

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**“Determinación de metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos
por la cianobacteria *Lyngbya sp.* y su relación con la calidad del agua
del Lago de Atitlán”**

Anival Edmundo Ruiz Cano
Edwin Aroldo Axpucac Aspuac

Químicos

Guatemala, marzo de 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, likely a saint or scholar, seated and holding a book. Above him is a golden crown with a cross on top. To the left and right are golden lions rampant. Below the central figure are two golden columns. The background is a landscape with green hills and a white path. The Latin motto "CETERA PARVA SUB CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

**“Determinación de metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos
por la cianobacteria *Lyngbya sp.* y su relación con la calidad del agua
del Lago de Atitlán”**

Seminario de Investigación

Presentado por

Anival Edmundo Ruiz Cano
Edwin Aroldo Axpucac Aspuac

Para optar al título de
Químicos

Guatemala, marzo de 2014

MIEMBROS DE LA JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Lilitiana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

DEDICATORIA

A Dios por un día más de vida, esto me es suficiente para continuar haciendo mis sueños realidad. Gracias por todo lo que me das, Señor.

A mis padres Anival Ruiz y Nivia Cano de Ruiz, gracias por ser el mejor ejemplo, el apoyo para seguir esforzándome y por guiarme en el largo camino de la vida. Los Quiero Mucho.

A mis hermanos Welfred y Rodner Ruiz Cano, por todos los momentos de alegría y tristeza que hemos vivido juntos.

A mis abuelitos (†), especialmente a mi **abuelita Magnolia** (†) mi segunda mamá, gracias por todos tus cuidados, paciencia, sabios consejos, por darme palabras de aliento cuando más las necesité.

A mi Esposa Doren Amézquita por todo tu apoyo, paciencia, comprensión y ayuda incondicional todo éste tiempo a mi lado, y porque juntos vamos cumpliendo nuestros sueños. TE AMO.

A toda mi familia por las muestras de cariño y apoyo que siempre me han dado, en especial a tía Carmen y mis Suegros Marcos y Alicia, gracias por su dedicación y ayuda.

A mis Catedráticos por todos los conocimientos proporcionados durante mi carrera, en especial a Licda. Diana Pinagel, Lic. Eduardo Robles, gracias por sabios consejos.

A mis amigos por estar siempre conmigo en las buenas y las malas, especialmente a Isabel, Byron, Tamara, Manuel, Willy, el Muertes, Chuchifin, JuanJo, Cristy, Roxana, Kirtan, la clika.

A mis compañeros de Trabajo por su apoyo y entusiasmo, especialmente a Mariano, Selvin, Laura, Don Armando y Don Víctor

Anival Ruiz

DEDICATORIA

Acto que dedico:

A Dios y mis padres (Reginaldo Axpucac Díaz & Elisa Aspucac Martínez)

Edwin Axpucac

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por darnos la oportunidad de crecer académicamente.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, especialmente a la Escuela de Química por brindarnos los conocimientos necesarios.

Al Departamento de Fisicoquímica y Química General, que dentro de sus instalaciones nos fue permitido realizar el presente trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Productos Naturales – LIPRONAT-, por permitirnos trabajar parte de este trabajo de investigación en sus instalaciones.

A nuestro asesor, Dr. Francisco Pérez por su apoyo y confianza para la elaboración del trabajo de investigación.

A nuestros catedráticos, por habernos instruido con dedicación y prepararnos para nuestro desempeño profesional.

A todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido en la culminación de esta etapa de nuestra carrera en especial a: Yolanda Bernard (Doña Yoli), Francisco Barrios (Don Panchito), y Carlos Palencia (El Seco) por su apoyo incondicional durante nuestros estudios.

ÍNDICE GENERAL

1. Ámbito de la Investigación.....	01
2. Resumen.....	03
3. Antecedentes.....	04
4. Justificación.....	16
5. Objetivos.....	17
6. Hipótesis.....	18
7. Materiales y Métodos.....	19
8. Resultados.....	33
9. Discusión de Resultados.....	52
10. Conclusiones.....	57
11. Recomendaciones.....	59
12. Referencias Bibliográficas.....	61
13. Anexos.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1.	Preparación de Soluciones Stock para Medio Combo.....	21
Tabla No. 2.	Sitios de Muestreo de Fitoplancton en el Lago de Atitlán.....	23
Tabla No. 3.	Metabolitos Secundarios a Analizar en Extractos de Biomasa de la Cianobacteria Lyngbya sp.....	28
Tabla No. 4.	Sitios de Muestreo de Sedimentos y Agua en el Lago de Atitlán.....	29
Tabla No. 5.	Estándares Internacionales Tomados Como Referencia para Caracterizar la Calidad de los Sedimentos Muestreados.....	31
Tabla No. 6.	Estándares Internacionales Tomados Como Referencia para Caracterizar la Calidad de Aguas Superficiales.....	32

ÍNDICE DE CUADROS DE RESULTADOS

Cuadro No. 1.	Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Alcaloides.....	33
Cuadro No. 2.	Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Saponinas.	34
Cuadro No. 3.	Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Flavonoides.	35
Cuadro No. 4.	Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Antraquinonas.	36
Cuadro No. 5.	Resultados del Análisis de la Presencia de Metales Ecotóxicos Plomo, Cadmio, Cobre y Zinc, en Sedimentos Provenientes de Río Panajachel, Río Quiskab y Río San Buenaventura	37
Cuadro No. 6.	Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitritos, Nitrógeno de Nitratos, Fosfatos, Sulfatos, Dureza, Sólidos Totales y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán en el Mes de Noviembre del Año 2012	39
Cuadro No. 7.	Determinación In situ de los Parámetros Físicoquímicos Principales de Muestras de Agua de 11 Sitios de Muestreo en el Lago de Atitlán en el Mes de Noviembre del Año 2012 (Temperatura del Agua, pH del Agua, Oxígeno Disuelto (O ₂) y Conductividad)	47

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS DE RESULTADOS

Figura No. 1.	Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Alcaloides.	33
Figura No. 2.	Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Saponinas.	34
Figura No. 3.	Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Flavonoides.	35
Figura No. 4.	Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Antraquinonas.	36
Gráfica No. 1.	Concentración de Metales Ecotóxicos en el Sedimento Proveniente de Cada Uno de los Ríos Panajachel, Quiskab y San Buenaventura.....	38
Gráfica No. 2.	Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitritos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	40
Gráfica No. 3.	Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitratos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	41
Gráfica No. 4.	Determinación de los Niveles de Fósforo de Ortofosfatos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	42
Gráfica No. 5.	Determinación de los Niveles de Sulfatos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	43
Gráfica No. 6.	Determinación de los Niveles de Dureza (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	44
Gráfica No. 7.	Determinación de los Niveles de Sólidos Totales (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	45
Gráfica No. 8.	Determinación de los Niveles de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	46
Gráfica No. 9.	Determinación In situ de la Temperatura del Agua de 11 sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (°C).....	48

Gráfica No. 10.	Determinación In situ del pH del Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán.....	49
Gráfica No. 11.	Determinación In situ de O ₂ Disuelto en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (mg / L).....	50
Gráfica No. 12.	Determinación In situ de la Conductividad (μS/cm) del agua de 11 sitios de muestreo del Lago de Atitlán.....	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Ubicación Geográfica de Sitios de Muestreo de Agua y Sedimentos.	68
Anexo 2.	Análisis de la Presencia de Metales Ecotóxicos Plomo, Cadmio, Cobre y Zinc (Pb, Cd, Cu, Zn), en Sedimentos Provenientes de los Ríos Panajachel, Quiskab y San Buenaventura.....	69
Anexo 3.	Determinación de los Niveles de Nutrientes en Muestras de Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (Nitrógeno de Nitritos, Nitrógeno de Nitratos, Fósforo de Ortofosfatos, Sulfatos, Dureza, Sólidos Totales y Demanda Bioquímica de Oxígeno)	70
Anexo 4.	Determinación Insitu de los Parámetros Físicoquímicos Principales de Muestras de Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (Temperatura del Agua, pH del Agua, Oxígeno Disuelto y Conductividad)	72

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN.

El Lago de Atitlán tiene gran importancia socioeconómica para Guatemala especialmente para el departamento de Sololá, debido a los servicios ambientales que presta a la población. El ecosistema acuático representa una fuente de ingresos para la población de la región, cumple funciones como fuente de agua de consumo humano, fuente de alimentos, transporte y recreación de los habitantes y visitantes. Además, es uno de los principales destinos turísticos del país, representando así una de las principales fuentes de ingresos para los habitantes de la cuenca.

Los niveles elevados de nutrientes en el agua del Lago de Atitlán, en conjunto con otros factores, como las modificaciones en las condiciones ambientales por causa de la deforestación y la tormenta tropical Stan ocurrida en 2005, han provocado el florecimiento de la cianobacteria *Lyngbya sp.*, que se ha convertido en el principal problema ambiental del lago (Oliva *et al.*, 2010). Como consecuencia de este florecimiento, la calidad del agua se ha deteriorado, desconociéndose fehacientemente a la fecha si la cianobacteria produce toxinas que pongan en riesgo la salud humana. Esto ha provocado la disminución de la actividad turística y de la actividad pesquera, lo que ha repercutido en los ingresos de los pobladores y de la industria hotelera. Luego de la primera floración extensiva en el año 2009 se han tomado diferentes medidas para tratar de disminuir los niveles de contaminación en el Lago de Atitlán y con ello disminuir la floración de cianobacterias. Entre las principales medidas se encuentran la instalación de aireadores solares fotovoltaicos, con el fin de mantener oxigenada la columna de agua, y la construcción de humedales artificiales para tratar de contener la descarga de nutrientes proveniente de aguas residuales hacia el lago (Oliva *et al.*, 2010).

En el proyecto de investigación "Determinación de cianotoxinas y metabolitos secundarios de la cianobacteria *Lyngbya sp.* y su relación con la calidad del agua del Lago de Atitlán" realizado por la Escuela de Química de la Facultad de

Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, avalado y financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT) se ha evaluado la producción de cianotoxinas por la cianobacteria *Lyngbya sp.*, así como la calidad del agua que facilita la misma.

La información que se generó de este trabajo formará parte de los resultados del proyecto de investigación y en general dará cumplimiento al interés y objetivo de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de contribuir a la solución de los problemas nacionales y en este caso en la búsqueda de soluciones a la contaminación del ecosistema del Lago de Atitlán, en conjunto con la Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Atitlán y su Entorno (AMSCLAE). Los resultados obtenidos deben ser de utilidad para la toma de decisiones con respecto al manejo de la cianobacteria, las actividades contaminantes de la cuenca, y la efectividad de las medidas de mitigación de la contaminación.

2. RESUMEN.

El objetivo general del presente estudio, fue determinar los metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya sp.* aislada y cultivada en el laboratorio. Para ello, se aisló y cultivó la cianobacteria *Lyngbya sp.* a partir de muestras de fitoplancton provenientes de cinco sitios geográficos del Lago de Atitlán. Se realizaron extractos de la biomasa aislada y cultivada en el laboratorio y se determinó la presencia de metabolitos secundarios y cianotoxinas, mediante la realización de un tamizaje fitoquímico. Se encontró la presencia de flavonoides, saponinas y antraquinonas en los extractos analizados, pero no se encontró la presencia de alcaloides, por lo que se recomienda que para estudios posteriores, se realice la determinación de alcaloides y cianotoxinas, mediante metodologías como cromatografía líquida de alta resolución con detección por fluorescencia y reacciones de derivatización, electroforesis capilar, métodos ELISA o bioensayo en ratón.

En el proyecto también se realizó la determinación de metales ecotóxicos plomo, cadmio, cobre y zinc en sedimentos provenientes de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura, determinándose la presencia de los mismos en los sedimentos analizados. Los niveles encontrados no sobrepasan los valores de intervención según los estándares internacionales, sin embargo se recomienda localizar las fuentes de contaminación, ya que estos metales no son biodegradables y tienen potencial de bioacumulación en los organismos vivos.

Se evaluó también la calidad del agua del Lago de Atitlán. Los resultados de nitrógeno de nitritos, el nitrógeno de nitratos, fósforo de ortofosfatos y los niveles de sulfatos, dureza, demanda bioquímica de oxígeno, oxígeno disuelto y conductividad, se encuentran en valores aceptables de acuerdo a normas internacionales. Sin embargo los niveles de sólidos totales, se encuentran muy elevados, por lo que se recomienda monitorear las fuentes de contaminación, para evitar que los niveles continúen aumentando.

3. ANTECEDENTES.

3.1. PROCESOS DE EUTROFIZACIÓN:

Un río, un lago o un embalse sufren eutrofización cuando sus aguas se enriquecen en nutrientes. Cuando un lago o embalse es pobre en nutrientes (oligotrófico) tiene las aguas claras, la luz penetra bien y el crecimiento de las algas es pequeño. Al ir cargándose de nutrientes el lago se convierte en eutrófico y tanto algas como otros organismos florecen en gran cantidad, con lo que el agua se enturbia. Cuando estos organismos mueren, se descomponen por actividad de las bacterias, con ello se consume el oxígeno y las especies acuáticas que requieren del mismo no pueden vivir. Además se pueden producir malos olores y en el fondo del lago se van acumulando sedimentos y la profundidad puede disminuir. En general la calidad del agua se ve severamente afectada y desde el punto de vista del consumo humano o de su uso para actividades deportivas, no es adecuada (Padín e Iriart, 2003).

Los nutrientes que más influyen en este proceso son los fosfatos y los nitratos. En algunos ecosistemas el factor limitante es el fosfato, como sucede en la mayoría de los lagos de agua dulce, pero en muchos mares el factor limitante es el nitrógeno para la mayoría de las especies de plantas (Padín e Iriart, 2003).

3.2. ESTUDIOS REALIZADOS EN EL LAGO DE ATILAN

Diferentes estudios se han efectuado en el lago de Atitlán en las últimas décadas, entre ellos se encuentran los efectuados por M. Dix en la década de los setenta. En dichos estudios, se evaluaron los niveles de nutrientes y algunos parámetros físicos de importancia, como el oxígeno disuelto. También se hicieron análisis de fitoplancton. El Centro de Estudios del Mar y Acuicultura de la Universidad de San Carlos ha efectuado algunos estudios,

entre ellos varias tesis *Ad gradum*, en los cuales se determinaron los niveles de diferentes especies químicas, incluyendo los nutrientes. Así mismo, se han efectuado estudios sobre los peces en el lago. En 1983 se observaron notables incrementos en los niveles de fitoplancton, con respecto a estudios efectuados en 1976 y 1968 por La Bastille (1988). Lo que evidencia el deterioro drástico de la calidad del agua del lago de Atitlán en plazos relativamente cortos.

La Universidad del Valle de Guatemala –UVG- realizó durante 4 años consecutivos a partir del año 2001, un monitoreo de la calidad del agua, en 28 sitios de muestreo. Concluyen que la calidad fisicoquímica del agua es en general bastante buena, sin embargo se encontraron niveles variables de contaminación bacteriana (Castellanos, 2009).

En 2009, fue realizado un estudio de la calidad del agua y la presencia de metales pesados en organismos acuáticos del Lago de Atitlán (Oliva et.al., 2010). Se estableció que los niveles de nutrientes se han elevado en la última década. El grupo de investigación considera que el paso de la Tormenta Tropical Stan alteró las condiciones ambientales debido al arrastre de gran cantidad de suelo al lago, lo cual en conjunto con la elevación de los niveles de contaminación ha facilitado la floración de la cianobacteria *Lyngbya*. Concentraciones de nitrógeno superiores a 0.5 mg/L y de fósforo superiores a 0.1 mg/L se encontraron en varios sitios de muestreo (Oliva et.al., 2010).

Aunque la investigación no se enfocó en el estudio de la floración de cianobacterias, ya que ese proyecto fue planteado antes de la primera floración de gran magnitud reportada en octubre de 2008, durante el florecimiento de la cianobacteria *Lyngbya* sp. en octubre-noviembre, se observó la disminución en la concentración de fósforo posiblemente debido a la captación por la biomasa. En el estudio se encontraron niveles elevados de plomo, cadmio, cromo y zinc en sedimentos y en plantas acuáticas,

indicando que existe biomagnificación en el ecosistema. La alteración ha sido tal que en varios sitios se encontró que el nitrógeno era el nutriente limitante, posiblemente por el secuestro de fósforo por la cianobacteria. Según el estudio, es necesario conocer con mayor detalle las condiciones previas y durante la floración de la cianobacteria para establecer el punto crítico en que esta ocurre. Por otra parte, en el estudio se encontró que existen niveles de plomo en músculo de peces del lago, por lo que es importante continuar monitoreando la contaminación por metales en el lago a largo plazo, para evaluar si los niveles de metales en agua y peces continúan incrementándose (Oliva *et.al.*, 2010).

3.3. CIANOTOXINAS Y METABOLITOS SECUNDARIOS DE CIANOBACTERIAS.

Se ha identificado que la eutrofización de los cuerpos de agua en combinación con condiciones adecuadas de temperatura y luz, son la causa principal de los masivos florecimientos algales nocivos (FAN). Además, esto se ha asociado al constante impacto antropogénico sobre las áreas costeras conllevando a efectos adversos en la población y sistemas acuáticos (Matus, 2010).

Entre el 50% y el 75% de las proliferaciones algales analizadas, de episodios ocurridos con frecuencia, intensidad y distribución geográficas diferentes, han sido tóxicas. Conforme la presencia de ciertos grupos de cianobacterias las proliferaciones masivas son más frecuentes y el daño es más evidente, por lo que se les emplea como indicadores del deterioro de la calidad ambiental, reconociéndose como parte de los géneros que han presentado proliferaciones tóxicas al género de cianobacterias *Lyngbya* principalmente la especie *Lyngbya majuscula* Harvey, por estar más frecuentemente implicada en intoxicaciones y muerte de animales y humanos (Matus, 2010).

Las toxinas llamadas cianotoxinas, constituyen un diverso grupo de sustancias naturales, resultado de productos asociados con la producción de pigmentos. La mayor parte de las que se han identificado resultan ser

más peligrosas para mamíferos terrestres que para la biota acuática. Las toxinas que han sido aisladas y caracterizadas, son muy diversas, así como los mecanismos de toxicidad actualmente descritos, siendo clasificadas según su estructura química como péptidos cíclicos, alcaloides y lipopolisacáridos; y aún más común de acuerdo al sitio y modo de acción farmacológico: Neurotoxinas, Hepatotoxinas y Toxinas no específicas (Matus, 2010).

Entre las neurotoxinas se encuentran tres tipos, la Anatoxina-a, un alcaloide que actúa como bloqueador neuromuscular, minimizando el efecto de la acetilcolina, ocasionando sobre estimulación de las células musculares. La Anatoxina -a(s), un organofosforado que actúa como un potente inhibidor de colinesterasa, provocando intensa salivación, hiperventilación, temores, fasciculaciones, ataxia, diarrea y cianosis. Finalmente las Saxitoxinas y Neosaxitoxinas, alcaloides neurotóxicos de la familia de los carbamatos, que producen lo que se conoce como síndrome neurotóxico, causado por la ingestión de alimentos contaminados, como bivalvos, incluyendo mejillones, almejas, ostras, y algunos otros alimentos marinos como cangrejos y otros peces que pueden bioacumular estas sustancias (Matus, 2010).

Actualmente se conocen 20 análogos de saxitoxinas aisladas en algunos casos de cianobacterias verde azules, entre ellas las pertenecientes al género *Lyngbya*; pero en su mayoría se encuentran asociadas principalmente a dinoflagelados, como los que producen la "Marea Roja". (Matus, 2010).

Las saxitoxinas constituyen un grupo de compuestos solubles en agua con elevado carácter polar. La molécula de las saxitoxinas es una tetrahidropurina compuesta por dos grupos funcionales guanidinio. En el C-11 la saxitoxinas posee una función diol. Tradicionalmente se dividieron en tres grupos: carbamatos, sulfacarbamatos y decarbamatos. Los carbamatos ingresan a la cadena trófica, mediante su inclusión al comienzo del Ciclo de Calvin en la fotosíntesis vegetal, en el cual la enzima

RuBisCO (Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa) fija una molécula de dióxido de carbono como carbamato. Sin embargo se degrada relativamente rápido, debido al metabolismo y facilidad de los organismos para adaptarse y procesar el mismo ya sea por hidrólisis u oxidación; así como a la luz ultravioleta y radiación solar en aguas superficiales. La hidrólisis de los carbamatos produce la liberación de alcohol y la formación del ácido carbámico, este ácido carbámico se descompone posteriormente en la amina y dióxido de carbono (Gago, 2012).

