

Aprovechamiento de los ambientes reducidos para la producción de organismos acuáticos susceptibles a cultivo, para el consumo humano

Reduced environments for production of culture susceptible aquatic organisms for human consumption

Patricia Edurne Sánchez Meza* Jorge Romero Jarero** Pilar Negrete Redondo*
Roxana López Simeon* Aída Malpica Sánchez*

Abstract

Anoxic sediments favor sulfate reducing bacteria proliferation, main characteristic of reduced environments, which are used for crustacean culture. In Mexico, it has been reported the presence of anoxic sediments in the channels of Xochimilco, reduced environment that could be used for culture of organisms, like crayfish (*Cambarellus montezumae*). The aim of this study was to prove that reduced environments can be used for the production of culture susceptible aquatic organisms for human consumption. Apatlaco and Cuemanco channels are characterized as reduced environments, its water and sediment physicochemical parameters were evaluated; heavy metals in sediment and organisms were assessed; presence and sanitary quality of crayfish was proven, through qualitative and quantitative analysis of its bacteria charge; nutritional quality of crayfish was determined, by proximal chemical analysis. It was proven that the channels of Xochimilco fulfill the reduced environment characteristics, presence of crayfish *C. montezumae* in these channels was verified, it was shown that the levels of heavy metals and bacteria charge recorded, do not exceed the maximum allowed limits for edible crustaceans, important protein source for human consumption. Based on the previous, it is affirmed that reduced environments can be used for culture of edible aquatic species.

Key words: REDUCED ENVIRONMENTS, SULFATE REDUCING, XOCHIMILCO CHANNELS, *CAMBARELLUS MONTEZUMAE*, HUMAN CONSUMPTION, AQUACULTURE.

Resumen

Los sedimentos anóxicos propician proliferación de bacterias sulfato-reductoras, característica principal de los ambientes reducidos, que se aprovechan para el cultivo de crustáceos. En México se ha notificado presencia de sedimentos anóxicos en los canales de Xochimilco, ambiente reducido, que podrían aprovecharse para el cultivo de organismos, como el acocil (*Cambarellus montezumae*). El objetivo del presente estudio fue probar que los ambientes reducidos pueden ser útiles para la producción de organismos acuáticos susceptibles de cultivo, y además, para consumo humano. Se caracterizaron los canales Apatlaco y Cuemanco como ambientes reducidos, se evaluaron parámetros fisicoquímicos del agua y sedimento; se determinaron metales pesados en sedimento y organismo; se comprobó la presencia y calidad sanitaria del acocil, a través de los análisis cualitativo y cuantitativo de su carga bacteriana; se determinó la calidad nutrimental de los acociles por medio de análisis químico proximal. Se probó que los canales de Xochimilco cumplen con las características de ambiente reducido, en el que se comprobó presencia del acocil (*C. montezumae*). Se demostró que los niveles de metales pesados y carga bacteriana registrados no superan los límites máximos permisibles para crustáceos comestibles, fuente importante de proteínas para el consumo humano. Con base en lo anterior se afirma que los ambientes reducidos pueden ser aprovechados para el cultivo de especies acuáticas comestibles.

Palabras clave: AMBIENTES REDUCIDOS, SULFATO-REDUCTORAS, CANALES DE XOCHIMILCO, *CAMBARELLUS MONTEZUMAE*, CONSUMO HUMANO, ACUACULTURA.

Recibido el 21 de junio de 2007 y aceptado el 9 de septiembre de 2008.

*Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calz. del Hueso 1100, Colonia Villa Quietud, Coyoacán, México, D.F. 04960, Tel.: 5483-7000 ext. 3076.

**Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F., Tel. 5622-5694.

Introduction

The aquatic reduced environments have characteristics which facilitate obtaining products of aquaculture origin for human consumption; among them the presence of sulfate reducing and sulfate oxidative bacteria in anoxic sediment.¹ These microorganisms regulate the ultraviolet light radiation, also, they are efficient and essential in the reutilization of organic nutrients like nitrates, sulfates and phosphates.²⁻⁴ When the nutrients dissolve, they propitiate algae growth and aquaculture species which are cultivated there.^{5,6} The absence of stress factors such as antibiotics, disinfectants, pesticides and fertilizers in this type of environments, allow them to be considered appropriate places for aquatic organisms culture.^{7,8}

The reduced aquatic environments are used worldwide for the production of diverse crustacean species such as crayfish (*Astacus leptodactylus*), which is exported from Turkey to West Europe.⁹ In Australia penaeids are cultured in natural farms with reduced environments, using efficient microorganisms and organic matter in decomposition in the sediments, as food for the organisms;¹⁰ these farms have residual water discharge problems; therefore, the addition of sediment in natural reservoirs is used, so that the microorganisms activate the organic nutrients and the water reutilized.¹¹⁻¹⁵

The Xochimilco channels can be considered reduced environments, since they present important characteristics such as: eutrophication, presence of sulfate reducing bacteria and algae proliferation, but are still not used with the purpose of obtaining aquaculture productions, their main use is the extraction of water and sediment from the channels, for irrigation of plants and culture of flowers and vegetables.¹² UNESCO¹³ defines two types of human settlements in Xochimilco: urban and agricultural; in this context, the Official Mexican Norm-127 (NOM-127)-Secretaría de Salud y Asistencia¹⁴ establishes the same headings (urban and agricultural) for natural reservoirs, this propitiates two different sources of contaminants according to its use.

