



Aplicación de Dos Microbioensayos para Evaluar la Contaminación Presente en las Cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

GABRIEL PINEDA-FLORES,* TANIA HERNÁNDEZ, MARÍA DEL CARMEN CRUZ Y TEODORO GUTIÉRREZ-CASTREJÓN

Laboratorio de Ecología Microbiana, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN, Apartado postal CON-174, México D. F. 06400, México.

*Autor para la correspondencia: E-mail:pinedafg@pecel.encb.ipn.mx

ABSTRACT. Pollution due to urban-agricultural and urban-industrial activities, on the enzymatic activity of two microorganisms was evaluated. The zones under study are located in the Caltongo "embarcadero", in Xochimilco, D. F., and the basin of Lerma-Santiago river, State of Mexico. Nine and ten stations were established, respectively. Samples of water and sediment were taken, in order to determine their pH, salinity, organic matter, as well as the toxic effect produced on *Escherichia coli* β -galactosidase activity and on *Bacillus cereus* hidrogenase activity. Fecal coliforms and anionic detergents were quantified on the water samples. A correlation analysis was applied to results of chemical variables and microbiotest performed. In Xochimilco were found six stations over 50% of inhibition of the enzymatic activities evaluated, in Lerma-Santiago were only four stations. The correlation coefficient found was between -0.95 and 0.53 . In general, the zones under study showed a pollution degree and toxic effect moderate, as well as a minimum correlation between chemical variables and the response of microorganisms used as indicators.

Key Words: Microbioassays, Contamination, Xochimilco, Lerma.

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar la contaminación ocasionada por actividades urbano-agrícolas y urbano-industriales, sobre la actividad enzimática de diversos microorganismos. Las zonas de estudio se situaron en el embarcadero de Caltongo, Xochimilco D.F. y la cuenca Lerma-Santiago, Estado de México. Se establecieron nueve y diez estaciones respectivamente. Se obtuvieron muestras de agua y sedimento, a las cuales se les determinó pH, salinidad, materia orgánica, así como el efecto de inhibición producido sobre la actividad β -galactosidasa de *Escherichia coli* y sobre la actividad deshidrogenasa de *Bacillus cereus*. A las muestras de agua se les cuantificaron organismos coliformes fecales y compuestos tensoactivos aniónicos. Se aplicó un análisis de correlación entre los resultados de las variables químicas y los microbioensayos aplicados. En Xochimilco se presentaron seis estaciones con más del 50% de inhibición de las actividades enzimáticas evaluadas, en comparación con la cuenca Lerma-Santiago donde solo fueron cuatro estaciones. El coeficiente de correlación obtenido fue entre -0.95 y 0.53 . De manera general, las zonas estudiadas presentan un grado de contaminación y efecto tóxico moderados, así como una mínima correlación entre variables químicas y respuesta de los microorganismos empleados como indicadores.

Palabras Clave: Microbioensayos, Contaminación, Xochimilco, Lerma.

INTRODUCCIÓN

El uso de los ecosistemas acuáticos está determinado por la magnitud de la contaminación que presenten, ésta puede deberse a descargas de efluentes industriales y municipales, los cuales pueden contener una gran cantidad de elementos potencialmente tóxicos como plaguicidas, residuos de fertilizantes,² hidrocarburos,¹⁰ detergentes,¹⁷ microorganismos patógenos,²¹ como los coliformes fecales y metales pesados.²² El lago de Xochimilco y la cuenca Lerma-Santiago son cuerpos de agua que reciben este tipo de

compuestos, ocasionando su deterioro y la disminución de su aprovechamiento. En el caso del lago de Xochimilco, se determinó que en 1985 recibió 2500 m^3 de aguas residuales sin tratar,⁸ además se han detectado detergentes y metales pesados como cadmio, zinc y cobre en el agua de los canales.^{1,9,24} Con relación a la cuenca Lerma-Santiago, se ha determinado la presencia de metales pesados como berilio, mercurio, plomo, cromo y níquel en agua y sedimento.¹¹ Esta cuenca contaba con 14 plantas de tratamiento de aguas residuales en 1994,²⁶ sin embargo debido al crecimiento de la zona industrial que se ubica en los alrededores



del sistema hidrológico, es probable que actualmente esta medida sea insuficiente para el control de la contaminación.

Ambas cuencas son de gran importancia debido a las actividades agrícola-industriales o turísticas que en ellas se desarrollan y por su aprovechamiento del agua, esto hace necesario la evaluación de la calidad de este recurso, así como conocer su posible efecto tóxico para evitar que se afecte la salud de las personas consumidoras y el deterioro de los cultivos.