Las saxitoxinas poseen una LD₅₀ de 10 -30 µg / Kg. Se encuentran entre las sustancias naturales conocidas, con mayor neurotoxicidad, sin embargo su presencia en lagos y ríos no es tan frecuente como las hepatotoxinas llamadas Microcistinas, clasificadas como bloqueadores de fosfatasa de proteínas (péptidos cíclicos con ADDA), las cuales pueden provocar bloqueo de proteínas fosfatasas por enlace covalente y producir hemorragia del hígado y daño acumulativo (Gago, 2012).

Las saxitoxinas son absorbidas rápidamente por el tracto gastrointestinal y el síndrome neurotóxico se debe a un bloqueo fisiológico de los canales de sodio entre las membranas nerviosas, que desencadena una depresión en el músculo cardíaco, así como temblores y entumecimiento en boca y labios, pérdida de coordinación, parálisis, respiración irregular y finalmente muerte por paro respiratorio, en un corto período de tiempo tras la ingestión. La eliminación de las toxinas dura aproximadamente 90 minutos y estudios clínicos han demostrado que los pacientes que sobreviven las primeras 24 horas, normalmente se recuperan sin secuelas; sin embargo, los casos de intoxicación, ameritan atención en las unidades de cuidados intensivos de los hospitales, y el tratamiento abarca medidas de soporte únicamente, como lo es la inducción del vómito y tratamiento de los síntomas (Gago, 2012).

Los niveles de toxinas que pueden causar intoxicación varían considerablemente, debido probablemente a diferencias sensibles entre

individuos así como a la precisión de los métodos utilizados para la cuantificación. Las intoxicaciones suaves en adultos se pueden dar a dosis de toxinas entre 304.4 µg / persona, mientras que las intoxicaciones severas son causadas por dosis de 576 µg / persona (Gago, 2012).

Actualmente se realizan estudios de separación y cuantificación de saxitoxinas, mediante distintas metodologías como lo son Cromatografía Líquida de Alta Resolución con detección por fluorescencia y reacciones de derivatización, Electroforesis capilar y Métodos ELISA, sin embargo el principal obstáculo para el desarrollo de métodos es la obtención de estándares y materiales de referencia (Gago, 2012). Otra forma de determinar presencia de cianotoxinas es mediante el bioensayo en ratón, o determinación de dosis letal LD50, en donde los síntomas y signos de muerte del ratón permiten observar la diferencia en cuanto si la toxicidad es debido a toxinas neuro o hepatotóxicas (Gago, 2012).

3.4. ESTUDIOS DE CIANOTOXINAS Y METABOLITOS SECUNDARIOS DE CIANOBACTERIAS.

La floración por microalgas ha sido objeto de estudios de varios trabajos, en los cuales se ha establecido que existe relación con la concentración de nutrientes. El estudio de las cianobacterias ha ganado mucho la atención en años recientes, debido a su potencial aplicación en biotecnología (industria). Se han identificado como fuentes ricas en compuestos activos biológicamente como antivirales, antibacterianos y antifúngicos y actividades anti cáncer. Estudios recientes han demostrado que el aceite de los sitios contaminados es rico en comunidades de bacterias capaces de degradar componentes del petróleo (Abed *et.al*, 2008).

Las cianobacterias son una rica fuente de nuevos metabolitos secundarios. Esta diversidad química está bien representada por el género *Lyngbya* (especialmente *L. majuscula*), la cual es una fuente prolífica de amidas de

ácidos grasos halogenados y no halogenados, lipopéptidos y péptidos ribosomales, muchos de los cuales poseen una bioactividad significativa contra una serie de células diana (blancos) farmacológicos (Jiménez *et.al.*, 2009).

Se han aislado citotoxinas de *Lyngbya* sp. las cuales muestran citotoxicidad contra líneas celulares de cáncer. Sin embargo, para estos compuestos no se ha demostrado que presenten toxicidad para los organismos acuáticos, incluyendo camarón y peces (Smith *et.al.*, 2008).

Existen diferentes tipos de toxinas las cuales provienen de diferentes géneros de cianobacterias. Por ejemplo, las dermatoxinas debromoaplysiatoxina y la lyngbyatoxina, son producidas por *Lyngbya* sp. y la Aplysiatoxina la produce tanto la *Lyngbya* como la *Oscillatoria*.

Existen estudios sobre la degradación de microcistinas de bacterias como la *Microcystis aeruginosa*, en los cuales se demuestra que la ozonización es un método eficaz para la eliminación de estas microcistinas (Hengfeng & Tao, 2009)

En Brasil, Ferrao Filho *et al.* (2009) estudiaron el potencial del uso de cladoceros en el biomonitoreo de cianotoxinas. En el estudio se encontró que las cianobacterias fueron el grupo dominante en dos embalses de agua dulce, siendo los principales géneros: *Anabaena*, *Cylindropsomopsis* y *Microcystis*, observándose en los bioindicadores, muerte, parálisis y disminución en el crecimiento de la población. También en Brasil, en 2004 se observó una floración de cianobacterias en el embalse Monjolinho del estado de Sao Paulo, siendo las principales especies de fitoplancton detectadas, *Anabaena circinalis* y *Anabaena spiroides*. Los extractos crudos de la cianobacteria fueron tóxicos para cladoceros y ratones (Sotero-Santos *et al.*, 2008).

3.5. METALES ECOTÓXICOS

Actualmente se incluyen con gran vigor estudios ecotoxicológicos en investigaciones que atañen problemáticas ambientales. La presencia en el agua de trazas de metales pesados, también conocidos como contaminantes o elementos traza tóxicos, se debe en gran parte a los residuos de la actividad industrial, además de la debida a causas naturales. Elementos como arsénico, cadmio, cobre, hierro, níquel, plomo, mercurio, cromo o cinc entre otros, son potencialmente peligrosos para la salud, por lo que se hallan sometidos a control. En ciencias ambientales, la introducción de los elementos traza a los ecosistemas ocurre a través de dos patrones: uno es natural y el otro es antropogénico o de origen humano, ambas fuentes contribuyen a la calidad del agua de cuerpos acuíferos superficiales (Padín e Iriart, 2003).

La contaminación del ambiente por causas naturales se debe generalmente a erupciones volcánicas, deposición de cenizas aéreas provenientes de incendios forestales naturales, erosión natural y otros. Por ejemplo, el mercurio que se encuentra naturalmente en la corteza de la Tierra y en los océanos contamina la biosfera mucho más que el procedente de la actividad humana. Algo similar pasa con los hidrocarburos y con muchos otros productos originados por restos animales, vegetales, minerales y sustancias gaseosas que se disuelven cuando los cuerpos de agua atraviesan diferentes terrenos. Así mismo la contaminación natural del agua, también depende fundamentalmente de los aportes naturales dados por las lluvias y la naturaleza geoquímica del terreno (Roldán, 1992).

La contaminación antropogénica, se deriva exclusivamente de la actividad humana, dentro de lo que se puede mencionar la industria, que produce distintos tipos de residuos, siendo los más peligrosos los metales tóxicos. Los asentamientos humanos (pueblos y ciudades) y la actividad doméstica producen principalmente residuos orgánicos, pero el alcantarillado arrastra además todo tipo de sustancias: emisiones de los automóviles,

hidrocarburos, plomo, otros metales, etc. También la agricultura y ganadería producen vertidos de pesticidas, fertilizantes y restos orgánicos de animales y plantas que contaminan de una forma difusa pero muy notoria las aguas. Además, muchas de las cosechas son regadas con aguas negras, alimentando las plantas con nuestros propios desechos (Padín e Iriart, 2003).

Todos los metales pesados existen en las aguas superficiales en forma coloidal, en forma de partículas y en fases disueltas, sin embargo las concentraciones en disolución son bajas generalmente. El metal en el material particulado y en coloides puede encontrarse primeramente como hidróxidos, óxidos, silicatos o sulfuros, o bien adsorbidos en la arcilla, en el silicio y en la materia orgánica. Las formas solubles generalmente son iones, quelatos o complejos organometálicos no ionizables. La solubilidad de trazas de metales en las aguas superficiales está controlada predominantemente por el pH, por el tipo de concentración de los ligandos en los cuales el metal puede absorberse, y por el estado de oxidación de los componentes minerales el ambiente rédox del sistema (Padín e Iriart, 2003).

Los metales pesados son los contaminantes ambientales más peligrosos, debido a que no son biodegradables y a su potencial de bioacumulación en los organismos vivos. La toxicidad de los metales depende del grado y la forma de oxidación de un ión metálico dado y que, en concentraciones por encima de determinados límites, pueden producir efectos negativos en la salud humana, flora o fauna. Se consideran los siguientes: cadmio, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc (Barrenetxea et al., 2003; Calderón, 1997). Todos los metales tienen niveles óptimos de concentración, por encima de los cuales resultan tóxicos. La toxicidad de un metal depende de su vía de administración y del compuesto químico al que está ligado (Padín e Iriart, 2003).

3.5.1. Cadmio (Cd):

El Cadmio procede de vertidos industriales, de tuberías galvanizadas deterioradas, o de los fertilizantes derivados del cieno o lodo. Existen pequeñas cantidades de cadmio en algunos alimentos y bebidas. Los alimentos más susceptibles de contaminación por cadmio son el pescado, los mariscos y el té negro. De ser ingerido en cantidad suficiente, el metal puede producir un trastorno diarreico agudo, hipertensión, arteriosclerosis, así como lesiones en el hígado y los riñones ya que el cadmio se deposita principalmente en las arterias y en los riñones, además provoca fragilidad y dolor intenso en los huesos, esterilidad en hombres y daño renal (Calderón, 1997). El tratamiento contra la intoxicación consiste en la administración de vitamina C, B6, Zinc, aminoácidos y selenio (Barrenetxea et al., 2003). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) recomienda que el límite máximo de cadmio en aguas para irrigación sea de 10 µg/L. El límite máximo aceptable de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) es de 10 µg/L (APHA, 1998).

3.5.2. Cobre (Cu)

Metal procedente de las industrias mineras, recubrimiento de metales y corrosión. El Cobre no es muy tóxico en animales, pero afecta el sistema digestivo (Barrenetxea et al., 2003). Es un irritante del sistema gastrointestinal y puede causar la enfermedad de Wilson. La FAO recomienda que el límite máximo de cobre en aguas para irrigación sea de 200 µg/L. El límite máximo aceptable de la EPA es de 1.0 - 1.3 mg/L (APHA, 1998).

3.5.3. Plomo (Pb)

Las principales fuentes de plomo son los gases de escape de automóviles que usan gasolinas con plomo y las pinturas. El plomo se absorbe en el tubo gastrointestinal y los principales síntomas de intoxicación son anorexia, dolor abdominal, vómitos, irritabilidad, apatía y encefalopatías (Barrenetxea et al., 2003). Es sumamente tóxico cuando se encuentra en grandes cantidades en la sangre de niños, causa daño hepático y cerebral, retardo mental, convulsiones, anemia y cáncer de riñón en adolescentes. El límite máximo aceptable de la EPA es de 1.5 µg/L (APHA, 1998).

3.5.4. Zinc (Zn)

Sus principales fuentes son las pinturas, aleaciones, pigmentos, catalizadores, y recubrimiento de metales. Los efectos son desórdenes gastrointestinales y, en casos severos, las perforaciones del tracto digestivo. La FAO recomienda que el límite máximo de zinc en aguas para irrigación sea de 2 mg/L. El límite máximo aceptable de la EPA es de 5 mg/L (APHA, 1998).

3.6. ESTUDIOS DE METALES ECOTÓXICOS.

En los ecosistemas acuáticos, el cadmio se bioacumula en los tejidos de los organismos de agua dulce (Mason, 1991). Factores de bioconcentración medios en macrófitas son inferiores a 50 y en peces, menores que 100. Para algunos moluscos se han registrado factores entre 2000 y 4000. Esa distribución y acumulación de cadmio en los tejidos es dependiente de la especie y vía de exposición (Alimento o Agua). En peces, una gran proporción del cadmio retenido se acumula en las branquias, hígado y riñones. Un ejemplo son las truchas de los ríos suecos contaminados con cadmio, las cuales presentan residuos en el hígado de 6 a 8 veces superiores cuando se comparan a peces de lugares exentos de contaminación con

ese metal (Mason, 1991). El límite máximo permitido en carne de pescado por la Unión Europea es de 0.1 mg/kg (EFSA, 2004).

En un estudio realizado en Guarapiranga, Brasil, se verificó que el nivel de acumulación de cobre, es creciente en función de su concentración en el agua. Los niveles de cobre fueron de 3 a 7 veces más elevados en el fitoplancton que en el zooplancton, por ejemplo. Se observó que la contaminación del sedimento por cobre, era elevada, pudiendo constituir una fuente de metal para la columna de agua por largos períodos de tiempo (Zagatto y Aragao, 1995).

En un estudio detallado de la distribución de plomo en macrófitas en el Lago Shoal en la provincia de Manitoba, Canadá, se evidenció que las concentraciones acumuladas del metal variaron considerablemente entre las especies. En dicho estudio se determinó que mientras *Potamogeton mineus* contenía 45 mg/kg de peso seco, otras especies de *Potamogeton* contenían menos de 20 mg/kg; así también otros géneros de macrófitas contenían concentraciones aún más bajas. Los invertebrados de ríos de planicies que presentaron niveles más bajos de contaminación, tenían factores de bioconcentración entre 32 y 360, no relacionados a la posición trófica (Mason, 1991).

4. JUSTIFICACIÓN.

La calidad ambiental del Lago de Atitlán se ha visto deteriorada en los últimos años en forma drástica, debido a las actividades humanas desarrolladas sin las medidas de mitigación necesarias para la conservación del entorno, que han provocado la floración extensiva de la cianobacteria *Lyngbya* sp. En un estudio realizado por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia en 2009, se encontró que existen niveles de contaminación elevados en varios sitios de muestreo, sobre todo en los alrededores de las principales poblaciones como Santiago Atitlán, Panajachel, San Lucas Tolimán y Santa Catarina Palopó (Oliva *et al.*, 2010). Actualmente se desconoce entre otros aspectos si existe producción de metabolitos secundarios y cianotoxinas por la cianobacteria en floración, que pudieran ser tóxicos, tener alguna actividad biológica u otro potencial de uso.

Por lo anterior, se realizó un tamizaje fitoquímico en el que se investigó la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides y antraquinonas en la biomasa de la cianobacteria *Lyngbya* sp. aislada y cultivada en el laboratorio. Se evaluó también la presencia de metales ecotóxicos en sedimentos provenientes del Lago de Atitlán y se analizó la calidad fisicoquímica del agua, procedente del mismo lugar, en un muestreo realizado durante la época de floración de la cianobacteria.

Los resultados obtenidos de ésta investigación contribuirán con información que puede ser útil en la búsqueda de soluciones a la problemática del ecosistema del Lago de Atitlán, así como para la administración y planificación del manejo de la cuenca por autoridades ambientales, para gestionar medidas adecuadas y efectivas que permitan mitigar la contaminación. Se beneficiará de ésta manera a comunidades aledañas, tanto en la economía de los habitantes, como en la disminución de los riesgos de salud a los que puedan estar expuestos.

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo General:

Determinar los metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya sp.* aislada y cultivada en el laboratorio.

5.2. Objetivos específicos:

5.2.1. Aislar y cultivar la cianobacteria *Lyngbya sp.* a partir de muestras provenientes del Lago de Atitlán.

5.2.2. Determinar los metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya sp.* aislada en el laboratorio, en extractos de la misma, a través de tamizaje fitoquímico mediante la evaluación de la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides y antraquinonas.

5.2.3. Analizar la presencia de metales ecotóxicos plomo, cadmio, cobre y zinc (Pb, Cd, Cu, Zn), en sedimentos provenientes del Lago de Atitlán.

5.2.4. Evaluar la calidad del agua analizando los parámetros fisicoquímicos principales como lo es cuantificación de nitrógeno de nitritos, nitrógeno de nitratos, fósforo de ortofosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, temperatura ambiente, humedad del ambiente, temperatura del agua, pH del agua, oxígeno disuelto y conductividad.

6. HIPÓTESIS.

Existe producción de metabolitos secundarios y cianotoxinas alcaloides, saponinas, flavonoides y antraquinonas en los cultivos aislados en el laboratorio, de la cianobacteria *Lyngbya sp.*

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1. Universo de trabajo

- ✚ Cianobacteria *Lyngbya* sp.

7.1.1 Muestra

- ✚ Cianobacteria *Lyngbya* sp. que crece en el Lago de Atitlán
- ✚ Agua proveniente del Lago de Atitlán.
- ✚ Sedimento proveniente del Lago de Atitlán

7.2. Materiales y equipo:

- ✚ Pipetas volumétricas 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25 mL.
- ✚ Pipetas serológicas 5, 10 mL.
- ✚ Probetas.
- ✚ Agitador de vidrio.
- ✚ Beakers 50, 100, 250, 500, 1000 mL.
- ✚ Embudo de vástago mediano
- ✚ Cápsula de porcelana
- ✚ Tubos de ensayo
- ✚ Balones aforados 10, 25, 50, 100, 500, 1000 mL.
- ✚ Botellas plásticas y de vidrio.
- ✚ Agitadores magnéticos.
- ✚ Potenciómetro de pH
- ✚ Balanza analítica
- ✚ Pistilo y mortero
- ✚ Gradilla para tubo de ensayo
- ✚ Pinza para cápsula de porcelana
- ✚ Estufa eléctrica
- ✚ Bulbo para micropipeta
- ✚ Baño de maría
- ✚ Bombas aireadoras

- + Mangueras plásticas
- + Lámparas fluorescentes
- + Temporizador
- + Espátulas
- + Cajas de Petri
- + Portaobjetos
- + Cubreobjetos
- + Microscopio invertido
- + Campana de flujo laminar
- + Papel filtro
- + Papel tornasol
- + Espectrofotómetro de Absorción Atómica con flama de aire /acetileno marca THERMO SCIENTIFIC, VP100 S. SERIES equipado con lámpara de Deuterio como corrector de fondo y controlado mediante un ordenador.
- + 1 Horno de secado con circulación de aire y temperatura regulable capaz de mantener en $110\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$
- + 1 Balanza analítica Max: 220 g/d +0.01/0.1 mg
- + Piseta con agua destilada
- + Espectrofotómetro UV-Visible
- + Cromatoplacas de Silica Gel 60 F – 254

7.2.1. Reactivos

PA: Grado Reactivo Analítico

QP: Grado Químicamente Puro

- + Cloroformo PA
- + Metanol QP
- + Hidróxido de potasio PA
- + Acetato de etilo QP
- + Ácido Fórmico QP
- + Ácido Acético QP
- + Papaverina PA

- ✚ Quinidina PA
- ✚ Diosgenina PA
- ✚ Ácido Clorogénico PA
- ✚ Quercetina PA
- ✚ Antrona PA
- ✚ Vainillina QP
- ✚ Ácido Sulfúrico PA
- ✚ Cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F – 254
- ✚ Reactivo Dragendorff: mezclar 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 ml de ácido nítrico al 30% con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Dejar en reposo por 24 horas, decantar y aforar a 100 ml.
- ✚ NP 1%: solución metanólica de difenilboriloxietilamina 1%
- ✚ PEG 1%: solución etanólica de polietilenglicol 4000 1%
- ✚ Medio Combo: A 900 mL de agua desmineralizada, adicionar individualmente 1 mL cada una de las siguientes soluciones stock (Ver Tabla No. 1). Llevar a 1000 mL con agua desmineralizada. Ajustar pH a 7.8, filtrar y esterilizar.

Tabla No. 1. Preparación de Soluciones Stock para Medio Combo*.

