua*, 6(6), 89–112. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-24222015000600089&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222015000600089&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Rodríguez, A. G. P., López, M. I. R., Casillas, . D. V., León, J. A. A., y Banik, S. D. (2018). Impact of pesticides in karst groundwater. Review of recent trends in Yucatan, Mexico. *Groundwater for Sustainable Development*, 7, 20–29. <https://doi.org/10.1016/J.GSD.2018.02.003>
- Rodríguez, Y. A., Christofolletti, C. A., Pedro, J., Bueno, O. C., Malaspina, O., Ferreira, R. A. C., y Fontanetti, C. S. (2015). Allium cepa and Tradescantia pallida bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. *Chemosphere*, 120, 438–442. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.022>
- Sánchez y Pinto, I. & G. H. R. (2021). Las singularidades hidrogeológicas e hidrodinámicas del acfero yucateco. En F. rcega, P. Robledo, G. Rodríguez, & J. Durán (Eds.), *Los Ojos de Yucatán, una ventana al mundo subterráneo* (1a ed., pp. 75–112). UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
- Shabbir, M., Singh, M., Maiti, S., y Saha, S. K. (2021a). Organophosphate pesticide (Chlorpyrifos): Environmental menace; study reveals genotoxicity on plant and animal cells. *Environmental Challenges*, 5, 100313. <https://doi.org/10.1016/J.ENVC.2021.100313>
- Shabbir, M., Singh, M., Maiti, S., y Saha, S. K. (2021b). Organophosphate pesticide (Chlorpyrifos): Environmental menace; study reveals genotoxicity on plant and

animal cells. *Environmental Challenges*, 5, 100313.  
<https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100313>

Sierra-Cortés, J. C., Vega y León, S., Gutiérrez-Tolentino, R., Ortis-Salinas, R., Pérez-González, J. J., Escobar-Medina, A. C., Sierra-Cortés, J. C., Vega y León, S., Gutiérrez-Tolentino, R., Ortis-Salinas, R., Pérez-González, J. J., y Escobar-Medina, A. C. (2019). PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN AGUA DE LA LAGUNA NEGRA DE PUERTO MARQUÉS, ACAPULCO, GUERRERO, MÉXICO. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(2), 397–406.  
<https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.02.11>

Soldi, K. C., Londero, J. E. L., Schavinski, C. R., y Schuch, A. P. (2023). Genotoxicity of surface waters in Brazil. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 888, 503638. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2023.503638>

Souza, P. M. S., Corroqué, N. A., Morales, A. R., Marin-Morales, M. A., y Mei, L. H. I. (2013). PLA and Organoclays Nanocomposites: Degradation Process and Evaluation of ecotoxicity Using *Allium cepa* as Test Organism. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(4), 1052–1063. <https://doi.org/10.1007/s10924-013-0604-0>

Suárez-Morales, E., y Rivera-Arriaga, E. (1998). Hidrología y Fauna Acuática de los Cenotes de la Península de Yucatán\* Hydrology and aquaticfauna ofthe cenotes ofthe Peninsula ofYucatan. *Rev. Soco Mex. Hisl. Nat*, 48, 37–47.

Teresa, M., Restrepo, E., Patricia, M., Hurtado, R., Luz, M., Camacho, B., Araque, Á., Melba, G., Osorio, V., Manuel, J., Camargo, L., y Bogotá, D. C. (2006). “Por el control del cáncer” DE LOS GRUPOS 1 Y 2A DE LA IARC, DE INTERÉS OCUPACIONAL PARA COLOMBIA.

United States Environmental Protection Agency. (2022). *Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR) Predictive Model (Ecosar 2.2)*. USEPA.

Uribe-Hernández, R., y Pérez-Zapata, A. J. (2005). Inducción de la fragmentación del DNA por Antraceno y Benzo(a)Pireno en leucocitos polimorfonucleares humanos in

vitro. *Interciencia*, 30(7), 419–423.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442005000700007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000700007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Valenzuela Sánchez IS, Gold-Boutchot G, y Ceja Moreno V. (2005). Hidrocarburos en Agua y Sedimentos de la Laguna de Chelem y Puerto Progreso, Yucatán, México. En Botello AV, Rojas-Galaviz JL, Benítez JA, & Zárata-Lomelí D (Eds.), *Golfo de México, Contaminación e Impacto ambiental: Diagnóstico y Tendencias: Vol. Serie Científica 5* (2a ed., pp. 311–328). Centro EPOMEX Universidad Autónoma de Campeche.

Villar Navarro, M. del P. (2005). *DETERMINACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN EL TRATAMIENTO DE LODOS DE EDARs* [Tesis doctoral]. Universidad de Sevilla.

Wang, X., Zhang, Z., Zhang, R., Huang, W., Dou, W., You, J., Jiao, H., Sun, A., Chen, J., Shi, X., y Zheng, D. (2022). Occurrence, source, and ecological risk assessment of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in the water–sediment system of Hangzhou Bay and East China Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 179, 113735. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2022.113735>

Wessel, N., Ménard, D., Pichavant-Rafini, K., Ollivier, H., Le Goff, J., Burgeot, T., y Akcha, F. (2012). Genotoxic and enzymatic effects of fluoranthene in microsomes and freshly isolated hepatocytes from sole (*Solea solea*). *Aquatic Toxicology*, 108, 33–41. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2011.09.024>

Whitall, D., Curtis, M., y Mason, A. (2021). Use of sucralose and caffeine as tracers of human waste in a coral reef ecosystem. *Regional Studies in Marine Science*, 44, 101740. <https://doi.org/10.1016/J.RSMA.2021.101740>

Wong, F., Alegria, H. A., y Bidleman, T. F. (2010). Organochlorine pesticides in soils of Mexico and the potential for soil-air exchange. *Environmental Pollution*, 158(3), 749–755. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2009.10.013>

- Wong, F., Alegria, H. A., Bidleman, T. F., Alvarado, V., Angeles, F., Galarza, A. A., Bandala, E. R., de La Hinojosa, I. C., Estrada, I. G., Reyes, G. G., Gold-Bouchot, G., Zamora, J. V. M. Í., Murguía-GONZÁLEZ, J., y Espinoza, E. R. (2009). Passive air sampling of organochlorine pesticides in Mexico. *Environmental Science and Technology*, 43(3), 704–710. [https://doi.org/10.1021/ES802385J/SUPPL\\_FILE/ES802385J\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ES802385J/SUPPL_FILE/ES802385J_SI_001.PDF)
- Zamora, A., Ramos, J., y Arias, M. (2012). Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana. *Bioagro*, 24(1), 5–12. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612012000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612012000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Zeyad, M. T., Kumar, M., y Malik, A. (2019). *Mutagenicity, genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide industry wastewater using bacterial and plant bioassays*. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00389>
- Zhang, A.-A., Sutar, P. P., Bian, Q., Fang, X.-M., Ni, J.-B., y Xiao, H.-W. (2022). Pesticide residue elimination for fruits and vegetables: the mechanisms, applications, and future trends of thermal and non-thermal technologies. *Journal of Future Foods*, 2(3), 223–240. <https://doi.org/10.1016/J.JFUTFO.2022.06.004>
- Zhang, J., Wang, K., Guo, J., Huang, Y., Wei, Y., Jia, K., Peng, Y., y Lu, H. (2023). Study on the mechanism of liver toxicity induced by acenaphthene in zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249, 114441. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2022.114441>