The channels of Xochimilco present native species of biological and commercial importance, like the silverside (*Chirostoma jordani*), splitfin (*Girardhynichthys viviparous*), the axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and the crayfish (*Cambarellus montezumae*). The adaptation capacity of *C. montezumae* has allowed it to survive the environmental changes of its habitat to the actual conditions of reduced environment; therefore, it is considered as an organism feasible for culture in reduced environments that the channels of Xochimilco present.

Introducción

Los llamados ambientes reducidos acuáticos presentan características que facilitan la obtención de productos de origen acuícola para consumo humano; entre ellas se consideran la presencia de bacterias sulfato-reductoras y sulfato-oxidativas en los sedimentos anóxicos.¹ Estos microorganismos regulan la incidencia de radiación ultravioleta; asimismo, son eficientes e imprescindibles en la reutilización de nutrientes orgánicos como nitratos, fosfatos y sulfatos.²⁻⁴ Cuando los nutrientes se disuelven, propician el crecimiento de algas y de especies acuícolas que ahí se cultivan.^{5,6} La ausencia de factores de estrés como antibióticos, desinfectantes, pesticidas y fertilizantes en este tipo de ambientes, permite que se les considere lugares propicios para cultivar organismos acuáticos.^{7,8}

Los ambientes reducidos acuáticos son aprovechados en todo el mundo para la producción de diversas especies de crustáceos, como el cangrejo (*Astacus leptodactylus*), que se exporta de Turquía al oeste de Europa.⁹ En Australia se cultivan penéidos en granjas naturales con ambientes reducidos, utilizando microorganismos eficientes y materia orgánica en descomposición en los sedimentos, como alimento para los organismos;¹⁰ estas granjas presentan problemas de descargas de aguas residuales, por lo que se instrumenta la adición de sedimento en los embalses naturales para que los microorganismos activen los nutrientes orgánicos y el agua pueda ser reutilizada.^{11,15}

Los canales de Xochimilco pueden considerarse ambientes reducidos, ya que presentan características importantes, como eutroficación, presencia de bacterias sulfato-reductoras y proliferación de algas, pero aún no se utilizan con el fin de obtener producciones acuícolas, su principal uso es la extracción de agua y del sedimento de los canales, para el riego de plantas y el cultivo de flores y hortalizas.¹² La UNESCO¹³ define en Xochimilco dos tipos de asentamientos humanos: urbana y agrícola; en este contexto, la Norma Oficial Mexicana-127 (NOM-127)-Secretaría de Salubridad y Asistencia,¹⁴ establece los mismos rubros (agrícola y urbano) para embalses naturales, ello propicia dos fuentes diferentes de contaminantes de acuerdo con su uso.

Los canales de Xochimilco presentan especies nativas de importancia biológica y comercial, como el charal blanco (*Chirostoma jordani*), el pez amarillo (*Girardhynichthys viviparus*), el ajolote (*Ambystoma mexicanum*) y el acocil (*Cambarellus montezumae*). La capacidad de adaptación del *C. montezumae* le ha permitido sobrevivir a los cambios ambientales de su hábitat hasta las condiciones actuales de ambiente reductor, por lo que se considera como organismo viable de

In general terms, to make good use of the aquatic reduced environments, they must comply with the statutes of the NOM-022-Pesca,¹⁶ which establishes the regulations of hygiene and control, as well as the application of the risk system analysis and control of critical points in facilities and processes of the aquaculture farms; nevertheless, in the Mexican legislation there are no norms which establish limits in the levels of contamination that affect the health of the consumers of *C. montezumae*; neither does it count with the necessary rules with regard to sanitary quality of crayfish extracted from the channel. Last, the Mexican norms do not take into account the aquatic reduced environments for the aquaculture production, in spite of the advantages already described.

Based on the previous, the aim of this study was to prove that the reduced environments can be used for the production of aquatic organisms feasible for culture and importance for human consumption.

Material and methods

The selection of sampling zones was done based on the anthropogenic activities carried out in the channels; that is, they should have a zone with agricultural activities (agricultural zone) and another one with human settlements (urban zone) within its main tributary. Following these criteria, the channels of Apatlaco and the old channel of Cuemanco were located (Figure 1); the sampling in both channels was synchronous during October of 2006.

The water temperature was taken at a depth of 15 cm with a bucket thermometer;^{*16} the pH with a Hannan^{**} potentiometer,¹⁷ dissolved oxygen with an oximeter^{***} and turbidness with a Secchi disc.† The water from the channels was collected in sterile bags,‡ with sodium thiosulfate at 15 cm from the surface.

From each zone 1 kg of sediment was extracted with a dredge Ekman type,[°] at a depth of 10 cm; from these samples 10 mL of sediment were extracted with sterile syringes and placed in bags with sodium thiosulfate, both samples were packed at 4°C^{16,18} and were transferred to the Aquatic Micropathology Laboratory of the Autonomous Metropolitan University-Xochimilco.

The crayfish were collected at random with spoon net of 70 cm in diameter and 0.5 inches of mesh opening¹⁹ the same capture effort was performed in each zone.²⁰

To determine the activity of the sulfate reducing bacteria in the sediment, one gram of each sample was homogenized in 99 mL of sterile distilled water, dilutions to the tenth were done from 10⁻² to 10⁻⁸, 1 mL of each dilution (10⁻⁴, 10⁻⁶ and 10⁻⁸) was inoculated in Vanille^{*} tubes by duplicate, previously prepared with 4

cultivo en los ambientes reducidos que presentan los canales de Xochimilco.