Reactivo (PA)	Solución stock (g / L)	Cantidad utilizada (mL)	Concentración Final en el Medio Combo (Mol / L)
Macronutrientes			
NaNO ₃	85.01	1	1.00 X 10 ⁻³
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	36.76	1	2.50 X 10 ⁻⁴
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	36.97	1	1.66 X 10 ⁻⁴
NaHCO ₃	12.60	1	1.50 X 10 ⁻⁴
Na ₂ SiO ₃	28.42	1	1.00 X 10 ⁻⁴
K ₂ HPO ₄	8.71	1	5.00 X 10 ⁻⁵
H ₃ BO ₃	24.00	1	3.88 X 10 ⁻⁴
KCL	7.45	1	1.00 X 10 ⁻⁴
Micronutrientes			
Na ₂ EDTA. 2 H ₂ O	---	4.36 g	1.17 X 10 ⁻⁵
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	---	1.00 g	3.70 X 10 ⁻⁶
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	1.00	1	4.01 X 10 ⁻⁹
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	22.00	1	7.65 X 10 ⁻⁸
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	12.00	1	5.04 X 10 ⁻⁸
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	180.00	1	9.10 X 10 ⁻⁷
Na ₂ MO ₄ . 2 H ₂ O	22.00	1	9.09 X 10 ⁻⁸
H ₂ SO ₃	1.60	1	1.24 X 10 ⁻⁸
NaVO ₄	1.80	1	9.79 X 10 ⁻⁹

* **Fuente:** (Oshima, 1995).

7.3. Metodología

7.3.1. Diseño de la investigación.

El diseño de la investigación fue experimental y descriptivo. La investigación se desarrolló en seis etapas, las cuales fueron las siguientes:

7.3.1.1. Etapa I: Muestreo de fitoplancton en el Lago de Atitlán.

7.3.1.2. Etapa II: Aislamiento y cultivo de la cianobacteria *Lyngbya sp.* a partir de muestras de fitoplancton provenientes del Lago de Atitlán.

7.3.1.3. Etapa III: Determinación de los metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya sp.* aislada y cultivada en el laboratorio, en extractos de la misma, a través de tamizaje fitoquímico mediante la evaluación de la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides y antraquinonas

7.3.1.4. Etapa IV: Muestreo de sedimentos y agua, provenientes de distintas ubicaciones geográficas del lago de Atitlán.

7.3.1.5. Etapa V: Análisis de la presencia de metales ecotóxicos plomo, cadmio, cobre y zinc (Pb, Cd, Cu, Zn), en muestras de sedimentos provenientes del Lago de Atitlán.

7.3.1.6. Etapa VI: Evaluación de los niveles de nutrientes en las muestras de agua provenientes del lago, mediante el análisis y cuantificación de nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, temperatura del agua, pH del agua, oxígeno disuelto y conductividad.

7.3.2. Procedimiento.

7.3.2.1. Etapa I: Muestreo de fitoplancton en el Lago de Atitlán.

Se muestrearon cinco sitios, los cuales fueron Santiago Atitlán, San Pedro La Laguna, Río San Francisco-Panajachel, Bahía San Buenaventura y Río Quiscab, durante la época de floración de la cianobacteria *Lyngbya sp.*, utilizando una red de fitoplancton.

Tabla No. 2. Sitios de Muestreo de Fitoplancton en el Lago de Atitlán.

No.	Nombre	Posición N	Posición W
1	Bahía San Buenaventura	14°44.663´	91°10.016´
2	Río Quiscab	14°44.405´	91°11.055´
3	San Pedro la Laguna	14°41.618´	91°15.887´
4	Santiago Atitlán	14°38.577´	91°13.925´
5	Río San Francisco-Panajachel	14°43.941´	91°09.603´

7.3.2.2. Etapa II: Aislamiento y cultivo de la cianobacteria *Lyngbya sp.* a partir de muestras de fitoplancton provenientes del Lago de Atitlán.

7.3.2.2.1. Aislamiento:

Se trasladó 1 mL de la muestra de fitoplancton tomada de los puntos de muestreo del Lago de Atitlán, a un tubo de ensayo de 25 mL, el cual contenía 15 mL del caldo nutritivo (medio combo), seguidamente de este tubo se trasladó 1 mL a otro tubo de ensayo de 25 mL, el cual contenía 15 mL del caldo nutritivo (medio combo). Estos tubos fueron

sujetos a micro-manipulación con tubos capilares bajo el microscopio. Después de transcurridos 15 días, se seleccionaron varios filamentos de cianobacteria de forma específica, y se inocularon en cajas de Petri conteniendo agar con medio combo. Después de aproximadamente 30 días de incubación, se cortaron y trasladaron cuadrados de 1 cm² de agar, conteniendo varios filamentos de *Lyngbya, sp.*, a tubos de ensayo de 25 mL con tapadera de rosca, conteniendo 15 mL de medio combo. Seguidamente estos tubos fueron utilizados para la preparación de los cultivos *in vitro*.

7.3.2.2.2. Preparación de medio de cultivo:

El cultivo de la cianobacteria *Lyngbya sp.* del Lago de Atitlán se basó en la metodología de Estrada (2004), en la cual para las fases *in vitro*, se utilizó el medio de cultivo Combo, el cual se preparó con agua desmineralizada estéril, que fue previamente filtrada en una membrana de nylon de 0.45 µm.

Una vez preparado el medio combo se filtró y esterilizó en autoclave y se colocaron 600 mL en recipientes de un litro de capacidad para el cultivo *in vitro*.

7.3.2.2.3. Instalación del sistema de cultivo

7.3.2.2.3.1. Cultivo *in vitro*

Se instalaron estanterías que se equiparon con iluminación artificial (tubos fluorescentes de 40 W, luz

de día, 6500 K) superior y posterior, así también se instalaron bombas de acuario para proveer aireación. La iluminación y aireación estuvieron controladas por un temporizador, con un fotoperiodo de 4 h, para un total de 3 fotoperiodos en 24 h, alternos con 3 períodos de descanso.

7.3.2.2.3.2. Mantenimiento de cultivos

Se monitoreó el crecimiento de la cianobacteria por un período de cuatro meses, en el que sí se observó crecimiento, sin embargo no se logró aislar, ya que al observar en el microscopio se veían otras formas de vida, que no se identificaron, por no ser parte de este estudio; aunque se intentó realizar el proceso de aislamiento tres veces, y sucedió lo mismo. Por lo que se estimó que el medio combo preparado, no es selectivo para *Lyngbya, sp.*, también se consideró la posibilidad de que las fuentes de aireación introdujeron contaminantes, que favorecieron el crecimiento de variedad de microorganismos, y no únicamente el de *Lyngbya sp.* la cual debe aislarse en condiciones axénicas.

Por lo anterior se decidió estudiar el crecimiento y aislamiento de la cianobacteria inoculando agua proveniente del Lago de Atitlán, filtrada y esterilizada. Se filtró el agua en una membrana de 0.45 μm , se purificó por medio de ebullición por 15 min.

Se trasladó 1 mL de la muestra de fitoplancton tomada de los puntos de muestreo del Lago de Atitlán, a un tubo de ensayo de 25 mL, el cual

contenía 15 mL de agua proveniente del Lago de Atitlán, filtrada y esterilizada, seguidamente de este tubo se trasladó 1 mL a otro tubo de ensayo de 25 mL, el cual contenía 15 mL de agua proveniente del Lago de Atitlán, filtrada y esterilizada. Estos tubos fueron sujetos a micro-manipulación con tubos capilares bajo el microscopio, aislando filamentos de *Lyngbya sp.* y trasladándolos a tubos de ensayo de 25 mL con tapadera de rosca, conteniendo 15 mL de agua proveniente del Lago de Atitlán, filtrada y esterilizada. Se colocaron 600 mL de agua proveniente del Lago de Atitlán en recipientes de rosca de 1 L de capacidad, y se inocularon para el desarrollo de biomasa, cerrándolos herméticamente.

Se instalaron estanterías que se equiparon con iluminación artificial (tubos fluorescentes de 40W, luz de día, 6500 K) superior y posterior. La iluminación estuvo controlada por un temporizador, con un fotoperiodo de 4 h, para un total de 3 fotoperiodos en 24 h, alternos con 3 períodos de descanso.

Se monitorearon durante 4 meses, observándose al final un aislamiento adecuado, ya que después del tiempo transcurrido no había presencia de otras formas de vida al colocar la muestra en el microscopio. Probablemente porque al no colocarles aireación, únicamente fotoperíodos, el aislamiento logró obtenerse en condiciones con cantidad óptima de oxígeno-dióxido de carbono, siendo este factor el que tal vez afectó las pruebas realizadas con el medio combo, provocando que otras formas de vida

podieran desarrollarse, ya que el medio combo no es específico y contiene gran cantidad de nutrientes.

7.3.2.2.3.3. Cosecha y secado de biomasa de microalgas.

La biomasa obtenida fue esparcida sobre cedazo fino, filtrada al vacío y secada en un horno a una temperatura de 85 °C.

7.3.2.2.3.4. Cantidad de biomasa seca obtenida.

La cantidad de biomasa seca obtenida fue pequeña, aproximadamente de 2 g, la cual se utilizó para realizar el tamizaje fitoquímico.

7.3.2.3. Etapa III: Determinación de los metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya sp.* aislada y cultivada en el laboratorio, en extractos de la misma, a través de tamizaje fitoquímico.

7.3.2.3.1. Determinación de metabolitos secundarios y cianotoxinas:

Se realizaron pruebas mediante tamizaje fitoquímico para los principales metabolitos secundarios, los cuales fueron alcaloides, saponinas, flavonoides y antraquinonas. Los resultados obtenidos se reportaron descriptivamente.

Tabla No. 3. Metabolitos Secundarios a Analizar en Extractos de Biomasa de la Cianobacteria *Lyngbya* sp *.

Metabolito	Extracto	Fase estacionaria	Fase móvil	Estándar	Detección con Derivatizante en la Región Visible
Alcaloides	Extraer de 0.5 g de material vegetal seco con 5 mL de metanol en baño maría a 60 °C por 5 min, concentrar a 2 mL, filtrar y utilizar el filtrado. Analizar una dilución de 0.5 mL del filtrado en 5 mL de metanol.	Cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F - 254	Acetato de etilo: Metanol: Agua (50:7:5)	Solución Metanólica de Papaverina 1% y Quinidina 1%	Reactivo de Dragendorff: Zonas café o naranja en región visible.
Saponinas	Extraer de 0.5 g de material vegetal seco con 5 mL de metanol en baño maría a 60 °C por 5 min, concentrar a 2 mL, filtrar y utilizar el filtrado. Analizar una dilución de 0.5 mL del filtrado en 5 mL de metanol.	Cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F - 254	Cloroformo (25 mL)	Estándar de Diosgenina al 0.5 % en metanol	Vainillina-ácido sulfúrico. Zonas violeta, Café-rojo, Azul-verde, en visible.
Flavonoides	Extraer de 0.5 g de material vegetal seco con 5 mL de metanol en baño maría a 60 °C por 5 min, concentrar a 2 mL, filtrar y utilizar el filtrado. Analizar una dilución de 0.5 mL del filtrado en 5 mL de metanol.	Cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F - 254	Acetato de etilo: Ácido Fórmico: Ácido Acético: Agua (25:2:2:6)	Estándar de Rutina, Estándar de Ácido Clorogénico, Estándar de Quercetina al 0.05% en metanol	Reactivo NP 1 % / PEG 1 %. Aplicar vapores de amoníaco para intensificar el color de las manchas. Fluorescencia UV a 365 nm, Amarillo, Azul o Verde.
Antraquinonas	Extraer de 0.5 g de material vegetal seco con 5 mL de metanol en baño maría a 60 °C por 5 min, concentrar a 2 mL, filtrar y utilizar el filtrado. Analizar una dilución de 0.5 mL del filtrado en 5 mL de metanol.	Cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F - 254	Acetato de etilo: Metanol: Agua (25:4:3)	Estándar de Antrona 0.5 % en metanol	Solución etanólica de Hidróxido de Potasio al 10%. Zonas rojas en UV y visible 365 nm. Zonas amarillas para antronas y antranolonas en UV y visible 365 nm.

* **Fuente:** LIPRONAT, 2005.

7.3.2.4. Etapa IV: Muestreo de sedimentos y agua, provenientes de distintas ubicaciones geográficas del lago de Atitlán.

Se colectaron sedimentos de los ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura, con una draga, para el análisis de los metales pesados plomo, cadmio, cobre y zinc. Las muestras fueron transportadas en hieleras con suficiente cantidad de hielo (4°C).

Se colectaron muestras de agua superficial para análisis de los parámetros fisicoquímicos establecidos, utilizando botellas de polipropileno, a una profundidad de 30 cm. En cada sitio se tomaron tres muestras de 1 L. Las muestras fueron transportadas en hieleras con suficiente cantidad de hielo para mantenerlas a una temperatura aproximada de 4°C.

Tabla No. 4. Sitios de Muestreo de Sedimentos y Agua en el Lago de Atitlán *

No.	Nombre	Posición N	W
Muestreo de Sedimentos			
1	Panajachel	14°43.941'	91°09.603'
2	Quiscab	14°44.405'	91°11.055'
3	San Buenaventura	14°44.663'	91°10.016'
Muestreo de Agua			
1	Bahía San Buenaventura	14°44.663'	91°10.016'
2	Río Quiscab	14°44.405'	91°11.055'
3	Centro del Lago	14°42.537'	91°10.492'
4	Jaibalito	14°44.072'	91°13.152'
5	Bahía San Pablo, San Juan- San Pedro	14°42.283'	91°16.714'
6	San Pedro la Laguna	14°41.618'	91°15.887'
7	Santiago Atitlán	14°38.577'	91°13.925'
8	San Lucas Tolimán	14°38.307'	91°08.276'
9	Tzanpetey	14°39.803'	91°07.067'
10	Santa Catarina Palopó	14°43.034'	91°08.153'
11	Río San Francisco-Panajachel	14°43.941'	91°09.603'

* *Fuente:* Sitios de Muestreo (Ver Anexo 1).

7.3.2.5. Etapa V: Análisis de la presencia de metales ecotóxicos plomo, cadmio, cobre y zinc (Pb, Cd, Cu, Zn), en muestras de sedimentos provenientes del Lago de Atitlán.

Los metales (plomo, cadmio, cobre y zinc) se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica, obteniendo resultados en partes por millón (ppm). El plomo se analizó a una longitud de onda de 217 nm, el cadmio a una longitud de onda de 229 nm, para el zinc una longitud de onda de 214 nm, finalmente para el cobre una longitud de onda de 325 nm.

Se realizó la lectura de cada metal por separado iniciando con una curva patrón y posteriormente con las muestras. En el equipo de análisis las muestras fueron nebulizadas mediante un flujo de gas oxidante mezclado con un gas combustible en este caso aire/ acetileno, luego fueron transportados a una llama donde se produjo la atomización. Se cambió una lámpara de cátodo hueco para cada metal y se utilizó el manual del fabricante del equipo para ajustar la longitud de onda, para que el analito absorbiera la radiación emitida por cada lámpara. La variación de la radiación emitida por cada lámpara se detectó, procesó y registró. La radiación absorbida fue directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra.

Se realizaron tres réplicas de cada lectura, y los resultados se analizaron estadísticamente, se obtuvo la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, y se utilizó como criterio de aceptación un coeficiente de variación menor al 2%.

Los resultados se evaluaron de acuerdo a los valores de los siguientes estándares tomados como referencia para caracterizar la calidad de sedimentos:

Tabla No. 5. Estándares Internacionales Tomados Como Referencia para Caracterizar la Calidad de los Sedimentos Muestreados

Parámetros	MEM (mg / Kg)	CEQG (mg / Kg)	The New Dutch List (mg / Kg)	
			Valor Objetivo	Valor de Intervención
Plomo	500	35	50	50
Cadmio	5	0.6	0.8	12
Cobre	100	---	36	190
Zinc	500	123	140	720

Fuente: Extraído de Domus 2008.

MEM: Guía Ambiental para la Restauración de Suelos en Instalaciones de Refinación y Producción Petrolera. Ministerio de Energía y Minas. Criterios de Restauración para Suelos R/PL-.Tierra Residencial / Área Verde.
CEQG: Canadian Environmental Quality Guidelines. Sediment Fresh Water. Interim Sediment Quality Guideline.
The New Dutch List: Valores objetivos y valores de intervención para calidad de suelos. Ministerio de Hacienda. Planeamiento Espacial y Medio Ambiente. Holanda. Soil Sediment.

7.3.2.6. Etapa VI: Evaluación de los niveles de nutrientes en las muestras de agua provenientes del lago, mediante el análisis y cuantificación de nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, temperatura ambiente, humedad del ambiente, temperatura del agua, pH del agua, oxígeno disuelto y conductividad.

Los parámetros nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales y demanda bioquímica de oxígeno, se analizaron de acuerdo a los procedimientos del "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (APHA, 1998). Para el efecto, se tomaron muestras de 1 L a la profundidad deseada, utilizando una botella de Van Dorn o Alfa de 1 L.

La temperatura, el pH, el oxígeno disuelto y la conductividad, se determinaron a 2 m de profundidad en el sitio de muestreo, utilizando las sondas respectivas.

Las lecturas se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron estadísticamente obteniendo la media, la

desviación estándar y el coeficiente de variación. Se utilizó como criterio de aceptación un coeficiente de variación menor al 2%.

Los resultados se evaluaron de acuerdo a los valores de los siguientes estándares tomados como referencia para caracterizar la calidad de las aguas superficiales:

Tabla No. 6. Estándares Internacionales Tomados Como Referencia para Caracterizar la Calidad de Aguas Superficiales

Parámetros	Dimensionales	D.S.-MINAM-C4	LGA VI	OMS	UE	EPA	GBC	CEQG	DIGESA
Nitritos	mg / L	----	----	----	----	----	----	----	1 ¹
Nitratos	mg / L	5	----	----	----	----	----	13	----
Fosfatos	mg / L	0.4	----	----	----	----	----	----	----
Sulfatos	mg / L	----	----	----	----	----	100	----	----
Dureza	mg / L	----	----	----	----	----	----	----	500 ²
Sólidos Totales	mg / L	Ausente	----	----	----	----	----	----	25 ³
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg / L	< 5	< 10	----	≤ 6	30	----	----	----
Temperatura	°C	----	----	----	----	----	----	----	15 – 35 ⁴
pH	Unidad	6.5 -8.5	----	----	6.0 -9.0	6.0 - 9.0	----	----	----
Oxígeno Disuelto	mg / L	≥ 5	4	----	≥ 8	----	----	----	----
Conductividad	µs / cm	----	----	----	----	----	----	----	1000 ⁵

Fuente: Extraído de Domus 2008 y DIGESA.

Ausente: No deben de estar presentes a concentraciones detectables por olor, que afecten a los organismos acuáticos comestibles, que puedan formar depósitos de sedimentos en las orilla o en el fondo, que puedan ser detectados como películas visibles en la superficie o que sean nocivos a los organismos acuáticos.

D.S.-MINAM-C4: Decreto Supremo No. 002-2008 del Ministerio del Medio Ambiente, Aguas, Categoría 4- conservación del Ambiente Acuático, Perú.

LGA VI: Ley General de Aguas, Aguas de Clase VI, Perú.

OMS: Organización Mundial de la Salud. Valores Guía para Aguas Superficiales.

UE: Unión Europea. Directiva 2006/44/CE Relativa a la calidad de aguas continentales que requieren de protección o mejoras para ser aptas para la vida de peces (Aguas Oprimícolas)

EPA: U.S. Environmental Protection Agency. EPA Recommended Ambient Water Quality Criteria. Aquatic Life Freshwater.

GBC: Government of British Columbia. Environmental Protection Division. British Columbia Approved Water Quality Guidelines 2006.

CEQG: Canadian Environmental Quality Guidelines. Water for Aquatic Life.

DIGESA: Dirección General de Salud Ambiental, Ministerio de Salud, Perú. Gesta Agua. Grupo de Estudio Técnico Ambiental. ¹EPA, ²EPA, ³Propuesta SUNASS. Agua para Consumo Humano. ⁴Legislación Canadiense. Agua para Consumo Humano. ⁵Comunidad Europea.