En relación con lo anterior, las técnicas que aplican microorganismos como algas unicelulares y protozoarios^{18, 20, 25} para determinar la toxicidad de efluentes, representan una importante herramienta ecotoxicológica para estimar la contaminación del ambiente,^{7,14} sin embargo el empleo de bacterias como organismos blanco constituye una alternativa en la realización de este tipo de pruebas,⁵ ya que éstas últimas resultan económicas, rápidas y reproducibles.¹⁴

El objetivo del presente estudio es determinar la calidad del agua y sedimento de diferentes estaciones del lago de Xochimilco y la cuenca Lerma-Santiago, con relación a la presencia de microorganismos coliformes y detergentes, así como evaluar su posible efecto tóxico aplicando dos microbiensayos, los cuales constituyen modelos bacterianos rápidos, sensibles y económicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El número y designación de las estaciones de muestreo en ambas cuencas, se indica en la tabla 1.

Para obtener las muestras de agua se utilizaron frascos de vidrio de 500 ml, de boca ancha con tapón de plástico, lavados, enjuagados con agua destilada y esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 min. Para los sedimentos se emplearon bolsas de plástico nuevas de 30 x 40 cm. La

toma de muestras de agua consistió en sumergir el frasco en cada estación, a una profundidad aproximada de 50 cm, se permitió el llenado completo de éste y se cerró antes de sacarlo del agua. Para los sedimentos se empleó una draga metálica, con la cual se extrajo aproximadamente 1 kg en cada estación, se colocaron en las bolsas de plástico. Todas las muestras se transportaron en un recipiente con hielo hasta llegar al laboratorio, en donde se mantuvieron a 4°C hasta ser procesadas, en un lapso no mayor de 32 h.

Los análisis de laboratorio consistieron en la cuantificación de las variables químicas pH, salinidad y materia orgánica, determinación de coliformes fecales y detergentes aniónicos (estos dos últimos en agua exclusivamente) y la evaluación de la toxicidad de agua y sedimento aplicando los microbiensayos inhibición de la actividad β -galactosidasa de *Escherichia coli* K12OR85 y la actividad deshidrogenasa de *Bacillus cereus* ATCC 0401.

El pH se midió empleando un potenciómetro Perkin-Elmer y la salinidad utilizando un salinómetro Orión, utilizando un volumen de muestra suficiente para cubrir el electrodo respectivo. La materia orgánica se cuantificó por la técnica de Walkey-Black.²⁸

Los coliformes fecales se determinaron por la técnica de número más probable (NMP),⁴ empleando caldo lactosado y caldo EC para las pruebas presuntiva y confirmativa respectivamente.

Los detergentes aniónicos se cuantificaron por la técnica de las sustancias activas al azul de metileno (SAAM).³

Para realizar los microbiensayos, las muestras de agua se esterilizaron por filtración en membranas Millipore (0.22 μ m) y fueron colocadas en recipientes estériles. Para los sedimentos se realizaron extracciones con dimetilsulfóxido (DMS) al 10%, en una relación 1:1 (p/v), para lo cual se emplearon tubos de centrifuga en donde se colocó la muestra de sedimento y el DMS, se agitó manualmente durante dos min y se centrifugó a 12,000 x g durante diez min en refrigeración. El sobrenadante se esterilizó de la

Tabla 1. Clave de las estaciones de las cuencas estudiadas

Estación	Cuenca	
	Xochimilco	Lerma-Santiago
1	Nuevo león	Atenco
2	Embarcadero Caltongo	Río lerma (autopista)
3	Plazuela San Cristobal	Efluente EPPCA
4	La gloria	Influente EPPCA
5	Puente Xilopa/Nvo. León	Efluente EPPCA (500 m río abajo)
6	Tiras de zacapa	Río lerma colonia Guadalupe Victoria
7	Caltongo	Río sin nombre
8	San Cristobal/Nvo. León	Río lerma- río sin nombre
9	Caltongo (María Candelaria)	Puente Temoaya
10	N.E.	Arroyo Temoaya



mismá manera que las muestras de agua.