En términos generales, los ambientes reducidos acuáticos para aprovecharse en la acuicultura, deben cumplir con lo reglamentado en la NOM-022-Pesca,¹⁵ que establece las regulaciones de higiene y control, así como la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en las instalaciones y procesos de las granjas acuícolas; sin embargo, en la legislación mexicana no aparecen normas que establezcan límites en los niveles de contaminación que afecten la salud del consumidor del *C. montezumae*; tampoco cuentan con la normatividad necesaria con respecto a la calidad sanitaria del acocil extraído del canal. Por último, las normas mexicanas no toman en cuenta los ambientes reducidos acuáticos para la producción acuícola, a pesar de las ventajas ya descritas.

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue probar que los ambientes reducidos pueden ser aprovechados para la producción de organismos acuáticos viables al cultivo y con interés para el consumo humano.

Material y métodos

La selección de las zonas de muestreo se efectuó con base en las actividades antropogénicas que se desarrollan en los canales; es decir, debían tener una zona con actividades agropecuarias (zona agrícola) y otra con asentamientos humanos (zona urbana) dentro de su afluente principal. Siguiendo estos criterios, se ubicaron los canales de Apatlaco y el antiguo canal de Cuemanco (Figura 1); el muestreo en ambos canales fue sincrónico durante octubre de 2006.

La temperatura del agua se midió a 15 cm de profundidad con termómetro de cubeta;^{*16} el pH con un potenciómetro Hannan,^{**17} el oxígeno disuelto con un oxímetro^{***} y la turbidez con un disco de Secchi.† El agua de los canales se recolectó en bolsas estériles,‡ con tiosulfato de sodio, a 15 cm de la superficie.

De cada zona se extrajo 1 kg de sedimento con una draga tipo Ekman,[°] a 10 cm de profundidad; de estas muestras se extrajeron 10 mL de sedimento con jeringas estériles y se colocaron en bolsas con tiosulfato de sodio, ambas muestras se empacaron a 4°C^{16,18} y se trasladaron al Laboratorio de Micropatología Acuática, de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Los acociles se recolectaron al azar con una red de cuchara de 70 cm de diámetro y 0.5 pulgadas de

*Becton and Dickinson, Estados Unidos de América.

**Nasco Whirl-Pak, Estados Unidos de América.

***YSI-85, Estados Unidos de América.

†Cole Palmer, Estados Unidos de América.

‡Nasco Whirl Pak, Estados Unidos de América.

°Cole Palmer, Estados Unidos de América.

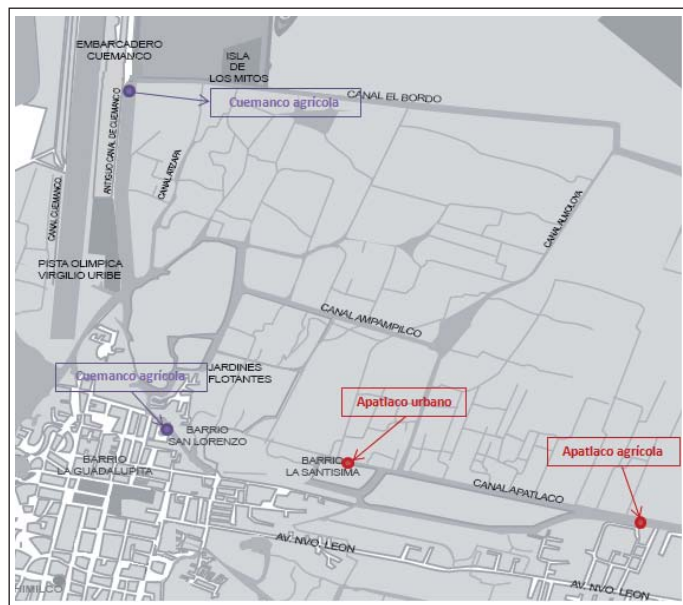


Figura 1: Ubicación geográfica de las zonas urbana y agrícola de los canales Apatlaco y Cuemanco, en Xochimilco, Ciudad de México.

Figure 1: Geographical location of urban and agricultural zones of Apatlaco and Cuemanco channels, in Xochimilco, Mexico City.

mL of nutritious agar, plus 1 mL of cysteine and Mohr salt mixture. Once inoculated, the tubes were sealed with paraffin, incubated at ecological temperature for 24 h, and black colonies were counted.²¹

To measure the sulfate-oxidative bacteria activity, titers were done every third day during October and November of 2006, 1 mL of each dilution 10^{-4} , 10^{-6} and 10^{-8} (previously prepared) were extracted with an automatic pipette and were placed in 250mL flasks, 1 mL of concentrated sulfuric acid and starch at 2 % were added, it was titred with 2 mL of iodide iodine, finally the iodine waste was graphed during the evaluation period, measured in days.

Of the dilutions previously done, 100 μ L were extracted from each one, and were cultured, with a curved glass rod, in eosin methylene blue agar plates (EMB), *Salmonella-Shigella* (S-S) and brain-heart infusion (BHI), by duplicate; afterwards, they were incubated at 34°C for 24 h. Later, the number of colony forming units by mililiter²² (cfu/mL) was recorded. From the flasks of the original homogenized, again 1 000 μ L were extracted form each sample and seeded in tubes with bakelite threaded cover, with enriched medium of tetrionate broth, to which 1 000 μ L of iodide iodine, peptoned water and lactose broth were added, incubated at 35°C for 24 h. Afterwards, 100 μ L of the inoculated mediums were seeded in plates with S-S, TCBS and EMB specific agar mediums, respectively, by duplicate, and once again incubated at 35°C for 24 h. After consecutive re-cultures in nutritive agar, pure strains were obtained, which was established by the homogeneity of the colonies, confirmed by homogenous cellular morphology observation, with phase-contrast microscope. Gram staining was performed to each of the strains.¹⁶ The box morphol-

abertura de malla,¹⁹ se efectuó el mismo esfuerzo de captura en cada zona.²⁰

Para determinar la actividad de las bacterias sulfato-reductoras en el sedimento, un gramo de cada muestra se homogeneizó en 99 mL de agua destilada estéril, se efectuaron diluciones a la décima desde 10^{-2} a 10^{-8} ; se inoculó 1 mL de cada dilución (10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8}) en tubos de Vanille,* por duplicado, previamente preparados con 4 mL de agar nutritivo, más 1 mL de la mezcla de cisteína y sal de Mohr. Una vez inoculados, los tubos fueron sellados con parafina, se incubaron a temperatura ecológica durante 24 h, y se contaron las colonias negras.²¹