8. RESULTADOS.

A continuación se presentan en el Cuadro No. 1. y la Figura No. 1. los resultados obtenidos en la prueba realizada para detectar la presencia de alcaloides en la biomasa de *Lyngbya s.p.* cultivada en laboratorio, en la cual se utilizó como fase estacionaria una cromatoplaaca de sílica gel 60 F-254; como fase móvil, acetato de etilo: metanol: agua (50:7:5); como estándar una solución metanólica de papaverina 1% y quinidina 1%; para detección el derivatizante y reactivo de dragendorff. Se esperaba un resultado positivo para alcaloides si se observaban zonas café o naranja en la región visible, lo cual no ocurrió, ya que el estándar de papaverina, presenta 1 banda color naranja con un Rf de 0.84 y el estándar de quinidina presenta una banda color naranja con un Rf de 0.38, mientras que la muestra presenta bandas o zonas sin color y sin definición.

Cuadro No. 1. Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Alcaloides.

Analito	Cantidad de Bandas Observadas	Color	Rf
Dilución de la Muestra	-----	-----	-----
Estándar de Papaverina	1	Naranja	0.84
Estándar de Quinidina	1	Naranja	0.38

Fuente: Datos experimentales

Figura No. 1. Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Alcaloides.



Fuente: Datos experimentales

A continuación se presentan en el Cuadro No. 2. y Figura No. 2. los resultados obtenidos en la prueba realizada para detectar la presencia de saponinas en la biomasa de *Lyngbya s.p.* cultivada en laboratorio, en la cual se utilizó como fase estacionaria una cromatoplaaca de sílica gel 60 F-254; como fase móvil, cloroformo; como estándar una solución de diosgenina al 0.5% en metanol; para detección, vainillina-ácido sulfúrico. Se esperaba un resultado positivo para saponinas si se observaban zonas violeta, café-rojo, azul-verde, en la región visible. La muestra analizada presentó 4 bandas que pueden asociarse a la presencia de saponinas, las cuales se tornan café-rojo con un Rf de 0.12, azul-verde con un Rf de 0.26, azul-verde con un Rf de 0.39, café-rojo con un Rf de 0.91, respectivamente; lo cual es comparable con los resultados del estándar utilizado, el cual presenta una banda color azul-verde con un Rf de 0.18.

Cuadro No. 2. Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Saponinas.

Análito	Cantidad de Bandas Observadas	Color	Rf
Dilución de la Muestra	1	Café-Rojo	0.12
	2	Azul-Verde	0.26
	3	Azul-Verde	0.39
	4	Café-Rojo	0.91
Estándar de Diosgenina	1	Azul-Verde	0.18

Fuente: Datos experimentales

Figura No. 2. Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Saponinas.



Fuente: Datos experimentales

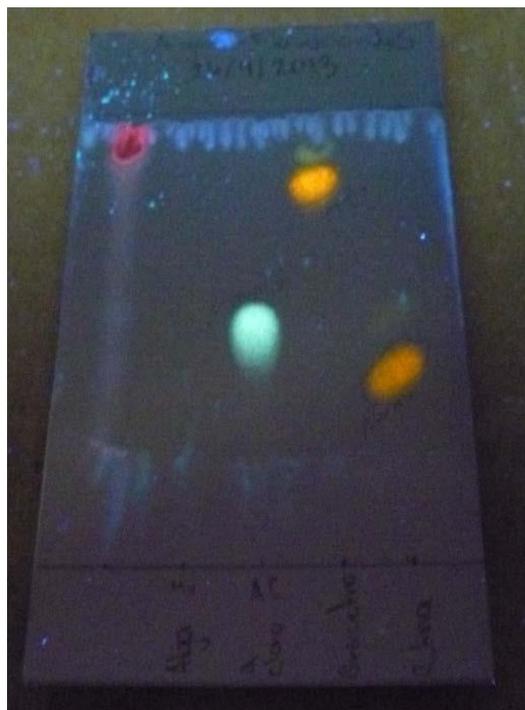
A continuación se presentan en el Cuadro No. 3. y la Figura No. 3. los resultados obtenidos en la prueba realizada para detectar la presencia de flavonoides en la biomasa de *Lyngbya s.p.* cultivada en laboratorio, en la cual se utilizó como fase estacionaria una cromatoplaaca de sílica gel 60 F-254; como fase móvil, acetato de etilo : ácido fórmico : ácido acético : agua (25:2:2:6); como estándar, una solución de rutina, ácido clorogénico, y quercetina, al 0.5% en metanol; para detección, reactivo NP 1% / PEG 1% y aplicación de vapores de amoniaco. Se esperaba un resultado positivo para flavonoides si se observaban zonas fluorescentes amarillo, azul o verde, en la región ultravioleta a una longitud de onda de 365nm. La muestra analizada presentó 3 bandas bien definidas, las bandas 1 y 3 de color rojo y violeta respectivamente, coinciden ligeramente con el color y el Rf de las bandas de los estándares de rutina y quercetina; así también se puede prestar atención especial a la banda número dos de la muestra, que es de color azul con un Rf de 0.65, siendo muy parecida a la banda obtenida para el estándar de ácido clorogénico, color azul con un Rf de 0.52.

Cuadro No. 3. Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Flavonoides.

Analito	Cantidad de Bandas Observadas	Color	Rf
Dilución de la Muestra	1	Rojo	0.95
	2	Azul	0.65
	3	Violeta	0.47
Estándar de Rutina	1	Amarillo	0.44
Estándar de Ácido Clorogénico	1	Azul	0.52
Estándar de quercetina	1	Amarillo	0.84

Fuente: Datos experimentales

Figura No. 3. Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Flavonoides.



Fuente: Datos experimentales

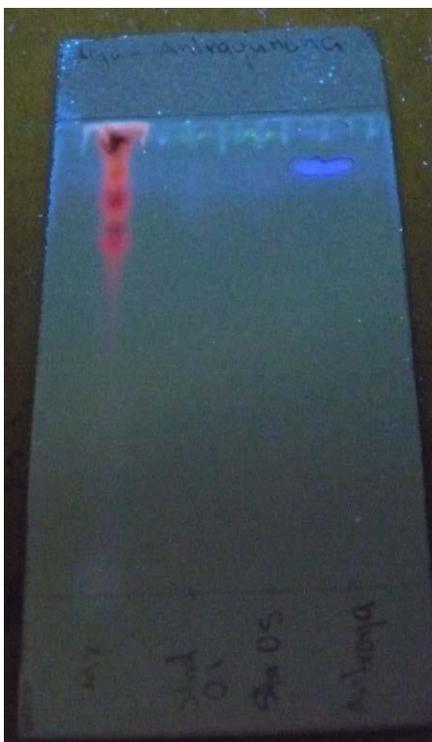
A continuación se presentan en el No. 4. y la Figura No. 4. los resultados obtenidos en la prueba realizada para detectar la presencia de antraquinonas en la biomasa de *Lyngbya s.p.* cultivada en laboratorio, en la cual se utilizó como fase estacionaria una cromatoplaca de sílica gel 60 F-254; como fase móvil, Acetato de etilo: Metanol: Agua (25:4:3); como estándar, una solución de : Antrona 0.5% en metanol; para detección, solución etanólica de hidróxido de potasio al 10%. Se esperaba un resultado positivo para antraquinonas si se observaban zonas rojas, zonas amarillas para antronas y antranolonas, en la región visible y ultravioleta a una longitud de onda de 365nm. En la muestra se observa la banda número 1 de color rojo con un Rf de 0.97, muy similar a la banda presentada por el estándar de antrona de color celeste y un Rf de 0.97. Probablemente difieren en los colores debido a que son de estructuras químicamente diferentes, pero muy parecidas en polaridad.

Cuadro No. 4. Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Antraquinonas.

Analito	Cantidad de Bandas Observadas	Color	Rf
Dilución de la Muestra	1	Rojo	0.97
	2	Amarillo	0.86
Estándar de Antrona 0.5 %	1	Amarillo	0.86
	2	Celeste	0.97

Fuente: Datos experimentales

Figura No. 4. Fotografía de Resultados de Cromatografía en Capa Fina en la Determinación de Antraquinonas.



Fuente: Datos experimentales

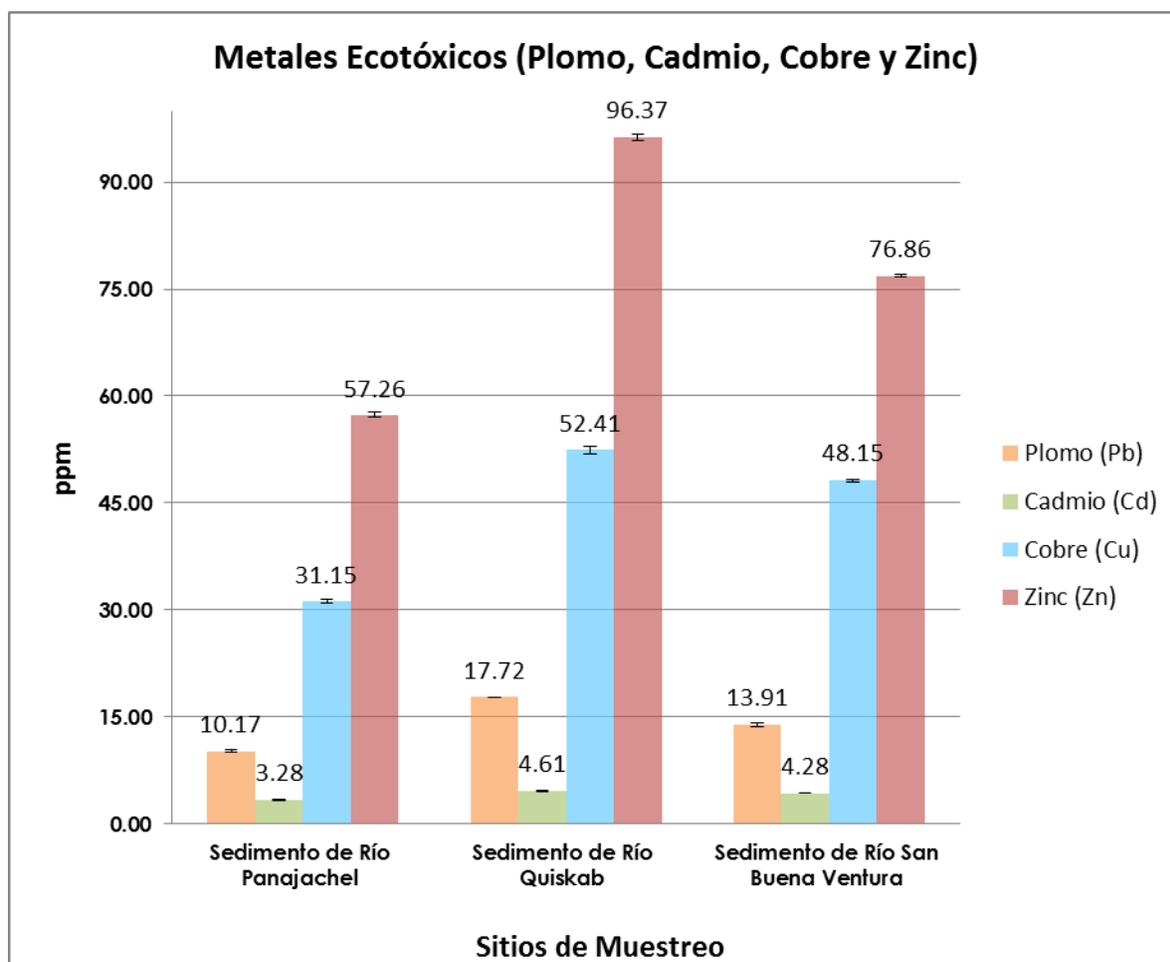
Cuadro No. 5. Resultados del Análisis de la Presencia de Metales Ecotóxicos Plomo, Cadmio, Cobre y Zinc, en Sedimentos Provenientes de Río Panajachel, Río Quiscab y Río San Buenaventura *

		Presencia de Plomo (Pb) (mg / Kg)	Presencia de Cadmio (Cd) (mg / Kg)	Presencia de Cobre (Cu) (mg / Kg)	Presencia de Zinc (Zn) (mg / Kg)
Río Panajachel	Media	10,16	3,28	31,15	57,26
	Des. Es.	0,1665	0,0400	0,2658	0,2511
	% CV	1,6380	1,22	0,85	0,44
Río Quiscab	Media	17,71	4,61	52,41	96,37
	Des. Es.	0,0764	0,0700	0,0902	0,5508
	% CV	0,4311	1,52	0,17	0,57
Río San Buena Ventura	Media	13,91	4,28	48,15	76,86
	Des. Es.	0,2390	0,0458	0,2359	0,2170
	% CV	1,7179	1,07	0,49	0,28

* **Fuente:** Datos experimentales (las mediciones se realizaron por triplicado. Ver Anexo 2).

Comentario: En el Cuadro No. 5. se presentan los resultados obtenidos en el análisis de la presencia de metales ecotóxicos en sedimentos provenientes de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura. Los resultados se compararon con los valores expuestos en la Tabla No. 5. Estándares Internacionales Tomados Como Referencia para Caracterizar la Calidad de los Sedimentos Muestreados, del numeral 7.3.2.5 de Materiales y Métodos.

Gráfica No. 1. Concentración de Metales Escotóxicos en el Sedimento Proveniente de Cada Uno de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura.



* *Fuente:* Datos experimentales (Ver cuadro No. 5 de Resultados).

Comentario: La Gráfica No. 1. muestra los resultados obtenidos en el análisis de la presencia de metales escotóxicos en sedimentos provenientes de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura. Según el Cuadro No. 5., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar, sin embargo, debido que las cantidades que se encontraron de cadmio son muy pequeñas, la desviación estándar no logra observarse con claridad. Las muestras analizadas de los tres ríos presentaron presencia positiva de plomo, cadmio, cobre y zinc. Los metales plomo, cobre y el zinc, no sobrepasan los valores estandarizados internacionalmente para sedimentos según la Tabla No. 5. del numeral 7.3.2.5. expuesto en materiales y métodos; sin embargo el metal cadmio sí sobrepasa el valor objetivo de la norma holandesa (0.8 mg / Kg), pero no sobrepasa el valor de intervención de la misma (12 mg / Kg). El río con mayor presencia de metales pesados es el Río Quiscab, seguido del Río San Buenaventura y finalmente el Río Panajachel.

Cuadro No. 6. Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitritos, Nitrógeno de Nitratos, Fosfatos, Sulfatos, Dureza, Sólidos Totales y Demanda Bioquímica de Oxígeno en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán en el Mes de Noviembre del Año 2012 *

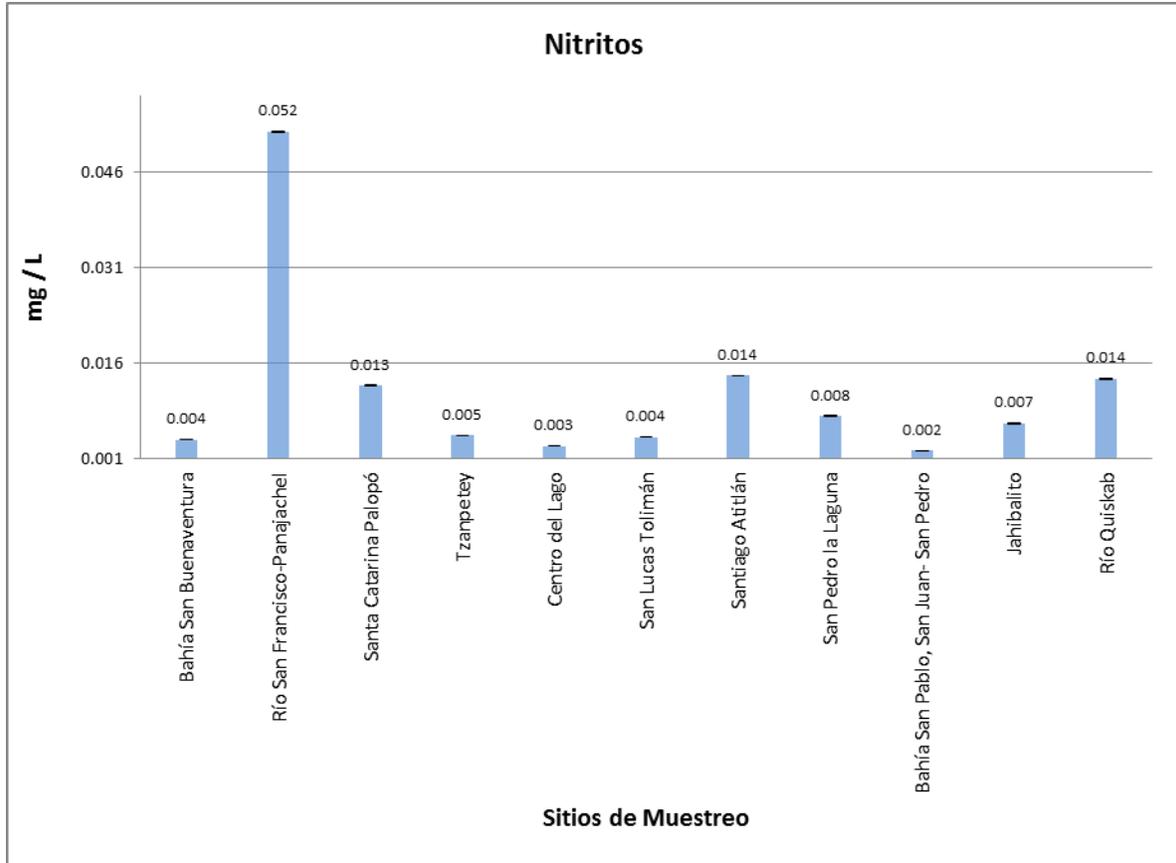
		Nitrógeno de Nitritos (mg / L)	Nitrógeno de Nitratos (mg / L)	Fósforo de Ortofosfatos (mg / L)	Sulfatos (mg / L)	Dureza (mg / L)	Sólidos Totales (mg / L)	DBO5 (mg / L)
Bahía San Buenaventura	Media	0,0040	0.21	0.04	50,23	173,45	300,33	1,18
	Des. Es.	0,0001	0,0003	0,0005	0,0255	0,1323	1,5275	0,0023
	% CV	1,4314	0.15	1.38	0,05	0,08	0,51	0,20
Río Quiscab	Media	0,0135	0.3645	0.08	50,40	162,58	267,33	0,55
	Des. Es.	0,0001	0,0003	0,0004	0,3368	0,1109	1,1547	0,0031
	% CV	0,4266	0.08	0.48	0,67	0,07	0,43	0,56
Centro del Lago	Media	0,0030	0.17	0.07	45,03	179,56	276,00	0,22
	Des. Es.	0,0001	0,0002	0,0005	0,0330	0,0676	2,6458	0,0035
	% CV	1,9034	0.14	0.68	0,07	0,04	0,96	1,56
Jaibalito	Media	0,0065	0.26	0.11	49,58	150,24	277,33	0,78
	Des. Es.	0,0001	0,0001	0,0002	0,1119	0,3144	2,5166	0,0090
	% CV	0,8837	0.05	0.14	0,23	0,21	0,91	1,15
Bahía San Pablo, San Juan- San Pedro	Media	0,0023	0.39	0.08	40,84	168,80	262,00	0,67
	Des. Es.	0,0001	0,0003	0,0002	0,1593	0,2585	1,7321	0,0075
	% CV	2,5471	0.07	0.24	0,39	0,15	0,66	1,12
San Pedro la Laguna	Media	0,0077	0.22	0.06	41,41	160,04	261,33	1,74
	Des. Es.	0,0001	0,0008	0,0002	0,1174	0,0125	2,3094	0,0042
	% CV	1,5061	0.35	0.40	0,28	0,01	0,88	0,24
Santiago Atitlán	Media	0,0141	0.28	0.09	51,20	180,56	263,33	1,98
	Des. Es.	0,000	0,000	0,000	0,063	0,011	0,577	0,004
	% CV	0,4104	0.08	0.53	0,12	0,01	0,22	0,19
San Lucas Tolimán	Media	0,0044	0.22	0.07	51,58	175,24	284,00	0,73
	Des. Es.	0,0000	0,0002	0,0001	0,0624	0,0343	1,7321	0,0062
	% CV	0,6536	0.10	0.15	0,12	0,02	0,61	0,86
Tzanpetey	Media	0,0047	0.24	0.05	42,15	164,26	284,67	0,62
	Des. Es.	0,0001	0,0004	0,0003	0,0153	0,3384	1,5275	0,0122
	% CV	1,2372	0.16	0.49	0,04	0,21	0,54	1,95
Santa Catarina Palopó	Media	0,0125	0.28	0.10	43,74	144,59	323,67	1,62
	Des. Es.	0,0001	0,0001	0,0006	0,0404	0,1102	1,5275	0,0216
	% CV	0,8000	0.02	0.59	0,09	0,08	0,47	1,33
Río San Francisco-Panajachel	Media	0,0523	0.37	0.08	51,95	183,73	294,67	2,53
	Des. Es.	0,0001	0,0011	0,0008	0,0126	0,0243	0,5774	0,0361
	% CV	0,1105	0.31	0.92	0,02	0,01	0,20	1,43

* *Fuente:* Datos experimentales. (Las mediciones se realizaron por triplicado. Ver Anexo 3).