La evaluación de la inhibición de la actividad β -galactosidasa se realizó en tubos de ensaye estériles de 16 x 150 mm, los cuales contenían 0.5 ml de medio Luria,¹⁹ más 0.5 ml de un cultivo de *E. coli* K12OR85 (ajustado a $DO_{600} = 0.25$ en medio Luria líquido). Los tubos se incubaron a 37°C durante 30 min en la oscuridad, posteriormente se agregaron 0.5 ml de agua destilada estéril más 0.5 ml de muestra problema (agua o extracto de sedimento), y se incubaron durante dos horas bajo las mismas condiciones. Al finalizar este tiempo se agregó 1 ml de Ortonitrofenil β -D tiogalactopiranosido (ONPG, Sigma) y se incubaron por 30 min más en condiciones similares. A continuación se agregaron 2 ml de Na_2CO_3 1 M y el contenido de cada tubo se leyó en un espectrofotómetro a 420 y 550 nm, ajustado con medio Luria estéril. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:¹⁴

$$\% I_{\beta\text{-gal}} = 1000 \times [(A_{420} - 1.75 A_{550}) / (0.25t \times V)]$$

En donde:

% $I_{\beta\text{-gal}}$: Porcentaje de inhibición de la actividad β -galactosidasa.

A_{420} y A_{550} : Absorbancia del contenido del tubo a 420 y 550 nm.

t: tiempo de reacción entre el ONPG y las células de *E. coli* K12OR85

v: volumen de medio de cultivo empleado.

Para evaluar la inhibición de la actividad deshidrogenasa se utilizaron tres tubos de ensaye de 16 x 150 mm por muestra problema, los cuales se rotularon con las letras A, B y C. El tubo A (testigo de reactivos) contenía 4 ml de medio de crecimiento (MC) (composición g/l: glucosa 0.2, acetato de sodio 0.2, caldo nutritivo 1.6, KH_2PO_4 1.64, K_2HPO_4 2.64), más 1 ml de Cloruro de Trifenil Tetrazolium al 1% (CTT-1%, Sigma). Los tubos B (testigo de células) y C contenían 2.75 ml de MC, 1 ml de CTT-1% y 1 ml de cultivo de *B. cereus* (ajustado a una $DO_{625} = 0.65$ en MC), sólo el tubo C contenía 0.25 ml de la muestra problema (agua o extracto de sedimento). Los tubos se incubaron a 37°C durante una hora en la oscuridad, posteriormente se adicionó 1 ml de regulador biftalato de potasio-HCl 6 N y se mantuvieron en reposo diez min. A continuación se centrifugó el contenido de cada tubo a 1,000 rpm durante cinco min, se recuperó el sobrenadante y se leyó en un espectrofotómetro a 480 nm, ajustado con MC estéril. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:¹⁴

$$\% I = [(A-B) - (A-C) / (A-B)] \times 100$$

En donde:

% I: Porcentaje de inhibición de la actividad deshidrogenasa de *B. cereus*.

A, B y C: Absorbancia del sobrenadante de los tubos A, B y C respectivamente.

Se realizó un análisis de correlación entre los resultados de los microbioensayos de toxicidad y las variables químicas evaluadas, con la finalidad de establecer la intensidad de relación entre éstas y la respuesta de los microorganismos empleados. El modelo aplicado fue el siguiente:²⁷

$$r = \Sigma (X - X_p)(Y - Y_p) / \sqrt{\Sigma(X - X_p)^2 \Sigma(Y - Y_p)^2}$$

En donde:

r: coeficiente de correlación

X: magnitud de la variable química

X_p : magnitud promedio de la variable química

Y: magnitud del microbioensayo

Y_p : magnitud promedio del microbioensayo

RESULTADOS

En las tablas 2 y 3 se presentan los valores de las variables químicas determinadas en las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago respectivamente. Para el agua de la primera cuenca el pH se encontró entre 7.1 y 7.3, para el sedimento fue entre 7 y 8.

En cuanto a la salinidad, para el agua fue entre 0.31 y 0.76‰, para los sedimentos entre 0.211 y 0.67‰. El contenido de materia orgánica en agua se presentó entre 0 y 1.08%, en sedimento fue entre 7.14 y 10.52%. En el caso de la cuenca Lerma-Santiago, el pH se encontró entre 7 y 7.8 y entre 6.4 y 7.1 para agua y sedimento respectivamente. La salinidad se detectó entre 0.04 y 1.75‰ para agua y entre 0.1 y 0.41‰ para los sedimentos.

El porcentaje de materia orgánica se encontró entre 0.06 y 1.53 y 7.08 y 11.9% para agua y sedimento respectivamente.

En la fig. 1 se muestran los resultados de coliformes fecales detectados en las dos cuencas estudiadas. En Xochimilco los valores oscilaron entre 43 y 1100 NMP/100 ml, mientras que en la cuenca Lerma-Santiago se presentaron valores entre 0 y 1100 NMP/100 ml.

La fig. 2 muestra la cantidad de detergentes aniónicos presentes en las diferentes estaciones. Se puede observar que los valores en Xochimilco fluctuaron entre 0 y 0.23 mg/l de SAAM, mientras que en la segunda cuenca fueron entre 0.08 y 1.8 mg/l de SAAM.