Para medir la actividad de las bacterias sulfato-oxidativas, se efectuaron titulaciones cada tercer día durante octubre y noviembre de 2006, con una pipeta automática se extrajo 1 mL de cada dilución 10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8} (previamente preparadas) y se depositaron en matraces de 250 mL, se añadió 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y almidón al 2%, se tituló con 2 mL iodo-yoduro, finalmente se graficó el gasto de yodo durante el tiempo que se efectuó la valoración, medido en días.

De las diluciones anteriormente efectuadas se extrajeron 100 μ L de cada una, y se sembraron, con una varilla de vidrio acodada, en placas de agar de eosina azul de metileno (EMB), *Salmonella-Shigella* (S-S) e infusión cerebro-corazón (BHI), por duplicado; posteriormente se incubaron a 34°C durante 24 h. Después se registró el número de unidades formadoras de colonias por mililitro²² (ufc/mL). De los frascos del homogeneizado original, nuevamente se extrajeron 1 000 μ L de cada muestra y se sembraron en tubos con tapón de rosca de baquelita, con los medios de

*Kimax, Estados Unidos de América.

ogy of the colonies already pure was recorded and the presumptive identification was done, applying the Merck criteria.²³ Finally, the identification of the gram-negative strains was confirmed with the API-20E and API-20NE systems.^{24,25}

Of the 237 crayfish collected, 30 g were destined for total heavy metal determination in crayfish; also, one kilogram of sediment from each sampling point was used for bio-available heavy metal determination; both samples were dried, grinded and methanolic extractions were done, analyzed with a plasma absorption spectrometer with octopole reaction system,* in the Physicochemical Analysis Laboratory, of the Institute of Sea Sciences and Limnology of the National Autonomous University of Mexico.

Results

As sampling areas, the Apatlaco and old Cuernavaca channels were established, in which two zones were located, distributed along the channel: agricultural and urban (Figure 1), the crayfish presence was recorded only in the agricultural zone of Cuernavaca.

In the urban zones of Cuernavaca and agricultural and urban of Apatlaco, water temperatures of 20°C were recorded, and in the agricultural zone of Cuernavaca 19.2°C. The water pH was recorded within the 6.5-7.3 in the four zones. In the urban zone of Cuernavaca and agricultural and urban of Apatlaco, 40.5-45.0 mg/mL of oxygen, and 53 mg/mL in the agricultural zone of Cuernavaca. In the first three zones 40 cm of turbidity, and 20 cm in the zone of Cuernavaca (Table 1).

The sulfate reducing bacteria activity was present 10 h after inoculating the Vanille tubes; in the agricultural zone of Cuernavaca, 3×10^6 colony forming units per gram of humid weight (cfu g h sed); in the urban zone of Cuernavaca, 1×10^6 cfu g h sed; in Apatlaco the activity was present 30 h after depositing the inoculum, in the agricultural zone 2×10^6 cfu g h sed were recorded and in the urban zone 8×10^4 cfu g h sed. The sulfate oxidative bacteria activity in the Cuernavaca channel was kept constant, the iodine-iodide waste was recorded within the interval of 0.15-0.20 mL; in the Apatlaco channel the waste of iodine-iodide was 0.1-0.3 mL (Figures 2-3).

Crayfish were only found in agricultural zone of Cuernavaca, where 237 organisms were collected, of which 63% were juvenile and the rest adults; females with egg abdominal pouch were returned to the channel with the objective to preserve the species. Collected juveniles had 0.5 to 2.5 cm of size and weight of 0.5 to 1.3 g. Adults presented sizes from 2.6 cm to 4.7 cm and weight from 0.5 g to 1.3 g.

The result of the cfu/mL counting in BHI, EMB

enriquecimiento de caldo de tetracionato, al que se le agregaron 1 000 µL de iodo-yoduro, agua peptonada y caldo lactosado, y se incubaron a 35°C durante 24 h. Posteriormente, 100 µL de los medios inoculados se sembraron en placas con medios de agar específicos de S-S, TCBS y EMB, respectivamente, por duplicado, y se incubaron nuevamente a 35°C durante 24 h. Después de resiembras sucesivas en placas con agar nutritivo, se obtuvieron cepas puras, lo cual se estableció por la homogeneidad de las colonias, que se confirmó por observación de morfología celular homogénea, con microscopio de contraste de fases. Se efectuó tinción de gram a cada una de las cepas.¹⁶ Se registró la morfología de caja de las colonias ya puras y se efectuó la identificación presuntiva, aplicando los criterios de Merck.²³ Por último, se confirmó la identificación de las cepas gramnegativas con el sistema API-20E y API-20NE.^{24,25}

De los 237 acociles recolectados, 30 g se destinaron para la determinación de metales pesados totales en acocil; además, un kilo de sedimento de cada punto del muestreo se usó para la determinación de metales pesados biodisponibles; ambas muestras se secaron, molieron y se realizaron extracciones metanólicas que se analizaron con un espectrómetro de absorción de plasma con sistema de reacción octapolar,* en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos, del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se efectuó el análisis químico proximal a los acociles recolectados, 25 g, utilizando los organismos completos, incluyendo el exoesqueleto; estos organismos fueron secados, molidos y se efectuaron las técnicas de la AOAC26 para la obtención de proteína, grasas, ceniza y fibra; estos análisis se efectuaron en el Laboratorio de Análisis Bromatológico de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Resultados

Se establecieron el canal Apatlaco y el antiguo canal de Cuernavaca como áreas de muestreo, en los cuales se ubicaron dos zonas, distribuidas a lo largo del canal: agrícola y urbana (Figura 1), se registró la presencia de acocil sólo en la zona agrícola de Cuernavaca.