Comentario: En el Cuadro No. 6. se presentan los resultados de la evaluación de los niveles de nutrientes en las muestras de agua provenientes de once sitios de muestreo del Lago de Atitlán (Ver Anexo 1), siendo estos nitrógeno de nitritos, nitrógeno de nitratos, fósforo de ortofosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales y demanda bioquímica de oxígeno. Los resultados se compararon con los valores expuestos en la Tabla No. 6. Estándares Internacionales Tomados Como Referencia Para Caracterizar la Calidad de Aguas Superficiales, del numeral 7.3.2.6 de Materiales y Métodos; utilizando como criterio de evaluación para cada parámetro los valores más restringidos.

Gráfica No. 2. Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitritos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán *

(Valor Estándar 1 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

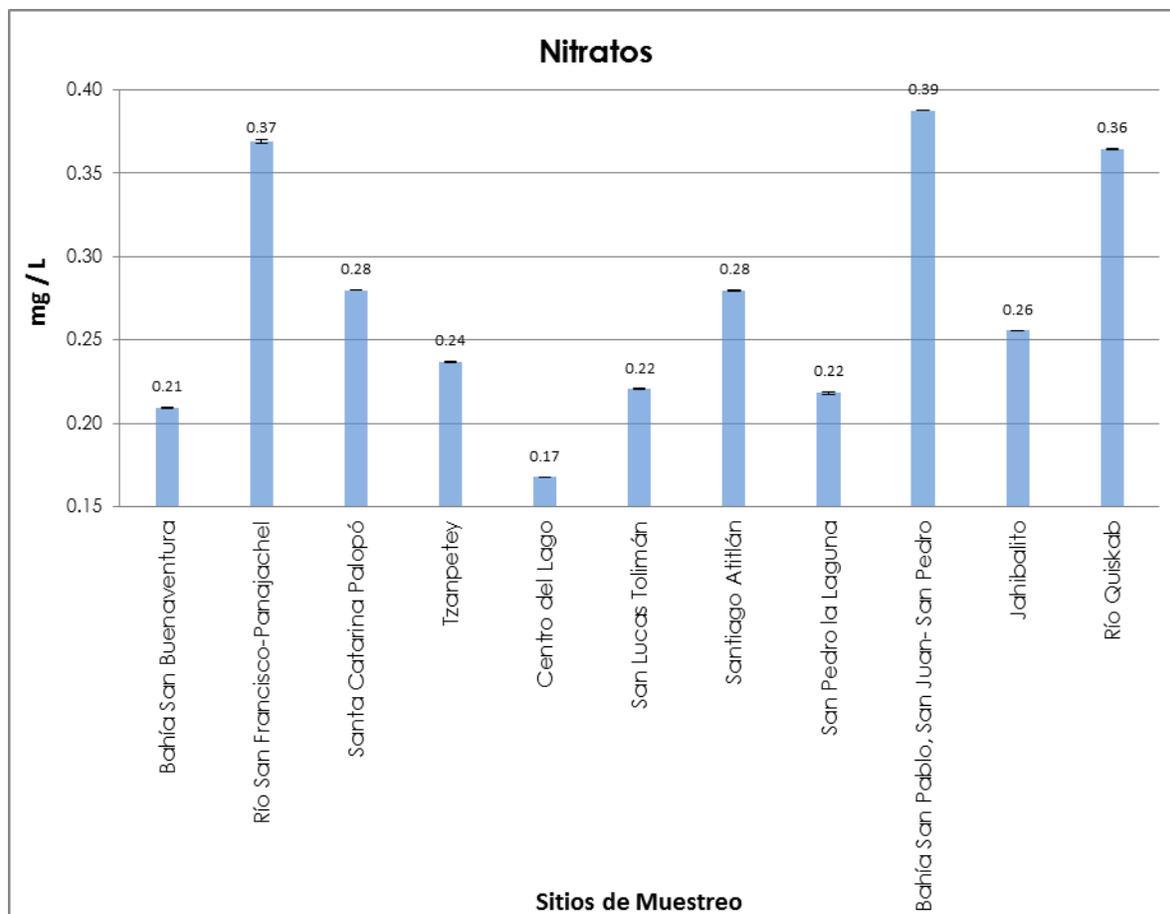


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 2. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de nitrógeno de nitritos en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar, sin embargo, debido a que las cantidades que se encontraron de nitritos son muy pequeñas, la desviación estándar no logra observarse con claridad. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar de 1 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 3. Determinación de los Niveles de Nitrógeno de Nitratos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar 5 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

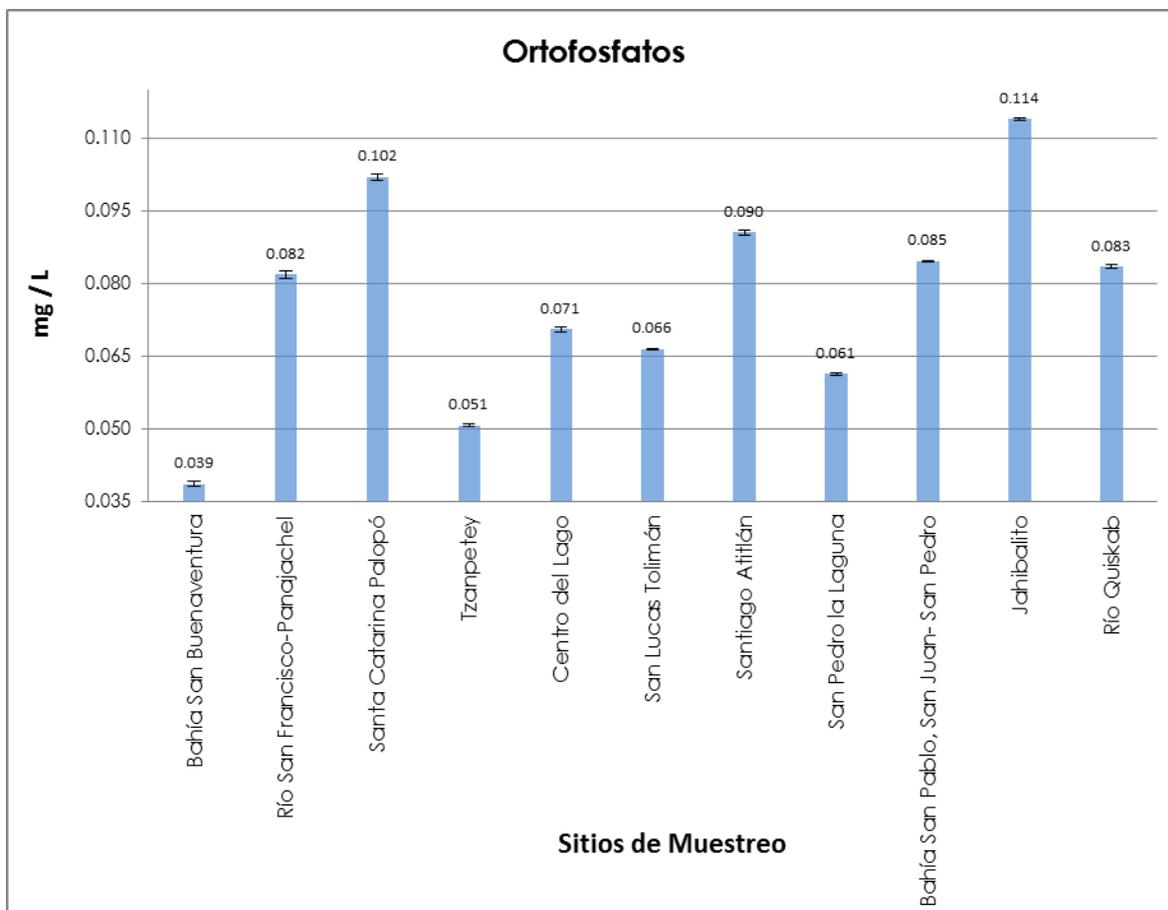


* *Fuente:* Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 3. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de nitrógeno de nitratos en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar, sin embargo, debido a que las cantidades que se encontraron de nitratos son muy pequeñas, la desviación estándar no logra observarse con claridad. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar de 5 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 4. Determinación de los Niveles de Fósforo de Ortofosfatos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar 0.4 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

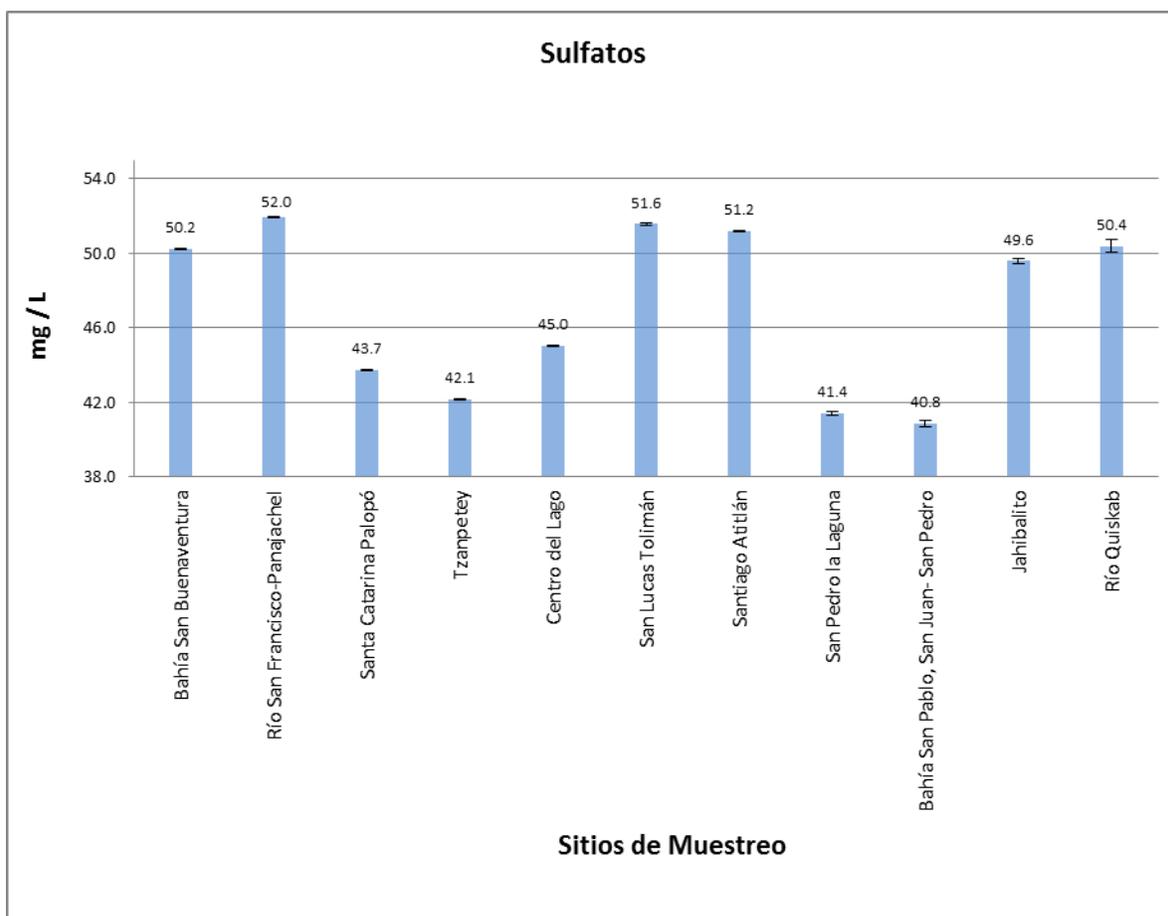


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 4. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de fósforo de ortofosfatos en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar de 0.4 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 5. Determinación de los Niveles de Sulfatos (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar 100 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

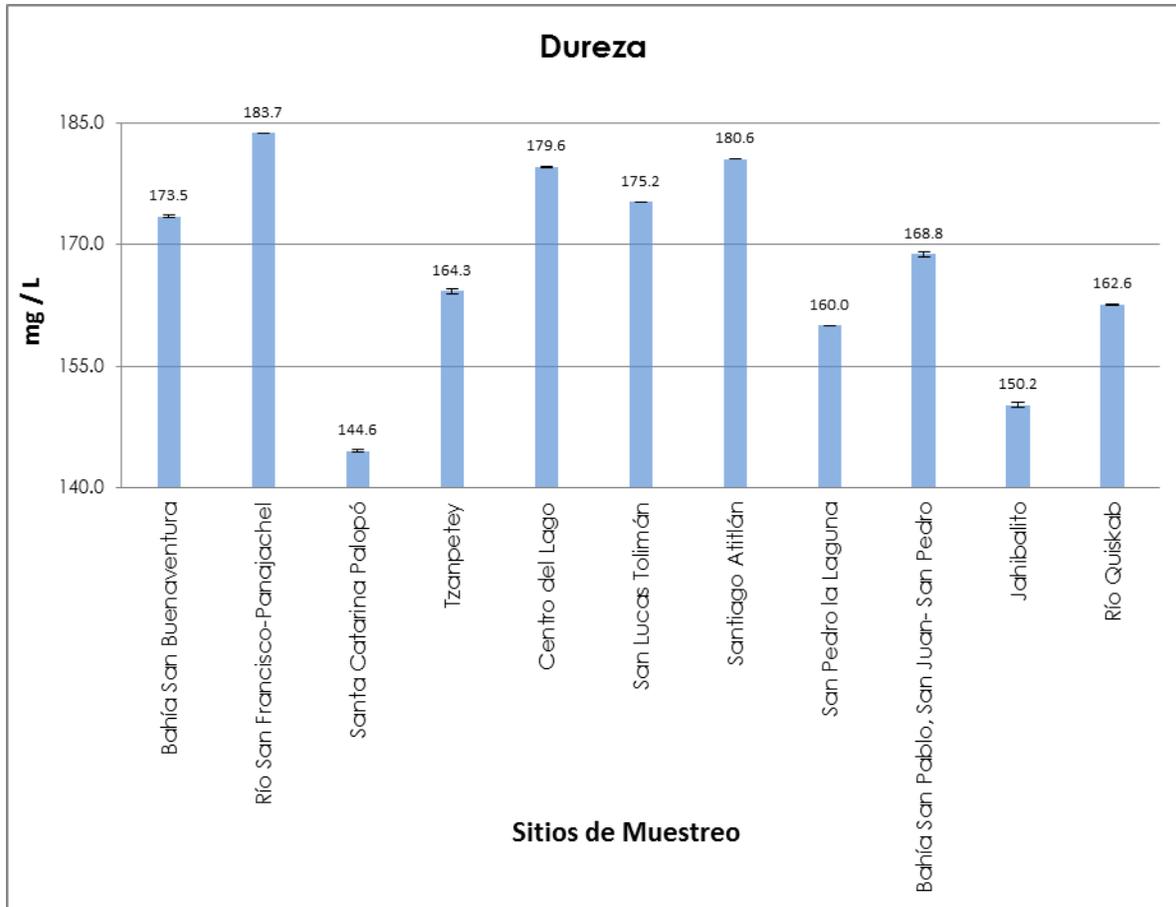


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 5. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de sulfatos en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar de 100 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 6. Determinación de los Niveles de Dureza (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar 500 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

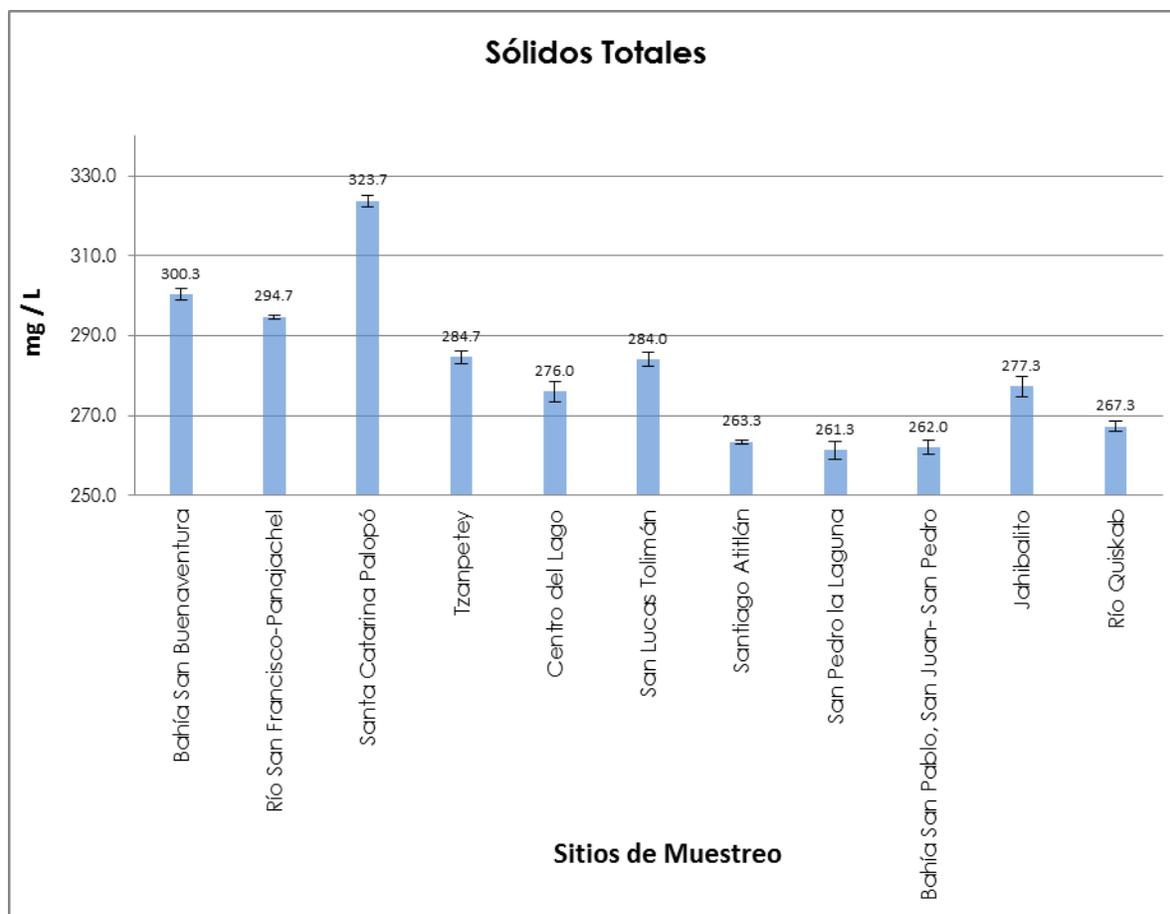


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 6. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de dureza en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar de 500 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 7. Determinación de los Niveles de Sólidos Totales (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar Ausente ó 25 mg / L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