En las figuras 3 y 4 se observan los resultados de inhibición de la actividad β -galactosidasa de *E. coli* por agua y sedimento de ambas cuencas respectivamente. Para las muestras de agua de Xochimilco (fig.3), se puede notar que todas éstas producen inhibición de la enzima con valores que van desde 20 hasta 76%, mientras que en el caso de la cuenca Lerma-Santiago se alcanzó un valor máximo de 21%. Con relación al efecto de los sedimentos (fig.4), en el caso de Xochimilco se presentó de 2 hasta 65% de inhibición de la actividad β -galactosidasa. De manera comparativa, en la cuenca Lerma-Santiago solo se determinó de 20 a 40% de inhibición.



Tabla 2. Variables químicas de las estaciones de Xochimilco (diciembre de 1993)

Estación	Variable					
	pH		Salinidad (%)		Materia orgánica (%)	
	A	S	A	S	A	S
1	7.1	8.0	0.685	0.670	0	7.65
2	7.2	7.3	0.760	0.286	0	7.52
3	7.3	7.5	0.629	0.211	0.44	7.78
4	7.2	7.2	0.726	0.299	0.7	7.84
5	7.3	7.5	0.572	0.238	1.08	10.08
6	7.3	7.1	0.620	0.254	0	7.14
7	7.3	7.0	0.620	0.278	0.95	9.95
8	7.3	7.5	0.310	0.282	0.82	9.69
9	7.3	7.2	0.503	0.345	0.76	10.52

A: agua, S: sedimento

Tabla 3. Variables químicas de las estaciones de la cuenca Lerma Santiago (enero de 1994)

Estación	Variable					
	pH		Salinidad (%)		Materia orgánica (%)	
	A	S	A	S	A	S
1	7.2	7.0	0.352	0.417	0.13	7.08
2	7.0	6.4	0.367	0.197	0.19	8.42
3	7.5	-	1.757	-	0.51	-
4	7.3	-	1.744	-	0.06	-
5	7.6	-	0.857	-	0.06	-
6	7.1	7.1	0.682	0.265	1.53	8.48
7	7.3	6.6	0.097	0.105	1.27	11.99
8	7.8	-	0.044	-	0.82	-
9	7.8	7.0	0.470	0.19	1.02	7.3
10	7.5	6.5	0.460	0.152	0.25	7.08

A: agua, S: sedimento, -: No se determinó

Tabla 4. Coeficientes de correlación entre las variables químicas y los resultados de los microbioensayos.

Microbioensayo	Cuenca	Variable					
		pH		Salinidad		Materia orgánica	
		A	S	A	S	A	S
Act. β -galactosidasa	Xochimilco	-0.089	-0.062	-0.042	-0.82	0.005	0.25
Act. deshidrogenasa	Lerma-Santiago	0.018	-0.95	-0.14	-0.7	-0.14	0.41
Act. β -galactosidasa	Xochimilco	0.07	-0.45	0.105	-0.11	0.22	0.16
Act. deshidrogenasa	Lerma-Santiago	0.04	-	0.059	-	0.53	-

A: agua, S: sedimento, -: No se determinó

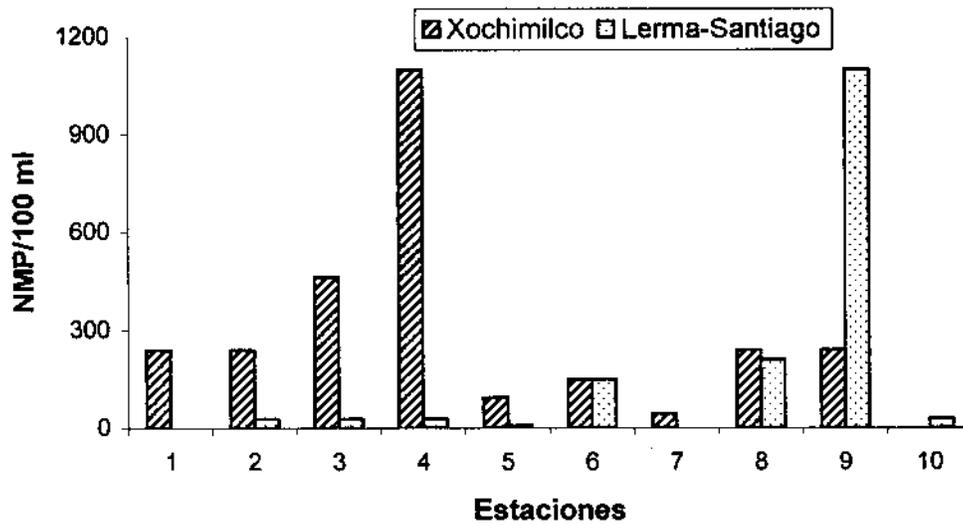


Fig.1. Concentración de coliformes fecales en agua de las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