En las zonas urbana de Cuernavaca y agrícola y urbana de Apatlaco se registraron temperaturas de 20°C en agua, y en la zona agrícola de Cuernavaca, 19.2°C. El pH del agua se registró dentro del intervalo de 6.5-7.3 en las cuatro zonas. En la zona urbana de Cuernavaca y agrícola y urbana de Apatlaco se registraron 40.5-45.0 mg/mL de oxígeno, y 53 mg/mL en la zona agrícola de Cuernavaca. En las tres primeras

*Agilent 7500ce series ICP-MS, Estados Unidos de América.

and S-S, of the water samples, sediment and crayfish in both zones of Cuemanco and Apatlaco in Xochimilco, was recorded in Table 2.

In the water samples of the agricultural zone of Cuemanco, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio fluvialis* were identified, while in the sediment *A. hydrophila* was identified; in crayfish collected in this zone 11 species were identified: *Salmonella pullorum*, *Hafnia alvei*, *Serratia* sp, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas diminuta*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *V. cholerae* El Tor, *V. fluvialis*, *Actinobacter haemolyticus* (Table 3). In the water sample of the urban zone of Cuemanco, enterobacteria *Pasteurella* sp, *Ps. putida* and *Ps. cepacia* were found; in the sediment sample two species were found: *Escherichia coli* and *A. hydrophila* (Table 3). In the water sample of the agricultural zone of Apatlaco, *A. caviae*, *A. hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* sp and *Agrobacter radiobacter* were identified, in the sediment of the same zone *A. hydrophila* and *E. coli*, (Table 3). In the urban zone of the Apatlaco channel, strains of the four main family of pathogens were isolated: Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae and Vibrionaceae. In the water of this zone *A. hydrophila*, *Salmonella* sp, *E. aerogenes*, *Pseudomonas* sp and *V. parahemolyticus* were found; in sediment *E. coli*, *P. diminuta*, *P. aeruginosa* and *V. algionolyticus* were identified (Table 3).

The determination of bio-available heavy metals in the sediment of the four zones, indicated presence of 13 different metals, Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{4+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} , Al^{3+} , Ba^{2+} , V^{5+} , Co^{2+} and Ag^{1+} (Table 4). The concentration of total heavy metals determined in crayfish *C. montezumae*, were similar to the ones presented in sediment, among these are: aluminum, 255 330 mg/kg; iron, 126 mg/kg; zinc, 75 mg/kg; copper, 50 385 mg/kg; and barium, 33 222 mg/kg (Table 5).

The result of the proximal chemical analysis effectuated in collected crayfish, in dry matter, recorded 62.12% in total proteins; 6.27% in fat; 16.93% in ashes; and 7.90% in fiber (Table 6).

Discussion

The filamentous algae, which are found in the agricultural zone of Cuemanco invade the body water, they block light and increase oxygen concentration,^{27,28} that does not occur in the other sampling zones.

The sediments in both zones of Cuemanco present reductive conditions that, according to Ramos-Bello *et al.*,²⁹ are due to the alkaline pH, which decreases the aeration and permeability of soil. In these reducing conditions, the activity of sulfate reducing bacteria recorded the most highest levels, which coincides with the studies of Madigan³⁰ and Postgate,²¹ who mention

zonas se midieron 40 cm de turbidez, y 20 cm en la otra zona de Cuemanco (Cuadro 1).

La actividad de las bacterias sulfato-reductoras se presentó 10 h después de inocular los tubos de Vanille; en la zona agrícola de Cuemanco se registraron 3×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo de peso húmedo (ufc g sed h); en la zona urbana de Cuemanco, 1×10^6 ufc g sed h; en Apatlaco la actividad se presentó 30 h después de depositar el inóculo, en la zona agrícola se registraron 2×10^6 ufc g sed h y en la zona urbana, 8×10^4 ufc g sed h. La actividad de las bacterias sulfato-oxidativas en el canal de Cuemanco se mantuvo constante, el gasto de yodo-yoduro se registró dentro del intervalo de 0.15-0.20 mL; en el canal de Apatlaco el gasto de yodo-yoduro fue de 0.1-0.3 mL (Figuras 2-3).

Únicamente se encontraron acociles en la zona de agrícola de Cuemanco, en donde, se recolectaron 237 organismos, de los cuales 63% eran juveniles y el resto adultos; las hembras con bolsa abdominal de huevecillos se regresaron al canal con el fin de preservar la especie. Los juveniles que se recolectaron tenían tallas de 0.5 a 2.5 cm y peso desde 0.05 a 0.3 g. Los adultos tuvieron tallas desde 2.6 cm hasta 4.7 cm y peso de 0.5 hasta 1.3 g.

El resultado del conteo de ufc/mL en placas de BHI, EMB y S-S, de las muestras de agua, sedimento y acocil en ambas zonas de Cuemanco y Apatlaco en Xochimilco se registró en el Cuadro 2.