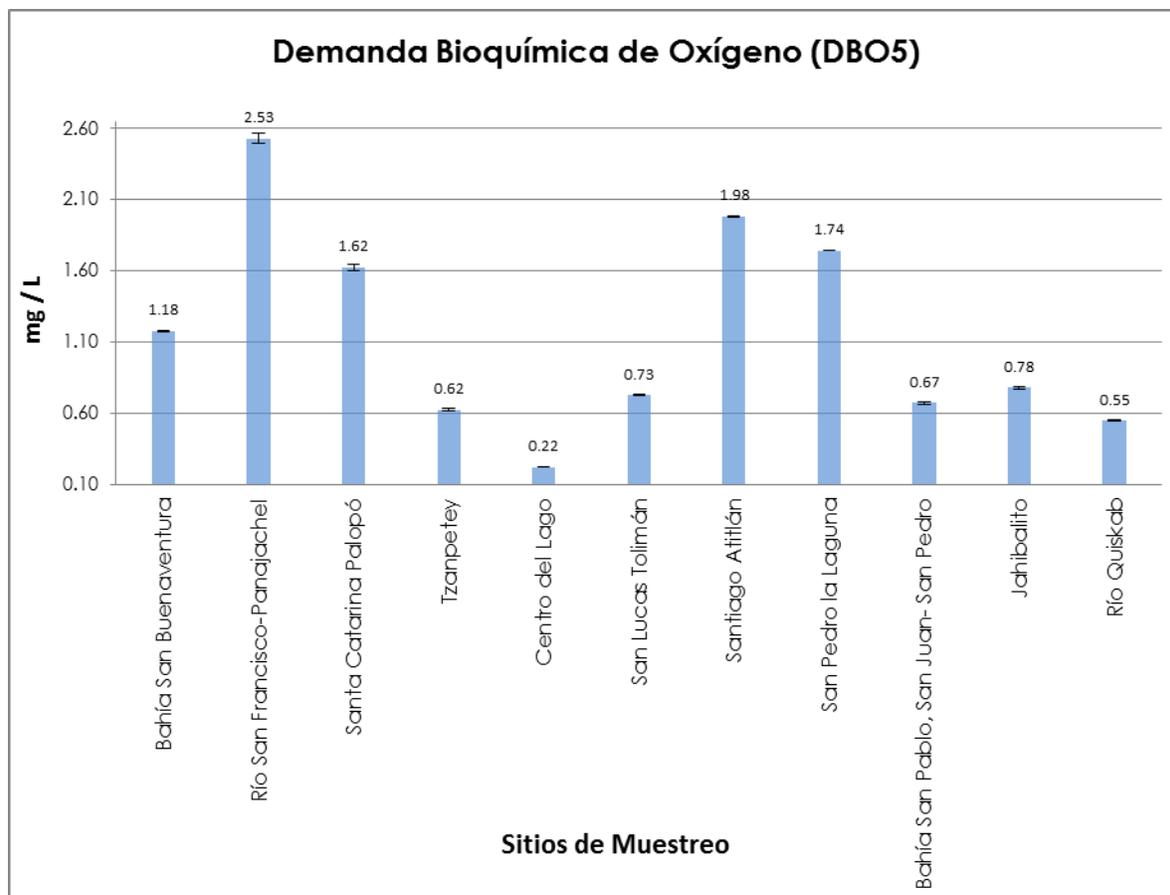


***Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 7. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de sólidos totales en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que todos los sitios de muestreo sobrepasan el valor estándar de Ausente o 25 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 8. Determinación de los Niveles de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) (mg / L) en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán*

(Valor Estándar < 5 mg /L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)



* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 6 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 8. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de demanda bioquímica de oxígeno en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 6., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar < 5 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Cuadro No. 7. Determinación *In situ* de los Parámetros Físicoquímicos Principales de Muestras de Agua de 11 Sitios de Muestreo en el Lago de Atitlán en el Mes de Noviembre del Año 2012 *
(Temperatura del Agua, pH del Agua, Oxígeno Disuelto (O₂) y Conductividad)

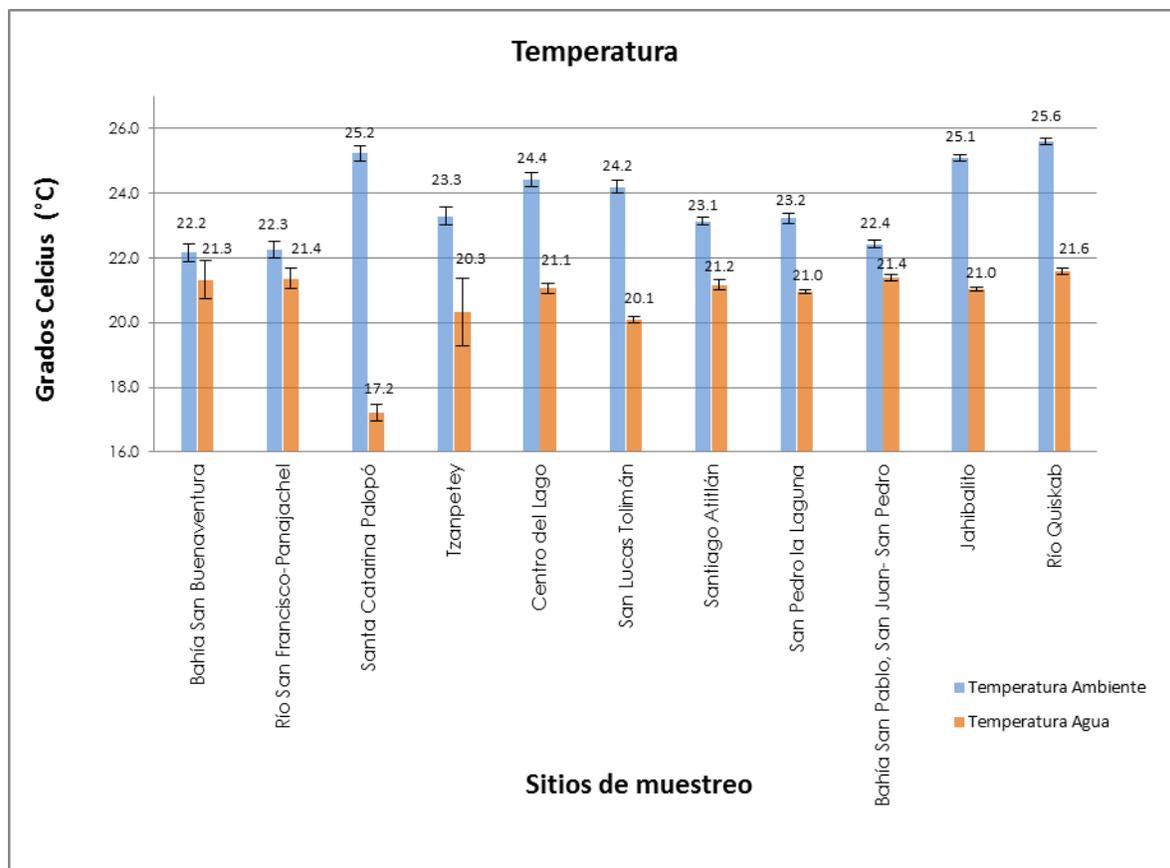
		Temperatura del Ambiente (°C)	% Humedad del Ambiente	Temperatura de la Muestra de Agua (°C)	pH de la Muestra de Agua	O ₂ Disuelto (mg/L)	Conductividad (µS/cm)
Bahía San Buenaventura	Media	22,17	45,03	21,33	8,57	6,77	460,67
	Des. Es.	0,29	0,06	0,58	0,21	0,12	1,15
	% CV	1,30	0,13	2,71	2,43	1,71	0,25
Río Quiscab	Media	25,60	41,06	21,60	8,55	6,39	471,00
	Des. Es.	0,10	0,05	0,10	0,04	0,02	2,65
	% CV	0,39	0,12	0,46	0,49	0,36	0,56
Centro del Lago	Media	24,43	51,27	21,07	8,45	6,11	473,33
	Des. Es.	0,21	0,06	0,15	0,14	0,09	3,06
	% CV	0,85	0,11	0,73	1,61	1,52	0,65
Jaibalito	Media	25,10	45,57	21,03	8,43	6,51	476,67
	Des. Es.	0,10	0,06	0,06	0,06	0,01	0,58
	% CV	0,40	0,13	0,27	0,68	0,18	0,12
Bahía San Pablo, San Juan- San Pedro	Media	22,43	55,37	21,40	8,54	6,35	475,67
	Des. Es.	0,12	0,06	0,10	0,06	0,03	2,08
	% CV	0,51	0,10	0,47	0,65	0,40	0,44
San Pedro la Laguna	Media	23,23	50,07	20,97	8,40	6,61	461,33
	Des. Es.	0,15	0,06	0,06	0,10	0,02	1,15
	% CV	0,66	0,12	0,28	1,19	0,26	0,25
Santiago Atitlán	Media	23,14	45,52	21,17	8,57	6,56	474,00
	Des. Es.	0,12	0,03	0,15	0,06	0,05	1,73
	% CV	0,51	0,06	0,72	0,75	0,75	0,37
San Lucas Tolimán	Media	24,20	47,03	20,10	7,98	6,72	448,00
	Des. Es.	0,20	0,06	0,10	0,07	0,02	2,00
	% CV	0,83	0,12	0,50	0,85	0,31	0,45
Tzanpetey	Media	23,30	47,97	20,33	8,47	6,33	420,33
	Des. Es.	0,26	0,06	1,04	0,06	0,07	1,53
	% CV	1,14	0,12	5,12	0,68	1,11	0,36
Santa Catarina Palopó	Media	25,23	38,77	17,23	8,01	6,53	400,67
	Des. Es.	0,25	0,06	0,25	0,10	0,03	1,15
	% CV	1,00	0,15	1,46	1,28	0,47	0,29
Río San Francisco- Panajachel	Media	22,27	47,07	21,37	8,41	5,85	472,67
	Des. Es.	0,25	0,06	0,32	0,10	0,10	1,15
	% CV	1,13	0,12	1,50	1,21	1,63	0,24

* **Fuente:** Datos experimentales. (Las mediciones se realizaron por triplicado. Ver Anexo 4).

Comentario: En el Cuadro. No. 7. se muestran los resultados de la evaluación de los parámetros físicoquímicos en las muestras de agua provenientes de once sitios de muestreo del Lago de Atitlán (Ver Anexo 1), siendo estos temperatura del agua, pH del agua, oxígeno disuelto y conductividad. Los resultados se compararon con los valores expuestos en la Tabla No. 6. Estándares Internacionales Tomados Como Referencia Para Caracterizar la Calidad de Aguas Superficiales, del numeral 7.3.2.6 de Materiales y Métodos; utilizando como criterio de evaluación para cada parámetro los valores más restringidos.

Gráfica No. 9. Determinación *In situ* de la Temperatura del Agua de 11 sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (°C) *

(Valor Estándar 15 °C. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

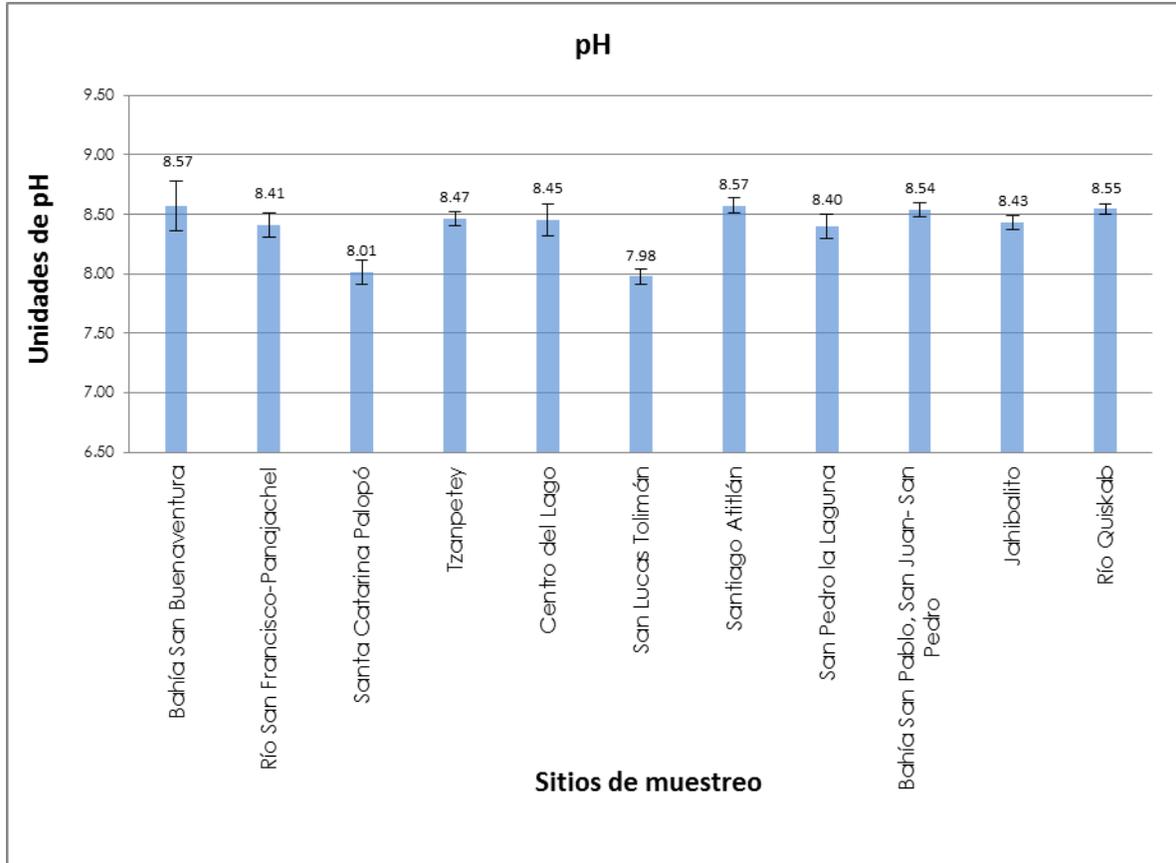


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 7 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 9. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de temperatura en grados Celsius. Según el Cuadro No. 7., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que todos los sitios de muestreo sobrepasan el valor estándar 15 °C, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos. Debido probablemente a las temperaturas del ambiente y las humedades del ambiente mostradas en el cuadro No. 7. de resultados.

Gráfica No. 10. Determinación *In situ* del pH del Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán *

(Valor Estándar 6.5 – 8.5 Unidades. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

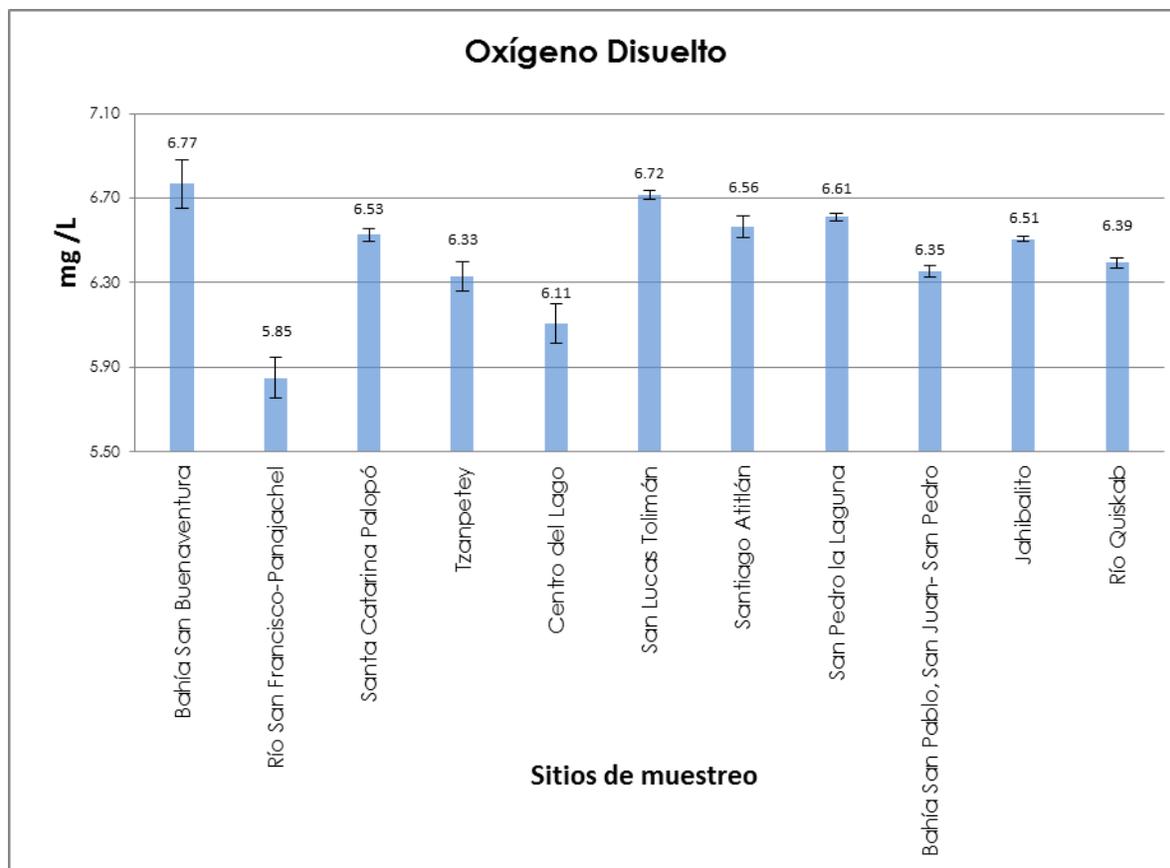


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 7 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 10. se muestran los resultados obtenidos en la determinación del pH en Unidades de pH. Según el Cuadro No. 7., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el rango estándar de 6.5 – 8.5 unidades, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 11. Determinación *In situ* de O₂ Disuelto en el Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (mg / L) *

(Valor Estándar ≥ 4 mg / L. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)

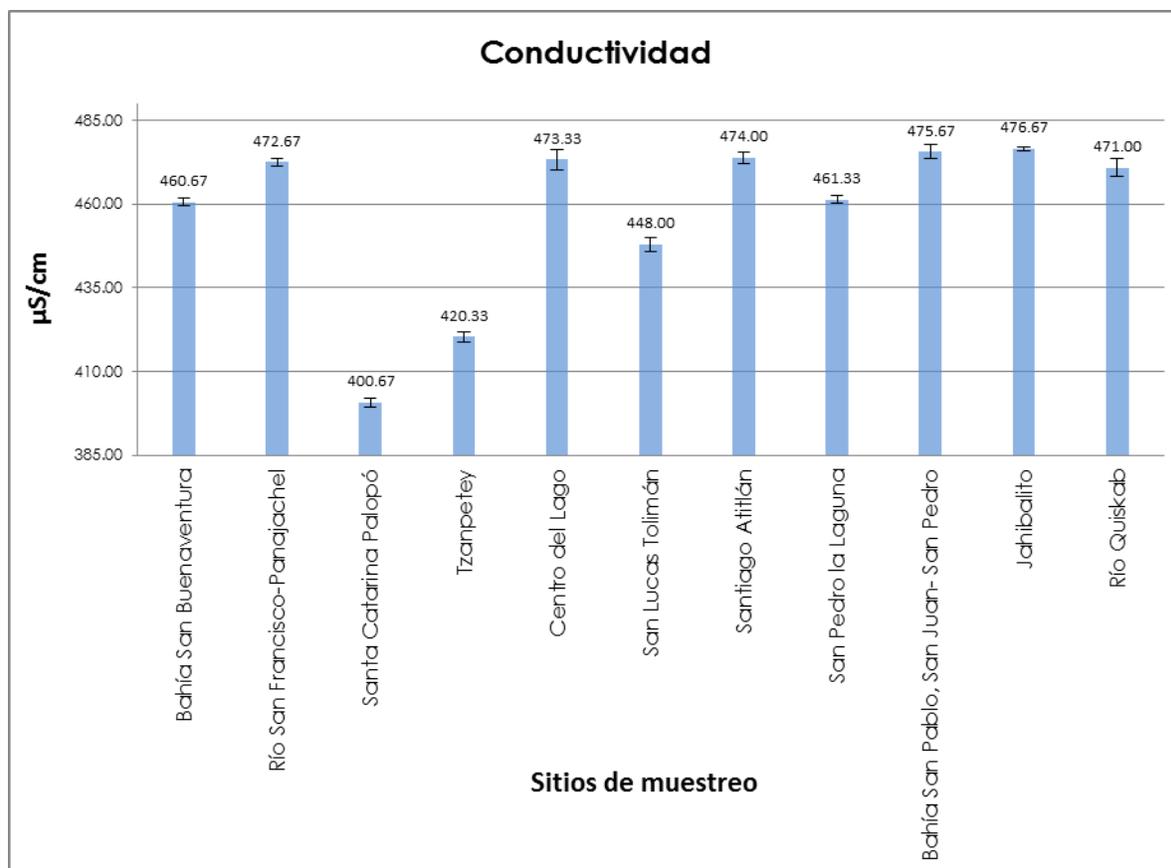


* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 7 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 11. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de oxígeno disuelto en miligramos por litro. Según el Cuadro No. 7., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo se encuentra por debajo del valor estándar ≥ 4 mg / L, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

Gráfica No. 12. Determinación *In situ* de la Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) del agua de 11 sitios de muestreo del Lago de Atitlán *

(Valor Estándar 1000 $\mu\text{s} / \text{cm}$. Ver Tabla No. 6. Numeral 7.3.2.6.)