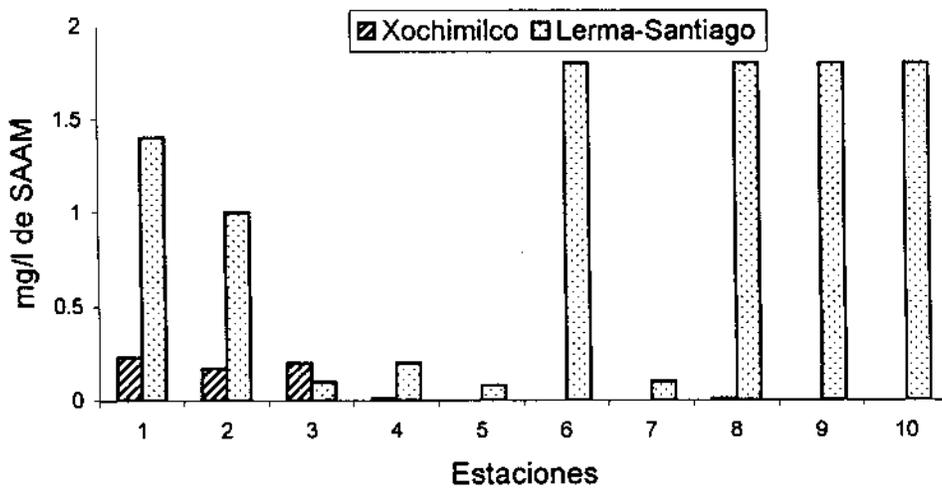


Fig.2. Concentración de detergentes aniónicos presentes en el agua de las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

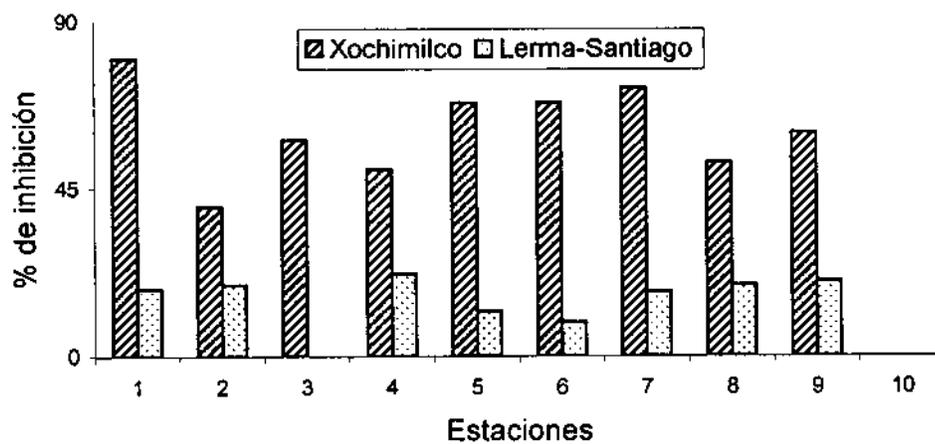


Fig.3. Inhibición de la actividad β -galactosidasa de Escherichia coli K12OR85 por agua de las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

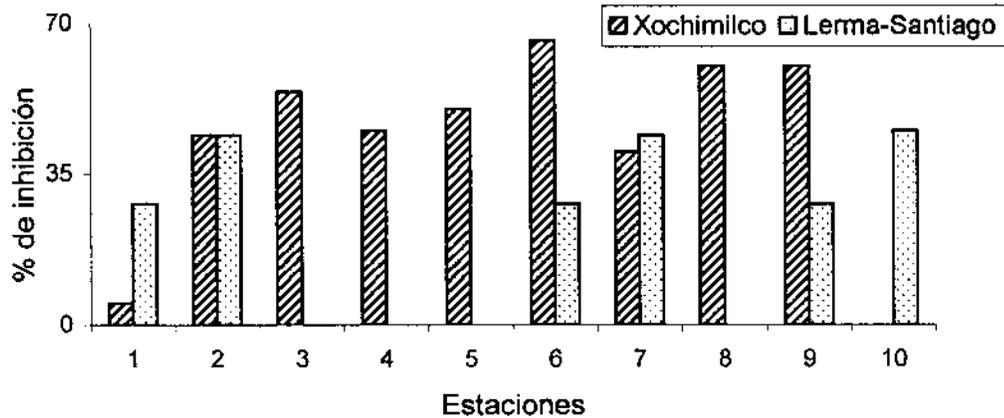


Fig.4. Inhibición de la actividad β -galactosidasa de *Escherichia coli* K12OR85 por extractos de sedimentos de las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