En las muestras de agua de la zona agrícola de Cuemanco se identificaron: *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila* y *Vibrio fluvialis*, mientras que en sedimento se identificaron: *A. hydrophila*; en el acocil colectado en esta zona se identificaron 11 especies: *Salmonella pullorum*, *Hafnia alvei*, *Serratia* sp, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas diminuta*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *V. cholerae* El Tor, *V. fluvialis*, *Acinetobacter haemolyticus* (Cuadro 3). En la muestra de agua de la zona urbana de Cuemanco, se encontraron las enterobacterias *Pasteurella* sp, *P. putida* y *P. cepacia*; en la muestra de sedimento se identificaron dos especies: *Escherichia coli* y *A. hydrophila* (Cuadro 3). En la muestra de agua de la zona agrícola de Apatlaco se identificó *A. caviae*, *A. hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* sp y *Agrobacter radiobacter*; en el sedimento de la misma zona se aislaron e identificaron *A. hydrophila* y *E. coli*, (Cuadro 3). En la zona urbana del canal de Apatlaco se aislaron cepas de las cuatro principales familias de patógenos: Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae y Vibrionaceae. En el agua de esa zona se identificaron: *A. hydrophila*, *Salmonella* sp, *E. aerogenes*, *Pseudomonas* sp y *V. parahemolyticus*; en el sedimento se identificaron: *E. coli*, *P. diminuta*, *P. aeruginosa* y *V. algionolyticus* (Cuadro 3).

La determinación de los metales pesados biodis-

Cuadro 1

PARÁMETROS AMBIENTALES REGISTRADOS EN EL ÁREA DE MUESTREO EN LAS ZONAS URBANA Y AGRÍCOLA DE LOS CANALES APATLACO Y CUEMANCO, EN XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO
ENVIRONMENTAL PARAMETERS RECORDED IN THE SAMPLING AREAS OF THE URBAN AND AGRICULTURAL ZONES OF THE APATLACO AND CUEMANCO CHANNELS, IN XOCHIMILCO, MEXICO CITY

Channel	Zone	Temperature °C	pH	O ₂ mg/mL	Turbidness, cm	Depth, cm
Cuemanco	agricultural	19.2	7.31	62	20	130
	urban	20.9	6.51	16	40	140
Apatlaco	urban	20.1	6.51	44.2	40	140
	agricultural	20.4	6.42	35.9	40	130

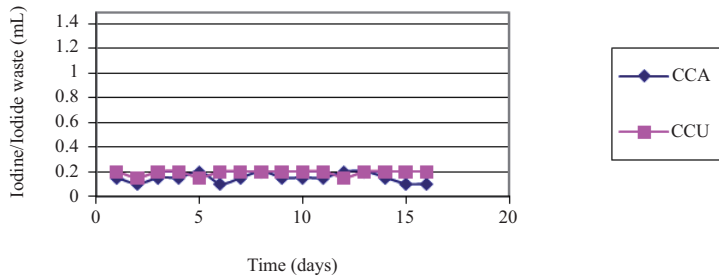


Figura 2: Actividad de bacterias sulfato-oxidativas en el sedimento del canal de Cuemanco. A: agrícola, U: urbana.

Figure 2: Sulfate-oxidative bacterial activity in the Cuemanco channel sediment. A: agricultural, U: urban.

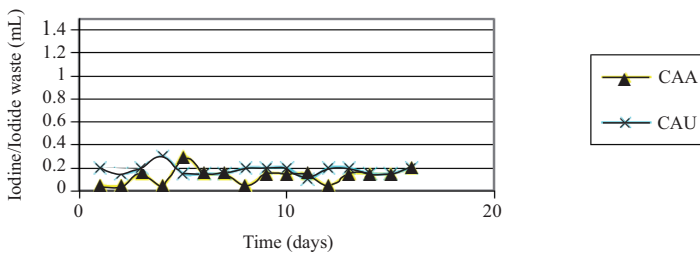


Figura 3: Actividad de bacterias sulfato oxidativas en el sedimento del canal de Apatlaco. A: agrícola, U: urbana

Figure 3: Sulfate-oxidative bacteria activity in the Apatlaco channel sediment. A: agricultural, U: urban.

that the higher sulfate reducing bacteria concentration is found in reducing sediments. The activity of sulfate-oxidative bacteria occurs when the pH of the body water oxic zone is neutral, this phenomenon was present in the Xochimilco channels, since the pH recorded in water coincides with the established,³¹ which induces the reactions of sulfur oxidation coming from the anoxic sediment.³⁰

In the aquatic environments of Xochimilco, all the collected samples surpassed the allowable maximum limits by the Mexican Official Norm (NOM-004) of the Department of Environmental and Natural Resources,³² by recording intervals between 3×10^{13} cfu/mL and 9×10^{13} cfu/mL of fecal coliforms and *Salmonella* sp; nevertheless, this is not determinant for excluding this zone as a potential system for aquaculture production, since it has been proved that

ponibles en el sedimento de las cuatro zonas, indicó presencia de 13 diferentes metales, Cr³⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Pb⁴⁺, Hg²⁺, Fe²⁺, Al³⁺, Ba²⁺, V⁵⁺, Co²⁺ y Ag¹⁺ (Cuadro 4). La concentración de metales pesados totales determinados en el acocil (*C. montezumae*), fueron similares a las que se presentaron en sedimento, entre éstos destacan: aluminio, 255 330 mg/ kg; hierro, 126 mg/kg; zinc, 75 mg/kg; cobre, 50 385 mg/kg; y bario, 33 222 mg/kg (Cuadro 5).

El resultado del análisis químico proximal efectuado en los acociles recolectados, en base seca, registró, 62.12% en proteínas totales; 6.27% en grasa; 16.93%; en cenizas; y 7.90% en fibra (Cuadro 6).