* **Fuente:** Datos experimentales (Ver cuadro No. 7 de Resultados).

Comentario: En la Gráfica No. 12. se muestran los resultados obtenidos en la determinación de los niveles de conductividad en microsiemen por centímetro. Según el Cuadro No. 7., se graficó la media obtenida de las lecturas realizadas por triplicado a las muestras analizadas, mediante gráfico de columnas con barras de error, en las cuales se presenta la desviación estándar. Se puede observar que ninguno de los sitios de muestreo sobrepasa el valor estándar 1000 $\mu\text{s} / \text{cm}$, permitido para aguas superficiales en las normativas presentadas en la Tabla No. 6. del numeral 7.3.2.6. de materiales y métodos.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

9.1. Análisis de metabolitos secundarios:

Según se puede observar en el Cuadro No. 1. y la Figura No. 1. de resultados, la muestra analizada, no presenta bandas color naranja o café en la región visible después de aplicar el derivatizante Dragendorff, observando únicamente bandas no definidas con un Rf cercano al estándar de papaverina y de un color no definido. Lo cual no coincide con los resultados de los estándares, ya que el estándar de papaverina, sí presenta 1 banda color naranja con un Rf de 0.84 y el estándar de quinidina también presenta una banda color naranja con un Rf de 0.38. Por lo que se puede inferir que no existe presencia de alcaloides en el extracto analizado.

En el Cuadro No. 2. y la Figura No. 2. de resultados, la muestra analizada sí presenta 4 bandas que pueden asociarse a la presencia de saponinas, las cuales se tornan café-rojo con un Rf de 0.12, azul-verde con un Rf de 0.26, azul-verde con un Rf de 0.39, café-rojo con un Rf de 0.91, respectivamente; lo cual es comparable con los resultados del estándar de diosgenina utilizado, el cual presenta una banda color azul-verde con un Rf de 0.18. Es probable que las diferencias entre los Rf tanto de los compuestos presentes en el extracto analizado como del estándar, se deba a la diferencia en las estructuras químicas de los mismos y su polaridad correspondiente. Por todo lo anterior se puede observar que sí existe presencia de saponinas en el extracto analizado.

En el Cuadro No. 3. y la Figura No. 3. de resultados, se puede observar que la muestra analizada, presenta 3 bandas de diferentes colores bien definidas complementadas con una serie de bandas de diferentes colores que no se encuentran muy bien definidas, pero que coinciden ligeramente con el color y el Rf de los estándares rutina y quercetina, por lo que sí pueden asociarse a la presencia positiva de flavonoides; así también de las tres bandas bien definidas observadas en la muestra, se puede prestar atención especial a la banda número dos de color azul con un Rf de 0.65, ya que se puede comparar con la

banda obtenida para el estándar de ácido clorogénico, color azul con un Rf de 0.52, por lo que es probable que la estructura química de ese flavonoide sea muy parecida a la estructura química del ácido clorogénico. De acuerdo a los resultados, se puede inferir que sí existe presencia de flavonoides en el extracto analizado.

Según se observa el Cuadro No. 4. y la Figura No. 4. de resultados, se puede analizar que la muestra, según la literatura, sí demuestra presencia de antraquinonas, ya que estas se caracterizan por un color rojo intenso, el cual se define claramente en la banda número 1 con un Rf de 0.97, que se comprueba y se compara con el estándar de antrona, banda color celeste, con un Rf de 0.97. Probablemente difieren en los colores debido a que son de estructuras químicamente diferentes, pero muy parecidas en polaridad.

Según lo descrito anteriormente no se encontró evidencia en el tamizaje fitoquímico, de la presencia de alcaloides en el extracto analizado. Sin embargo de acuerdo con los antecedentes, se debe tomar en cuenta que las saxitoxinas se encuentran sustituidas en su estructura química por carbamatos, a los cuales deben su toxicidad y que frecuentemente son utilizados en plaguicidas y herbicidas, y los cuales pueden descomponerse al calor con o sin catalizadores presentes.

En el presente estudio, no se realizó el análisis de cianotoxinas producidas por *Lyngbya, sp.* únicamente se analizaron metabolitos secundarios, ya que no se obtuvo suficiente biomasa para realizar el estudio y no se lograron alcanzar los límites de detección correspondientes, además, no se encontró presencia de alcaloides.

9.2. Análisis de metales ecotóxicos:

En el análisis de la presencia de metales ecotóxicos en sedimentos provenientes de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura, se puede observar en el Cuadro No. 5. y la Gráfica No. 1. que los sedimentos provenientes de los tres ríos

establecidos como puntos de muestreo, presentan plomo, cadmio, cobre y zinc. Sin embargo, el plomo, el cobre y el zinc, no sobrepasan los valores estandarizados internacionalmente para sedimentos según la Tabla No. 5. del numeral 7.3.2.6. expuesto en materiales y métodos; únicamente el cadmio sobrepasa el valor objetivo de la norma holandesa (0.8 mg / Kg), pero no sobrepasa el valor de intervención de la misma norma (12 mg / Kg). También se puede observar que el río con mayor presencia de metales pesados es el Río Quiscab, seguido del Río San Buenaventura y finalmente el Río Panajachel.

En los estudios previos a este, se encontraron niveles elevados de plomo, cadmio, cromo y zinc en sedimentos y en plantas acuáticas, indicando que existe biomagnificación en el ecosistema, por otra parte, en el estudio se encontró que existen niveles de plomo en músculo de peces del lago, por lo que es importante continuar monitoreando la contaminación por metales en el lago a largo plazo, para evaluar si los niveles de metales en agua y peces continúan incrementándose (Oliva *et. al.*, 2010).

Probablemente la contaminación por metales pesados en el lago se debe al uso de fertilizantes agrícolas, plaguicidas, jabones y detergentes, tintas para textiles, aceites, lubricantes y combustibles. Los niveles de contaminación por plomo, cadmio, cobre y zinc en los sedimentos analizados, no se consideran alarmantes, sin embargo sí existen riesgos, ya que estos metales pesados no son biodegradables y tienen potencial de bioacumulación en los organismos vivos; por lo que pueden llegar a desarrollar intoxicaciones de tipo crónico con eventos finales agudos (Pro-Lago, 2005).

9.3. Análisis de nutrientes en el agua:

Finalmente, también se obtuvieron los resultados de la evaluación de los niveles de nutrientes y otros parámetros fisicoquímicos en las muestras de agua provenientes de los once sitios de muestreo establecidos (Ver Anexo 1), mediante el análisis y determinación de nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, dureza, sólidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, temperatura del agua, pH del agua,

oxígeno disuelto y conductividad. Los resultados se compararon con los valores expuestos en la Tabla No. 5. Estándares Internacionales tomados como referencia para caracterizar la calidad de aguas superficiales, del numeral 7.3.2.7 de Materiales y Métodos; utilizando como criterio de evaluación para cada parámetro los valores más restringidos.

De acuerdo a lo anterior, en el Cuadro No. 6. y las Gráficas No. 2, 3, 4, 5, 6 y 8. El nitrógeno de nitritos, el nitrógeno de nitratos, fósforo de ortofosfatos, los niveles de sulfatos, los niveles de dureza y los niveles de demanda bioquímica de oxígeno, se encuentran presentes en cantidades aceptables en los once puntos de muestreo, de acuerdo a los valores tomados como referencia. En el Cuadro No. 7. y las Gráficas No. 11 y 12, se presentan los niveles de oxígeno disuelto y conductividad, los cuales se encuentran en niveles aceptables en los once puntos de muestreo, de acuerdo a los valores tomados como referencia. Por lo anterior se puede decir que la calidad del agua del Lago de Atitlán, es en general bastante buena, como se menciona en estudios realizados anteriormente por otras entidades (Castellanos, 2009).

Según los estudios realizados anteriormente en el Lago de Atitlán mencionados en el numeral 3.2 de Antecedentes de este trabajo de investigación, los niveles encontrados de nitrógeno son similares, ya que en ellos se describen concentraciones bajas de nitrógeno de nitritos, en su totalidad, menores a 0.010 mg/L, como consecuencia de la oxigenación del agua del lago, por lo que al igual que en estudios previos, se considera que Lago de Atitlán no presenta contaminación importante por nitritos. Con respecto al nitrógeno de nitratos, en el presente estudio se puede observar que los niveles más altos se encuentran en los sitios de muestreo cercanos a las mayores poblaciones (Panajachel, Santiago, San Lucas), lo cual concuerda con los resultados del estudio Oliva et. al. (2010). En cuanto a los valores obtenidos para conductividad, se puede decir que se encuentran en el rango de los observados en 2009 en otro estudio de la calidad del agua del Lago de Atitlán, cuando en el mes de octubre se observó un valor promedio mínimo promedio de 432 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Oliva et al., 2010). Respecto a los

valores de oxígeno disuelto encontrados en el presente estudio, los resultados son similares a los obtenidos en el estudio realizado en el 2009 Oliva et. al., en el cual se encontraron niveles de oxigenación del agua superficial en el Lago de Atitlán apropiados para la vida acuática.

Sin embargo, en el Cuadro No. 6. y la Gráfica No. 7. Los niveles de sólidos totales, se encuentran en cantidades bastante elevadas, con valores muy por encima de los tomados como referencia para evaluar los mismos en aguas superficiales, lo cual se puede observar de igual forma en los once puntos de muestreo evaluados (Sólidos totales: Ausente o 25 mg /L). Los valores encontrados en este estudio son similares a los observados en octubre de 2009 (216 mg/L) por Oliva et al., cuando se observaron los menores valores de dicho estudio, por la dilución correspondiente a la época lluviosa.

Comúnmente los sólidos en suspensión o sólidos totales son productos de la erosión de los suelos, detritus orgánico y plancton. Algunos sólidos suspendidos, tales como limo, arena y virus, son generalmente responsables de impurezas visibles. La materia suspendida consiste en partículas muy pequeñas, que no se pueden quitar por medio de deposición (DIGESA). Es probable que los niveles de sólidos totales se encuentren tan elevados debido a lo antes mencionado, o también debido a la presencia y contaminación por bacterias, como se ha descrito en trabajos de investigación realizados anteriormente por otras entidades (Castellanos, 2009).

En el Cuadro No. 7. y las Gráficas No. 9 y 10. La temperatura se encuentra dentro del rango establecido para su evaluación. Así también el pH para la mayor parte de los puntos de muestreo, se encuentra muy cerca del límite superior tomado como referencia (6.5 - 8.5), sin embargo según otras normativas el pH puede encontrarse entre 6.0 - 9.0 para aguas superficiales, por lo que de acuerdo con estos valores, el pH se encuentra en un valor aceptable, a pesar de ser un pH básico que puede favorecer la precipitación de metales pesados y fosfatos, según se menciona en el estudio realizado en el 2009 por Oliva, et. al.

10. CONCLUSIONES.

- 10.1. Se logró aislar y cultivar *Lyngbya*, sp. en el laboratorio, en recipientes cerrados herméticamente, con un fotoperíodo de 4 horas, sin aireación. Siendo un punto crítico el nivel óptimo de oxígeno-dióxido de carbono, para evitar el desarrollo de otros microorganismos, ya que el medio de cultivo usado no era selectivo.
- 10.2. La cianobacteria *Lyngbya* sp. presenta: flavonoides, saponinas y antraquinonas, mientras que no se encontró presencia de alcaloides.
- 10.3. Los sedimentos provenientes de los ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura, contienen la presencia de los metales pesados plomo, cadmio, cobre y zinc.
- 10.4. Los metales ecotóxicos en estudio, plomo, cobre y zinc, presentes en los sedimentos de los ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura, no sobrepasan los valores estandarizados internacionalmente para sedimentos, únicamente el cadmio sobrepasa el valor objetivo de la norma holandesa (0.8 mg / Kg), pero no sobrepasa el valor de intervención de la misma norma (12 mg / Kg).
- 10.5. El río con mayor presencia de metales pesados es el Río Quiscab, seguido del Río San Buenaventura y finalmente el Río Panajachel.
- 10.6. El nitrógeno de nitritos, el nitrógeno de nitratos, el fósforo de ortofosfatos, los niveles de sulfatos, los niveles de dureza, los niveles de demanda bioquímica de oxígeno y el nivel de oxígeno disuelto, se encuentran presentes en cantidades aceptables de acuerdo a los valores de diferentes normas para aguas superficiales.

- 10.7. La conductividad se encuentra en un nivel aceptable en los once puntos de muestreo, de acuerdo al valor tomado como referencia.
- 10.8. La calidad del agua del Lago de Atitlán, durante noviembre del año 2012, se considera en general bastante buena, aunque, los niveles de sólidos totales, se encuentran en cantidades elevadas, con valores muy por encima de los tomados como referencia para evaluar los mismos en aguas superficiales, lo cual se puede observar de igual forma en los once puntos de muestreo evaluados.

11. RECOMENDACIONES.

- 11.1. Debido a que no se encontró evidencia en el tamizaje fitoquímico de la presencia de alcaloides en el extracto analizado, se recomienda que en estudios posteriores se realicen análisis tomando en cuenta una fuente de carbamatos, ya que las cianotoxinas documentadas en el género *Lyngbya*, sp. han sido generalmente alcaloides de tipo carbamato llamadas saxitoxinas, las cuales se encuentran sustituidas en su estructura química por los mismos, a los cuales deben su toxicidad y por lo cual frecuentemente son utilizados en plaguicidas y herbicidas, sin embargo pueden descomponerse fácilmente.
- 11.2. Se recomienda también realizar las gestiones correspondientes para intentar realizar estudios de determinación de cianotoxinas, mediante metodologías como lo son cromatografía líquida de alta resolución con detección por fluorescencia y reacciones de derivatización, electroforesis capilar, métodos ELISA o bioensayo en ratón.
- 11.3. Los grados de contaminación por plomo, cadmio, cobre y zinc en los sedimentos analizados, según los estándares internacionales, no se encuentran en niveles de alarma, sin embargo, se recomienda focalizar las fuentes de contaminación, ya que estos metales pesados no son biodegradables y tienen potencial de bioacumulación en los organismos vivos; por lo que pueden llegar a desarrollar intoxicaciones de tipo crónico con eventos finales agudos.
- 11.4. Se recomienda localizar las fuentes de contaminación por fósforo ya que probablemente se encuentran relacionadas con fertilizantes agrícolas, plaguicidas, jabones y detergentes, tintas para textiles, aceites, lubricantes y combustibles.

11.5. Se recomienda monitorear las fuentes de contaminación por sólidos en suspensión o sólidos totales ya que este tipo de contaminación se encuentra relacionado con la deforestación, erosión de los suelos, detritus orgánico, plancton, limo, arena, virus, bacterias y la descomposición de los microorganismos, lo cual es muy común en pantanos. Siendo esto preocupante y de atención urgente para evitar que los niveles continúen aumentando.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 12.1. Abed, R.M.M., Dobretsov, S., Sudesh, K. (2008) Applications of cyanobacteria in biotechnology. 106: 1-12 pp.
- 12.2. APHA, AWWAA, WEF. (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 Ed. American Public Health Association, Washington, DC. 1193 pp.
- 12.3. Barrenetxea, C., Pérez, A., Gonzáles, M., Rodríguez, F. y Alfayate, J (2003). Contaminación Ambiental. Una visión desde la Química. Spain: Thomson Editores. 31 – 293 pp.
- 12.4. Bastarrechea, M. (1988). Limnología del Lago Petén Itzá, Guatemala: Proyecto Regional de Manejo de Cuencas. Revista Biología Tropical 36 (1). 123 – 127 pp.
- 12.5. BOE Ministerio de Sanidad y Consumo (BOE N. 195 de 15/8/1991) Orden de 2 de agosto de 1991 por la que se aprueban las normas microbiológicas, los límites de contenido en metales pesados y los métodos analíticos para la determinación de metales pesados para los productos de la pesca y de la acuicultura. España. 27153 – 27155 pp.
- 12.6. Calabrese, E.J., Canada, A.T., Sacco, C. (1985) Trace elements and public health. Annual Review of Public health. 6:131.146 pp.
- 12.7. Calderón, C (1997). Serie autodidáctica en materia de normas técnicas relacionadas con la inspección y verificación. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 40 pp.
- 12.8. Carmichael, W.W. (1994) The toxins of cyanobacteria. Scientific American. 270: 78-86 pp.
- 12.9. Carmichael, W.W. (1997) The cyanotoxins. Advances in Botanical Research. 27: 211-256 pp.

- 12.10. Castellanos, E. y Girón, N. (2009) Calidad microbiológica del agua del Lago de Atitlán para los años 2001-2006. Guatemala: Universidad Del Valle de Guatemala. 19: 36-44 pp.
- 12.11. CETESB. (1990) Implantação de Métodos para Avaliação da bioconcentração de agentes químicos em peixes. Resultados iniciais. Relatório Técnico CETESB, São Paulo. 31 pp.
- 12.12. COGUANOR. (2000). Norma Obligatoria Guatemalteca de Agua Potable. NGO 29.001.98 1ra. Revisión. Especificaciones. 20 pp.
- 12.13. Davies, J.M., Roxborough, M., Mazumder, A. (2004) Origins and implications of drinking water odours in lakes and reservoirs of British Columbia, Canada. Water Res. 38: 1900-1910 pp.
- 12.14. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Gesta Agua. Grupo de Estudio Técnico Ambiental. 1-145 pp.
- 12.15. Dionigi, C.P., Lawlor, T.E., McFarland, J.E., Johnsen, P.B. (1993) Evaluation of geosmin and 2-methylisoborneol on the histidine dependence of TA98 and TA100 Salmonella typhimurium tester strains. Water Res. 27:1615-1618 pp.
- 12.16. Dionigi, C.P., Bett, K.L., Johnsen, P.B., McGillberry, J.H., Millie, D.F., Vinyard, B.T. (1998) Variation in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) flavor-quality and its quality control implications. J.World Aquac. Soc. 29:140-154 pp.
- 12.17. Domus. Consultoría Ambiental. Preparado para Hunt Oil Exploration and Produccion Company Of Perú L.L.C., Sucursal de Perú. Publicado por U.S. Energy Information Administration. Independent Statistics & Analysis. (2008) Prospección Sísmica 2D en el Lote 76. Vol. II Cap.1.0 SubCap.1. 7-32 pp.
- 12.18. EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Comisión related to lead as undesirable substance in animal feed. EFSA Journal. 71: 1-20 pp.

- 12.19. EPA. (1986). Environmental Protection Agency. Gold Book of Quality Criteria for Water. EPA 440/5-86-001. USA. 477 pp.
- 12.20. Esteves, F.A. (1988) Fundamentos de Limnologia. São Paulo: FINEP. 575 pp.
- 12.21. Estrada, E. (2004) Validación de la actividad antifúngica del tubérculo de *Xanthosoma robustus* (quequesque) y determinación de metabolitos secundarios responsables de la actividad. Tesis Ad gradum Licenciatura en Química. 47 pp.
- 12.22. Falconer, J.R., Humpage, A.R. (2006) Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: cylindrospermopsins. *Environ. Toxicol.* 21: 299-304 pp
- 12.23. FAO/WHO (1976) List of maximum levels recommended for contaminants by the Joint FO/WHO codex alimentarius commission. Second series. CAC/FAL, Rome. 3: 1-8 pp.
- 12.24. Ferrão-Filho, A. da S., Soares, M.C.S., Freitas Magalhães, V., Azevedo, S.M.F.O. (2009) Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays. *Ecotox. And Environ. Safety.* 72: 479-489 pp.
- 12.25. Gago, A. Ruppén, I. Hungerford, J. (2012) Biotóxicas Marinas. Monografía. Serie: Ciencias de los Alimentos / Nutrición. Tomada de Toxicología Alimentaria. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España. 142-145pp.
- 12.26. Harborne, J.B, (1984) *Phytochemical Methods (A guide to modern techniques of plant analysis)*, Chapman & Hall Ltd. New York. 20-130 pp.
- 12.27. Hengfeng, M., Tao, W. (2009) The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. *Sep. and Purific. Technol.* 66:187-193 pp.
- 12.28. Höckelmann, C., Jüttner, F. (2005) Off-flavours in water: hydroxyketones and β -ionine derivatives and new odour compounds of freshwater cyanobacteria. *Flavour Frag. J.* 20: 387-394 pp.
- 12.29. Ienry, G. Heinke, W. (1996) *Ingeniería Ambiental*. 2a. Edición. Pearson Educación. México. 313 -320.