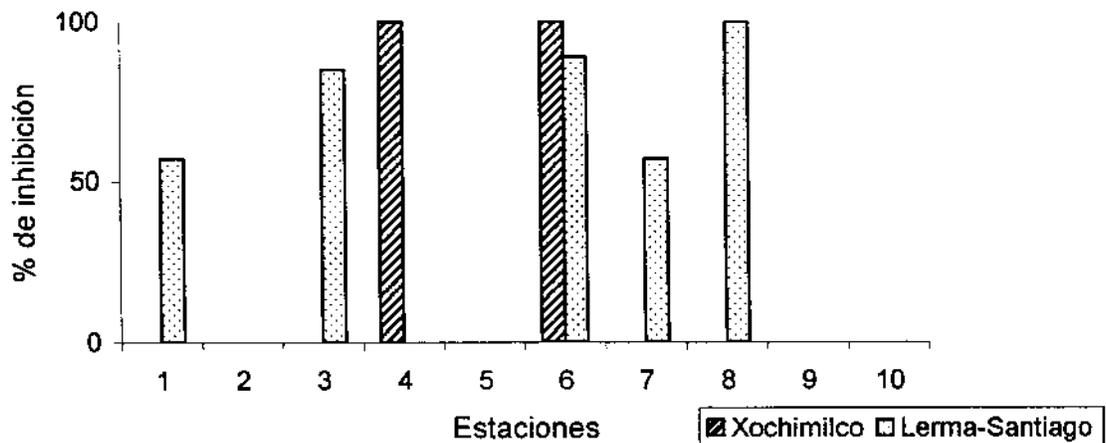


Fig.5. Inhibición de la actividad deshidrogenasa de *Bacillus cereus* ATCC 0401 por agua de las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago

En las figuras 5 y 6 se observan los resultados sobre la inhibición de la actividad deshidrogenasa de *B. cereus*, por agua y sedimento de las cuencas estudiadas. En el caso de las muestras de agua de Xochimilco (fig.5), se puede apreciar que dos estaciones producen 100% de inhibición de la actividad enzimática, mientras que en la cuenca Lerma-Santiago la máxima inhibición se presentó en una sola estación. Con relación a los sedimentos (fig.6), en Xochimilco el mayor efecto de inhibición se presentó en la estación 2 (40%) y el menor en la estación 9 (20%).

En la tabla 4 se presentan los resultados de correlación de las variables químicas y los resultados de los microbiensayos de ambas cuencas. Los coeficientes oscilaron entre -0.82 y 0.25 y de -0.95 y 0.53 para Xochimilco y Lerma-Santiago respectivamente.

DISCUSIÓN

Para determinar la calidad del agua de las estaciones de muestreo, se tomó como referencia la norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996,¹² en la cual se mencionan los límites máximos permitidos de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. De acuerdo a esta norma, el agua de la estación 4 de Xochimilco y la de la estación 9 del Lerma-Santiago rebasan el límite máximo promedio mensual permitido de coliformes fecales (1000 NMP/100 ml). En el caso de los detergentes aniónicos, cabe señalar que en las normas de protección ambiental vigentes (001 y 002 ECOL-1997), no se mencionan los límites máximos permitidos de estos com-

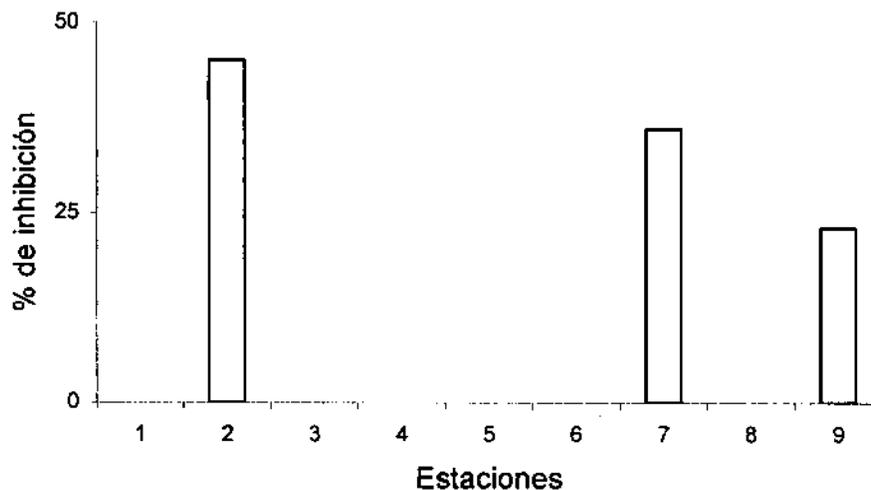


Fig. 6. Inhibición de la actividad deshidrogenasa de *Bacillus cereus* ATCC 0401 por extractos de sedimentos de la cuenca Xochimilco