Discusión

Las algas filamentosas que se hallan en la zona agrí-

Cuadro 2

CARGA BACTERIANA DE MUESTRAS DE AGUA, SEDIMENTO Y ACOCIL (ufc/mL) OBTENIDA DE LAS ZONAS URBANA Y AGRÍCOLA DE LOS CANALES APATLACO Y CUEMANCO, EN XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO

BACTERIAL CHARGE OF WATER SAMPLES, SEDIMENT AND CRAYFISH (cfu/mL) OBTAINED FROM THE URBAN AND AGRICULTURAL ZONES OF THE APATLACO AND CUEMANCO CHANNELS, IN XOCHIMILCO, MEXICO CITY

Sample	Medium	Cuemanco		Apatlaco	
		Agricultural	Urban	Agricultural	Apatlaco Urban
Water	EMB	6×10^{14}	7×10^{13}	7×10^{14}	2×10^{14}
	BHI	2×10^{15}	3×10^{13}	7×10^{13}	1×10^{13}
	S-S	-	1×10^{13}	9×10^{13}	-
Sediment	EMB	4×10^{14}	9×10^{14}	-	1×10^{13}
	BHI	1×10^{14}	1×10^{15}	2×10^{14}	2×10^{13}
	S-S	3×10^{14}	-	1×10^{14}	3×10^{13}
Crayfish	EMB	3×10^3			
	BHI	6×10^3		-	
	S-S	-			

Not recorded.

there are no significant differences in cfu/mL quantity isolated in fish extracted from the contaminant zones with high bacterial content, in contrast to fish extracted from control systems and with low bacterial content, relying on specific studies reveal that diverse bacteria populate the surface of the gills.^{33,18}

In spite of having important bacterial charge and diversity of species recorded in crayfish, these have not been reported as pathogens for *C. montezumae*, probably because this possesses a natural immune system against bacteria of the Aeromonadaceae, Pseudomonadaceae, Vibrionaceae and Enterobacteriaceae families.³⁴⁻³⁶ The presence of *Pasteurella* sp in water samples, in the urban zone of Cuemanco, does not mean any risk for crayfish or for its consumer, because these bacteria form part of the normal flora of the respiratory and gastrointestinal tract of many aquatic organisms.³⁷

The fact of isolating *E. coli* from the Cuemanco channel, opportunist bacterium with potential pathogenicity,³⁰ indicated the drainage of residual water of domestic and agricultural use, whereas that channel receives greater discharge of contaminants by anthropogenic discharge products.^{12,38,39}

The agricultural activity developed in the Apatlaco agricultural zone, propitiates fecal contamination of water, determined by the presence of *Agrobacter radiobacter* and *Enterobacter cloacae*, which belong to the coliform group.³⁰

cola de Cuemanco invaden el cuerpo de agua, impiden el paso de la luz e incrementan la concentración de oxígeno;^{27,28} ello no ocurre en las otras zonas de muestreo.

Los sedimentos en ambas zonas de Cuemanco, presentan condiciones reductoras que, según Ramos-Bello *et al.*,²⁹ se deben al pH alcalino, que disminuye la aereación y la permeabilidad de los suelos. En estas condiciones reductoras la actividad de las bacterias sulfato-reductoras registraron los niveles más altos, ello concuerda con los trabajos de Madigan³⁰ y Postgate,²¹ quienes mencionan que la mayor concentración de bacterias sulfato-reductoras se halla en sedimentos reducidos. La actividad de las bacterias sulfato-oxidativas ocurre cuando el pH de la zona óxica del cuerpo de agua es neutro, este fenómeno se presentó en los canales de Xochimilco, ya que el pH registrado en el agua concuerda con lo establecido,³¹ lo que induce las reacciones de oxidación del sulfuro procedente del sedimento anóxico.³⁰

En los ambientes acuáticos de Xochimilco, todas las muestras recolectadas superaron los límites máximos permisibles por la Norma Oficial Mexicana (NOM-004) de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales,³² al registrarse intervalos entre 3×10^{13} ufc/mL y 9×10^{13} ufc/mL de coliformes fecales y *Salmonella* sp; sin embargo, esto no es determinante para desechar esta zona como un sistema potencial para la producción acuícola, ya que se ha comprobado

Cuadro 3

ESPECIES BACTERIANAS IDENTIFICADAS EN MUESTRAS DE AGUA, SEDIMENTO Y ACOCIL;
EXTRAÍDAS DE LAS ZONAS URBANA Y AGRÍCOLA DE LOS CANALES APATLACO
Y CUEMANCO EN XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO

BACTERIAL SPECIES IDENTIFIED IN SAMPLES OF WATER, SEDIMENT AND CRAYFISH;
EXTRACTED FROM THE URBAN AND AGRICULTURAL ZONES OF APATLACO AND CUEMANCO
CHANNELS, IN XOCHIMILCO, MEXICO CITY.