- 12.30. Jiménez, J.I., Vansach, T., Yoshida, W.Y., Sakamoto, B., Pörgzgen, P., Horgen, D. (2009) Halogenated Fatty Acid Amides and Cyclic Depsipeptides from an Eastern Caribbean Collection of the Cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *J. Nat. Prod.* 72: 1573-1578 pp.
- 12.31. La Bastille, A. (1988). Lago de Atitlán. West of the Wind Publications. Nueva York. 44 pp.
- 12.32. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT). (2005) Manual de Operaciones. Tamizaje Fitoquímico. Guatemala. 1-9 pp.
- 12.33. Marín, R. (2003). Físicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas. Ediciones Díaz Santos, S.A. España. 311 pp.
- 12.34. Mason, C.F. (1991) *Biology of freshwater pollution*. 2 Ed. John Willey and Sons, New York. 351 pp.
- 12.35. Matus, M. Torres, A. (2010) Determinación de saxitoxinas en *Synechococcus elongatus* (Nägeli 1849) mediante bioensayo en ratón. Universidad del Mar. Campus Puerto Ángel, Oaxaca. México. 8-15 pp.
- 12.36. Oliva, B. (2005). Contaminación en el Lago Petén Itzá. Proyecto No. 20-2002 de la línea del Fondo Nacional para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología - FODECYT. Guatemala. Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 115pp.
- 12.37. Oliva, B.E., Pérez, J.F., Del Cid, M.M., Valladares, B., Hernández, E., Martínez, F. (2010) Estudio de contaminantes ecotóxicos en agua y organismos acuáticos del Lago de Atitlán. Informe Final. DIGI-Facultad de Farmacia-AMSCLAE. 74 pp.
- 12.38. OMS. (1989). Guías para la Calidad del Agua Potable. Organización Mundial de la Salud, Ginebra. 195 pp.

- 12.39. Orjala, J., Nagle, D.G., Hsu, V.L., Gerwick, W.H. (1995) Antillatoxin: an exceptionally ichthyotoxic cyclic lipopeptide from the tropical cyanobacterium *Lyngbia majuscula*. *J. Am. Chem. Soc.* 117: 8281-8282 pp.
- 12.40. Osborne, N., Seawright, A., Shaw, G. (2008) Dermal toxicology of *Lyngbya majuscula*, from Moreton Bay, Queensland, Australia. *Harmful Algae*. 7: 584-589 pp.
- 12.41. Oshima, Y. (1995) Manual on harmful marine microalgae. En: Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D. (Eds.), *IOC Manuals and Guides no. 33*. UNESCO, Paris. 81-94 pp.
- 12.42. Padín, O. e Iriart, N. 2003. *Limnología. Guía de trabajo práctico*. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 123 – 125 pp.
- 12.43. Paerl, H.W. (1988): Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology and Oceanography*, 33(4):823-847 pp.
- 12.44. Pain, D.J. (1995) Lead in the environment. En *Handbook of Ecotoxicology*. Eds. Hoffmann, D.J., Rattner, B.A. Burton, G.A., Carins Jr., J. 424-468 pp.
- 12.45. Pro-Lago. Promoviendo el uso sustentable del Lago de Atitlán. Asociación de Protección Ambiental del Lago de Atitlán. Organización no gubernamental. (2005). *El Lago de Atitlán. Perfil Ambiental del Lago y su cuenca*.
- 12.46. Reynolds, C. S. (1991): Toxic blue-green algae: the "problem" in perspective. *Freshwater Forum* 1(1):29-38 pp.
- 12.47. Roldán, G. (1992). *Fundamentos de Limnología Neotropical*. Editorial Universidad de Antioquía. Colombia. 527 pp.
- 12.48. Sivonen, K., Jones, G.J. (1999) Cyanobacterial toxins. En. Chorus, I., Bartram, J. (Eds), *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*, World Health Organization, Taylor and Francis, Londres. 41-111 pp.

- 12.49. Smith, J.L., Boyer, G.L., Zimba, P.V. (2008) A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. *Aquaculture*. 280: 5-20 pp.
- 12.50. Smol, J.P. (2008) *Pollution of Lakes and Rivers. A Paleoenvironmental perspective*. 2 Ed. Blackwell Publishing: Malden, USA. 383 pp.
- 12.51. Sotero-Santos, R.B., Garcia Carvalho, E., Dellamano-Oliveira, M.J., Rocha, O. Occurrence and toxicity of an *Anabaena* Bloom in a tropical reservoir (Southeast Brazil). *Harmful Algae*. 7: 590-598 pp.
- 12.52. Tan, L.T. (2007) Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. *Phytochemistry*. 68: 954-979 pp.
- 12.53. USFDA (1993) Food and Drug Administration Guidance Document for Nickel in shellfish. DHHS/PHS/FDA/CFSAN/Office of Seafood, Washington D.C.
- 12.54. Wagner, S.H. Blatt, E.M. (1983) *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer – Verlag Berlin Heidelberg. 60-140 pp.
- 12.55. Watson, S.B. (2003) Cyanobacterial and eukaryotic algal odour compounds: signals or by-products? A review of their biologicval activity. *Phycologia*. 42: 332-350 pp.
- 12.56. Weiner, E. R. (2008). *Applications of Environmental Aquatic Chemistry. A Practical Guide*. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA. 436 pp.
- 12.57. Wren, C.D., Harris, S., Harttrup, P. (1995) Ecotoxicology of Mercury and Cadmium. *Handbook of Ecotoxicology*. Eds. Hoffmann, D.J., Rattner, B.A. Burton, G.A., Cairns Jr., J. 392-423 pp.
- 12.58. Wu, M., Okino, T., Nogle, L.M., Marquez, B.L., Williamson, R.T., Sitachitta, N., Berman, F.W., Murray, T.F., McGough, K., Jacobs, R., Colson, K., Asano, T., Yokokawa, F., Shiori, T., Gerwick, W.H. (2000) Structure, synthesis, and biological properties of kalkitoxin, a novel neurotoxin from the marine cyanobacterium. *J. Am. Chem. Soc.* 122: 12041-12042 pp.

- 12.59. Zagatto, P.A., Aragão, M.A. (1995) Avaliação ecotoxicológica do reservatório Guarapiranga com ênfase à problemática das algas tóxicas e algicidas. Relatório Técnico CETESB. São Paulo. 79 pp.
- 12.60. Zurawell, R.W., Chen, H., Burke, J.M., Prepas, E.E. (2005) Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *J. Toxicol. Environ. Health.* 8: 1-37 pp.

13. ANEXOS.

Anexo 1. Ubicación Geográfica de Sitios de Muestreo de Agua y Sedimentos.



Anexo 2. Análisis de la Presencia de Metales Escotóxicos Plomo, Cadmio, Cobre y Zinc (Pb, Cd, Cu, Zn), en Sedimentos Provenientes de los Ríos Panajachel, Quiscab y San Buenaventura.

	Lectura	Plomo (Pb) (ppm)	Cadmio (Cd) (ppm)	Cobre (Cu) (ppm)	Zinc (Zn) (ppm)
Río Panajachel	1	10,30	3,24	31,43	57,00
	2	9,98	3,32	30,90	57,50
	3	10,22	3,28	31,13	57,29
	Media	10,1667	3,28	31,15	57,26
	Desviación Estándar	0,1665	0,0400	0,2658	0,2511
	% CV	1,6380	1,22	0,85	0,44
Río Quiscab	1	17,70	4,69	52,50	96,00
	2	17,80	4,56	52,40	96,10
	3	17,65	4,58	52,32	97,00
	Media	17,7167	4,61	52,41	96,37
	Desviación Estándar	0,0764	0,0700	0,0902	0,5508
	% CV	0,4311	1,52	0,17	0,57
Río San Buena Ventura	1	13,86	4,29	48,40	76,61
	2	13,70	4,23	48,13	77,00
	3	14,17	4,32	47,93	76,97
	Media	13,9100	4,28	48,15	76,86
	Desviación Estándar	0,2390	0,0458	0,2359	0,2170
	% CV	1,7179	1,07	0,49	0,28

Anexo 3. Determinación de los Niveles de Nutrientes en Muestras de Agua de 11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán (Nitrógeno de Nitritos, Nitrógeno de Nitratos, Fósforo de Ortofosfatos, Sulfatos, Dureza, Sólidos Totales y Demanda Bioquímica de Oxígeno).

	Lectura	Nitrógeno de Nitritos	Nitrógeno de Nitratos	Fósforo de Ortofosfatos	Sulfatos	Dureza	Sólidos Totales	DBO5
Bahía San Buenaventura	1	0,0041	0.2096	0.038	50,200	173,300	299	1,177
	2	0,0040	0.2092	0.039	50,234	173,500	300	1,177
	3	0,0040	0.2090	0.039	50,250	173,550	302	1,173
	Media	0,0040	0.21	0.04	50,23	173,45	300,33	1,18
	Desviación Estándar	0,0001	0.0003	0.0005	0,0255	0,1323	1,5275	0,0023
	% CV	1,4314	0.15	1.38	0,05	0,08	0,51	0,20
Río San Francisco-Panajachel	1	0,0523	0.3690	0.082	51,940	183,700	294	2,570
	2	0,0522	0.3698	0.081	51,955	183,740	295	2,500
	3	0,0523	0.3675	0.082	51,965	183,744	295	2,520
	Media	0,0523	0.37	0.08	51,95	183,73	294,67	2,53
	Desviación Estándar	0,0001	0.0011	0.0008	0,0126	0,0243	0,5774	0,0361
	% CV	0,1105	0.31	0.92	0,02	0,01	0,20	1,43
Santa Catarina Palopó	1	0,0124	0.2797	0.102	43,700	144,640	324	1,640
	2	0,0126	0.2798	0.102	43,780	144,660	325	1,600
	3	0,0125	0.2797	0.103	43,750	144,460	322	1,634
	Media	0,0125	0.28	0.10	43,74	144,59	323,67	1,62
	Desviación Estándar	0,0001	0.0001	0.0006	0,0404	0,1102	1,5275	0,0216
	% CV	0,8000	0.02	0.59	0,09	0,08	0,47	1,33
Tzanpetey	1	0,0047	0.2367	0.051	42,150	164,646	283	0,610
	2	0,0046	0.2372	0.051	42,160	164,064	285	0,630
	3	0,0047	0.2365	0.050	42,130	164,056	286	0,632
	Media	0,0047	0.24	0.05	42,15	164,26	284,67	0,62
	Desviación Estándar	0,0001	0.0004	0.0003	0,0153	0,3384	1,5275	0,0122
	% CV	1,2372	0.16	0.49	0,04	0,21	0,54	1,95
Centro del Lago	1	0,0031	0.1676	0.070	45,000	179,520	279	0,220
	2	0,0030	0.1673	0.071	45,066	179,526	275	0,220
	3	0,0030	0.1678	0.071	45,035	179,640	274	0,226
	Media	0,0030	0.17	0.07	45,03	179,56	276,00	0,22
	Desviación Estándar	0,0001	0.0002	0.0005	0,0330	0,0676	2,6458	0,0035
	% CV	1,9034	0.14	0.68	0,07	0,04	0,96	1,56
San Lucas Tolimán	1	0,0045	0.2206	0.066	51,530	175,255	283	0,722
	2	0,0044	0.2207	0.066	51,650	175,263	283	0,725
	3	0,0044	0.2203	0.066	51,560	175,200	286	0,734
	Media	0,0044	0.22	0.07	51,58	175,24	284,00	0,73
	Desviación Estándar	0,0000	0.0002	0.0001	0,0624	0,0343	1,7321	0,0062
	% CV	0,6536	0.10	0.15	0,12	0,02	0,61	0,86

	Lectura	Nitrógeno de Nitritos	0.2795	0.090	Sulfatos	Dureza	Sólidos Totales	DBO5
Santiago Atitlán	1	0,0140	0.2794	0.091	51,200	180,573	263	1,988
	2	0,0141	0.2798	0.090	51,256	180,553	263	1,980
	3	0,0141	0.28	0.09	51,130	180,556	264	1,983
	Media	0,0141	0.000	0.000	51,20	180,56	263,33	1,98
	Desviación Estándar	0,000	0.08	0.53	0,063	0,011	0,577	0,004
	% CV	0,4104	0.2175	0.061	0,12	0,01	0,22	0,19
San Pedro la Laguna	1	0,0076	0.2186	0.061	41,550	160,055	264	1,741
	2	0,0078	0.2190	0.061	41,354	160,047	260	1,743
	3	0,0076	0.22	0.06	41,340	160,030	260	1,749
	Media	0,0077	0.0008	0.0002	41,41	160,04	261,33	1,74
	Desviación Estándar	0,0001	0.35	0.40	0,1174	0,0125	2,3094	0,0042
	% CV	1,5061	0.3874	0.085	0,28	0,01	0,88	0,24
Bahía San Pablo, San Juan- San Pedro	1	0,0023	0.3879	0.085	40,910	168,940	261	0,673
	2	0,0022	0.3880	0.084	40,660	168,500	264	0,680
	3	0,0023	0.39	0.08	40,956	168,955	261	0,665
	Media	0,0023	0.0003	0.0002	40,84	168,80	262,00	0,67
	Desviación Estándar	0,0001	0.07	0.24	0,1593	0,2585	1,7321	0,0075
	% CV	2,5471	0.2555	0.051	0,39	0,15	0,66	1,12
Jaibalito	1	0,0065	0.2558	0.051	49,665	150,046	275	0,784
	2	0,0066	0.2556	0.051	49,630	150,066	277	0,785
	3	0,0065	0.26	0.11	49,456	150,600	280	0,769
	Media	0,0065	0.0001	0.0002	49,58	150,24	277,33	0,78
	Desviación Estándar	0,0001	0.05	0.14	0,1119	0,3144	2,5166	0,0090
	% CV	0,8837	0.3645	0.084	0,23	0,21	0,91	1,15
Río Quiscab	1	0,0135	0.3648	0.084	50,530	162,624	268	0,547
	2	0,0136	0.3642	0.083	50,016	162,664	266	0,543
	3	0,0135	0.3645	0.08	50,650	162,455	268	0,549
	Media	0,0135	0.0003	0.0004	50,40	162,58	267,33	0,55
	Desviación Estándar	0,0001	0.08	0.48	0,3368	0,1109	1,1547	0,0031
	% CV	0,4266	0.2096	0.038	0,67	0,07	0,43	0,56

**Anexo 4. Determinación *In situ* de los Parámetros Físicoquímicos Principales de Muestras de Agua de
11 Sitios de Muestreo del Lago de Atitlán
(Temperatura del Agua, pH del Agua, Oxígeno Disuelto y Conductividad)**

	Lectura	Temperatura del Ambiente (°C)	% Humedad Ambiente	Temperatura de la Muestra de Agua (°C)	pH de la Muestra de Agua	O ₂ mg /L	Conductividad μ S/cm
Bahía San Buenaventura	1	22,00	45,00	21,00	8,50	6,70	460
	2	22,50	45,00	22,00	8,40	6,90	462
	3	22,00	45,10	21,00	8,80	6,70	460
	Media	22,17	45,03	21,33	8,57	6,77	460,67
	Desviación Estándar	0,29	0,06	0,58	0,21	0,12	1,15
	% CV	1,30	0,13	2,71	2,43	1,71	0,25
Río San Francisco-Panajachel	1	22,50	47,00	21,60	8,43	5,80	472
	2	22,00	47,10	21,00	8,50	5,96	472
	3	22,30	47,10	21,50	8,30	5,79	474
	Media	22,27	47,07	21,37	8,41	5,85	472,67
	Desviación Estándar	0,25	0,06	0,32	0,10	0,10	1,15
	% CV	1,13	0,12	1,50	1,21	1,63	0,24
Santa Catarina Palopó	1	25,00	38,80	17,20	8,04	6,50	402
	2	25,50	38,80	17,50	7,90	6,56	400
	3	25,20	38,70	17,00	8,10	6,52	400
	Media	25,23	38,77	17,23	8,01	6,53	400,67
	Desviación Estándar	0,25	0,06	0,25	0,10	0,03	1,15
	% CV	1,00	0,15	1,46	1,28	0,47	0,29
Tzanpetey	1	23,00	48,00	20,00	8,50	6,30	420
	2	23,40	47,90	21,50	8,50	6,41	422
	3	23,50	48,00	19,50	8,40	6,28	419
	Media	23,30	47,97	20,33	8,47	6,33	420,33
	Desviación Estándar	0,26	0,06	1,04	0,06	0,07	1,53
	% CV	1,14	0,12	5,12	0,68	1,11	0,36
Centro del Lago	1	24,50	51,30	21,20	8,56	6,15	470
	2	24,60	51,20	20,90	8,50	6,00	476
	3	24,20	51,30	21,10	8,30	6,17	474
	Media	24,43	51,27	21,07	8,45	6,11	473,33
	Desviación Estándar	0,21	0,06	0,15	0,14	0,09	3,06
	% CV	0,85	0,11	0,73	1,61	1,52	0,65
San Lucas Tolimán	1	24,00	47,00	20,00	8,03	6,71	450
	2	24,20	47,10	20,10	8,00	6,74	448
	3	24,40	47,00	20,20	7,90	6,70	446
	Media	24,20	47,03	20,10	7,98	6,72	448,00
	Desviación Estándar	0,20	0,06	0,10	0,07	0,02	2,00
	% CV	0,83	0,12	0,50	0,85	0,31	0,45
Santiago Atitlán	1	23,21	45,55	21,30	8,62	6,54	473
	2	23,20	45,52	21,20	8,60	6,62	476
	3	23,00	45,50	21,00	8,50	6,53	473
	Media	23,14	45,52	21,17	8,57	6,56	474,00
	Desviación Estándar	0,12	0,03	0,15	0,06	0,05	1,73
	% CV	0,51	0,06	0,72	0,75	0,75	0,37

	Lectura	Temperatura del Ambiente (°C)	% Humedad Ambiente	Temperatura de la Muestra de Agua (°C)	pH de la Muestra de Agua	O2 mg /L	Conductividad μ S/cm
San Pedro la Laguna	1	23,10	50,00	21,00	8,40	6,60	462
	2	23,40	50,10	20,90	8,30	6,60	462
	3	23,20	50,10	21,00	8,50	6,63	460
	Media	23,23	50,07	20,97	8,40	6,61	461,33
	Desviación Estándar	0,15	0,06	0,06	0,10	0,02	1,15
	% CV	0,66	0,12	0,28	1,19	0,26	0,25
Bahía San Pablo, San Juan-San Pedro	1	22,50	55,40	21,40	8,51	6,35	474
	2	22,30	55,30	21,30	8,60	6,38	478
	3	22,50	55,40	21,50	8,50	6,33	475
	Media	22,43	55,37	21,40	8,54	6,35	475,67
	Desviación Estándar	0,12	0,06	0,10	0,06	0,03	2,08
	% CV	0,51	0,10	0,47	0,65	0,40	0,44
Jaibalito	1	25,00	45,50	21,00	8,50	6,50	477
	2	25,20	45,60	21,00	8,40	6,52	476
	3	25,10	45,60	21,10	8,40	6,50	477
	Media	25,10	45,57	21,03	8,43	6,51	476,67
	Desviación Estándar	0,10	0,06	0,06	0,06	0,01	0,58
	% CV	0,40	0,13	0,27	0,68	0,18	0,12
Río Quiscab	1	25,60	41,07	21,60	8,56	6,38	470
	2	25,70	41,00	21,70	8,50	6,42	474
	3	25,50	41,10	21,50	8,58	6,38	469
	Media	25,60	41,06	21,60	8,55	6,39	471,00
	Desviación Estándar	0,10	0,05	0,10	0,04	0,02	2,65
	% CV	0,39	0,12	0,46	0,49	0,36	0,56



Anival Edmundo Ruiz Cano
Autor



Edwin Aroldo Axpucac Aspuac
Autor



Dr. Francisco Pérez Sabino
Asesor



Dr. Francisco Pérez Sabino
Director de Escuela



Dr. Oscar Cobar
Decano