puestos de manera específica, por tal motivo se consideró como valores de referencia del 0.01 al 0.1 mg/l de detergente aniónico, los cuales corresponden a las concentraciones promedio detectadas en diversos ríos.⁶ De acuerdo con lo anterior, el agua de las estaciones de la 1 a la 3 en Xochimilco y las estaciones 1, 2, 4, 6 y de la 8 a la 10 en la cuenca Lerma-Santiago, se encuentran por arriba de estos valores. La concentración de detergentes detectados en estas cuencas, se ha reportado que causan la inhibición del crecimiento de microalgas y cianobacterias, de acuerdo con una concentración inhibitoria-50 de 0.1 para estos microorganismos.¹⁶

Con relación a los resultados de los microbiensayos, la inhibición de la actividad de la β -galactosidasa por agua de Xochimilco, fue mayor en las estaciones que están más en contacto con las descargas de agua residual doméstica sin tratar, como son 1, 5, 6 y 7, las cuales presentan elementos que pueden inhibir la actividad enzimática del microorganismo en más de un 50%, como detergentes¹⁸ y metales pesados.²⁰ Para el caso del agua del Lerma-Santiago, la máxima inhibición se presentó en la estación 3, la cual corresponde a un sitio que recibe una descarga de una planta de tratamiento de aguas residuales.

En el caso de los sedimentos, se observa que las estaciones de Xochimilco que producen el mayor efecto de inhibición de la actividad de la β -galactosidasa, corresponden a aquellas determinadas en el caso del agua, esto debido a las características de solubilidad de los compuestos presentes y a la intensidad de mezcla en el ecosistema, lo cual permite que en los sedimentos se concentren compuestos de tipo orgánico, como plaguicidas e hidrocarburos.²⁰ En los sedimentos de las estaciones del Lerma-Santiago no se determinó un efecto de inhibición mayor del 50% sobre la actividad enzimática evaluada (fig.4).

Con relación a la inhibición de la actividad deshidrogenasa por agua de las cuencas estudiadas, se observó que dos estaciones de Xochimilco (4 y 6) producen 100% de inhibición (fig. 5) y éstas corresponden a aquellas con una alta descarga de agua residual doméstica sin tratar, además, son las mismas estaciones en las que se ocasiona un porcentaje de inhibición considerable de la actividad β -galactosidasa (fig. 3). El agua de la cuenca Lerma-Santiago al parecer, produce un efecto de inhibición sobre la actividad deshidrogenasa más notable que en el caso de Xochimilco (fig. 5), ya que cinco estaciones producen más del 50% de inhibición de la actividad enzimática.

En el caso de los sedimentos (fig. 6), es importante señalar que estos no producen un efecto considerable de inhibición de la actividad deshidrogenasa mayor al 50%, en ninguna de las dos cuencas estudiadas, y específicamente en el caso de la cuenca Lerma-Santiago no se presentó ninguna inhibición, por tal motivo no se incluyeron estos resultados en la figura 6.

El análisis de correlación entre las variables químicas y los microbiensayos muestra valores muy bajos en general,²⁷ lo que se interpretó como que el pH, la salinidad y la materia orgánica en este caso, no son causantes de la inhibición enzimática de los microorganismos empleados como indicadores.⁵

Por otro lado, los resultados de los microbiensayos aplicados indican que pueden usarse como indicadores de toxicidad de agua y sedimento, ya que se observó que éstos son sencillos, sensibles, rápidos y económicos.¹³

Como conclusiones generales se puede mencionar que el grado de contaminación de las cuencas estudiadas es de bajo a moderado, así como también lo es el efecto de inhibición del agua y sedimentos sobre las actividades enzimáticas evaluadas. Como alternativas para solucionar el



problema, se sugiere la modificación de los drenajes que desembocan a los canales y la creación de fosas sépticas en el lago de Xochimilco, así como aumentar el número de plantas de tratamiento de aguas residuales y evaluar periódicamente el funcionamiento de las existentes en la cuenca Lerma-Santiago.

REFERENCIAS

1. Alfaro, F. G. 1987. Contaminación del lago de Xochimilco, p. 20 CINDEK-UAM-X, México D. F.
2. Aoyama, Y.; H. Okamura y M. Yagi. 1987. The interaction effects of toxic chemical combination on *Chlorella ellipsoidea*. *Tox. Asses.* 2:341-355.
3. APHA 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, p. 5-59, 9-68 y 9-75, 17th Ed., American Public Health Association Washington, D. C.
4. ASTM 1987, Standards on Materials and Environmental Microbiology, p. 13-16, Philadelphia, U.S.A.
5. Babich, H. y G. Stotzky. 1986. Environmental factors affecting the utility of microbial assays for the toxicity and mutagenicity of chemical pollutants, p. 9-42 In: B. J. Dutka (ed.) y G. Bitton (ed.). *Toxicity Testing Using Microorganisms*, CRC Press, Boca raton Fl. U. S. A.
6. Berna, J. L., A. Moreno, J. Ferrer, B. F. Ruiz y D. Prats. 1989. The behaviour of LAS in the environment. *PETRESA* 1:1-7.
7. Blaise, C. 1991. Microbiotests in aquatic ecotoxicology: characteristics, utility and prospects. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6:145-155.
8. Casas, M. M. 1985. Desequilibrio Ecológico en los canales de Xochimilco, p. 19-23 y 41-43, CINDEK-UAM-X, México D.F.
9. Castellanos, P. M. E. 1978. Contaminación del agua de los canales de Xochimilco, p. 2-36, CINDEK-UAM-X, México D. F.
10. Cerniglia, E. C. 1984. Microbial Metabolism of Polycyclic aromatic Hydrocarbons. *Advances Appl. Microbiol.* 30:46-50.
11. Comisión Nacional de Ecología. 1988. Informe general de Ecología. CNE, México D. F.
12. DOF 1997. Diario Oficial de la Federación 6 de enero de 1997.
13. Dutka, B. J. 1989. Toxicity Mutagenicity screening test, p. VIII-1, VII-3 y VII-34. In: B. J. Dutka (ed). *Methods for Microbiological and Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments*, Dep. of Environ. Rivers Reserch Institute, Canada.
14. Dutka, B. J., K. K. Kwan, S. S. Rao, A. Jurkovic y R. Mcinnis. 1991. Use of bioassays to evaluate river water and sediment quality. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6:309-327.
15. Gurijala, K. R. y M. Alexander. 1990. Explanation for the decline of bacteria introduced into lake water. *Microb. Ecol.* 20:231-244.
16. Kimerle, R. A. 1989. Aquatic and terrestrial ecotoxicology of linear alkylbenzenesulfonate. *Tenside Surfact. Det.* 26:169-176.
17. Larson, R. J., T. M. Rothgeb, R. J. Shimp, T. E. Ward y R. M. Ventullo. 1993. Kinetics and Practical significance of biodegradation of linear alkylbenzenesulfonate in the environment. *JAOCS.* 70:645-657.
18. Lewis, M. A. 1991. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment. *Water Res.* 25:101-113.
19. Liu, D., Y. K. Chau y B. J. Dutka. 1989. Rapid toxicity assessment of water-soluble and water-insoluble chemicals using a modified agar plate method. *Water Res.* 23: 333-339.
20. Martínez-Tabche, L., C. Germán-Faz, I. Galar-Castelán, B. Ramírez-Mora y G. Cardona-Hinojosa. 1996. Efecto tóxico del carbaril y del plomo sobre los lípidos, la clorofila y los azúcares reductores de la microalga *Ankistrodesmus falcatus*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 2:61-67.
21. Niemi, R. M. y J. S. Niemi. 1991. Bacterial pollution of waters in pristine and agricultures lands. *Environ. Qual.* 20: 620-627.
22. Organics, Ltd. 1992. The toxic-chromotest and the sos-chromotest for environmental assesment. *Environmental Biodetection*. INC, Canada.
23. Pereda, M. P., E. J. Zamacona y G. O. Espinoza. 1971. Evaluación de los estudios sobre el ABS y el LAS en la agricultura y la fauna, S.R.H., México D. F.
24. Rangel, M. R. 1981. Determinación de algunos metales tóxicos: B, Cd, Cu, Pb y Zn en aguas del lago de Xochimilco para uso agrícola, p. 1-21, ENCB-IPN, México D. F.
25. Saroja, S. G. y S. Bose. 1984. Recovery from methyl parathion induced damage of the photosynthetic apparatus in *Chlorella prothecoides*. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 32: 102-108.
26. SEDESOL-INE 1994. Informe de la situación general en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente 1993-1994. México D. F.
27. Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1988. *Bioestadística: principios y procedimientos*, p. 263-267, McGraw-Hill, México D. F.
28. Walkley, A. 1947. Critical examination for determining organic carbon in soils. *Soil Science.* 53:251-264.