Cuemanco			Apatlaco					
Agricultural		Urban		Agricultural		Urban		
Water	Sediment	Crayfish	Water	Sediment	Water	Sediment	Water	Sediment
<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Salmonella pullorum</i>	<i>Pasteurella sp</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromona hydrophila</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>		<i>Hafnia alvei</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>Pseudomonas diminuta</i>
<i>Aeromonas sobria</i>		<i>Serratia marcescens</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>aerogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Vibrio fluvialis</i>		<i>Pseudomonas diminuta</i>			<i>Pseudomonas sp</i>		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>
		<i>Aeromonas hydrophila</i>			<i>Agrobacter radiobacter</i>			
		<i>Aeromonas sobria</i>						
		<i>Aeromonas caviae</i>						
		<i>Vibrio cholerae</i>						
		<i>El Tor</i>						
		<i>Vibrio fluvialis</i>						
		<i>Acinetobacter haemolyticus</i>						

According to Madigan,³⁰ the presence of *Salmonella* sp and *E. aerogenes* in water, indicates that the contamination proceeds from residual water discharges, this is what happens in the urban zone of Apatlaco, because it has human settlements which release drainage directly into the channel and generate an infectious focus. In this zone, presence of *V. parahaemolyticus* was recorded, pathogen of fish and humans.³⁷

Another aspect to be taken into consideration in the Xochimilco channels, is the presence of heavy metals; nevertheless, in the sample zone registries, the maximum allowable limits by the Mexican Official Norm (NOM-004) of the Department of Environment

que no existen diferencias significativas en cuanto a la cantidad de ufc/mL aisladas en peces extraídos de zonas contaminadas con alto contenido bacteriano, en comparación con peces extraídos de sistemas controlados y con bajo contenido bacteriano, en virtud de que estudios específicos revelan que diversidad de bacterias pueblan la superficie de las branquias.^{33,18}

A pesar de tener importante carga bacteriana y diversidad de especies registradas en acocil, éstas no se han registrado como patógenos para el *C. montezumae*, posiblemente debido a que éste posee un sistema de inmunidad natural contra bacterias de las familias Aeromonadaceae, Pseudomonadaceae, Vibrionaceae

Cuadro 4

METALES PESADOS BIODISPONIBLES REGISTRADOS EN SEDIMENTO EXTRAÍDO
DE LAS ZONAS URBANA Y AGRÍCOLA DE LOS CANALES APATLACO Y CUEMANCO,
EN XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO
BIO-AVAILABLE HEAVY METALS RECORDED IN SEDIMENT EXTRACTED
FROM THE URBAN AND AGRICULTURAL ZONES OF THE APATLACO AND
CUEMANCO CHANNELS, IN XOCHIMILCO, MEXICO CITY

Bio-available metal mg/kg	Cuernavaca Agricultural	Cuernavaca Urban	Apatlaco Agricultural	Apatlaco Urban	Maximum allowable limits
					* NOM-127-SSA1-1994 ** NOM-004-SEMARNAT-2002
Al	4.39226	3.34904	8.54290	8.84673	0.20*
V	0.29969	0.83630	0.72265	1.20648	
Cr	0.04315	0.01387	0.05011	0.07079	1200-3000**
Fe	151.92645	189.26761	28.83922	222.04117	0.30*
Co	0.08864	0.16839	0.03636	0.33197	
Ni	0.63728	0.96477	0.19637	1.07673	420-420**
Cu	0.02583	0.01977	.01507	0.04432	1500-4300**
Zn	0.21830	5.89342	0.92643	7.83831	2800-7500**
Ag	< 0.01477	< 0.01477	< 0.01477	< 0.01477	
Cd	< 0.02758	< 0.02758	< 0.02758	< 0.02758	39**
Ba	8.71966	8.23230	2.77046	5.75583	0.70*
Pb	0.03024	0.07715	0.03314	0.08975	300-840**
Hg	0.04223	0.02975	0.07963	0.09213	17-57**

and Natural Resources were not exceeded³² for Cr³⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Pb⁴⁺ and Hg²⁺. Low concentrations of these metals are due to sulfate reducing bacteria, that by generating sulfur hydrogen, cause precipitation of soluble and insoluble bio-available metals and transform them in usable compounds;^{6,30} therefore, they are no more available in the sediment. Another important factor was the pH, since if this is greater than 6.0 and there is a high level of organic matter and clay, low activity of metal ions in solution is kept.²⁹ Besides, no toxicity problems are present by the increment in the availability of metals, since they are almost totally absorbed, fixated or precipitated to the sediment.²⁹

The Ba²⁺ and Fe²⁺ exceeded the maximum allowable limits in all sampling zones [(NOM-12714), but due to the activity of sulfate reducing bacteria, these, by producing hydrogen sulfide, provoke its precipitation dissolving them as metal sulfides, for which its bio-availability is reduced.^{1,40}

Even when heavy metals exist in crayfish, these count with diverse metabolic mechanisms through which they incorporate and store heavy metals in the exoskeleton (Pb⁴⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺), which utilize and later, when saturated they are expelled.⁴¹⁻⁴³

y Enterobacteriaceae.³⁴⁻³⁶ La presencia de *Pasteurella* sp en muestras de agua, en la zona urbana de Cuernavaca, no significa ningún riesgo para el acocil ni para su consumidor, debido a que estas bacterias forman parte de la flora normal del tracto respiratorio y gastrointestinal de muchos organismos acuáticos.³⁷

El hecho de aislar en el canal de Cuernavaca *E. coli*, enterobacteria oportunista con patogenicidad potencial,³⁰ indicó el desagüe de aguas residuales de uso doméstico y pecuario, por lo que ese canal recibe mayor descarga de contaminantes por productos de desecho antropogénico.^{12,38,39}

La actividad agropecuaria que se desarrolla en la zona agrícola de Apatlaco Agrícola, propicia la contaminación fecal del agua, indicada por la presencia de las cepas *Agrobacter radiobacter* y *Enterobacter cloacae*, que pertenecen al grupo de las coliformes.³⁰

Según Madigan,³⁰ la presencia de *Salmonella* sp y *E. aerogenes* en agua indica que la contaminación proviene de descargas de aguas residuales, esto ocurre en la zona urbana de Apatlaco, pues tiene cerca asentamientos humanos que liberan desagües directamente al canal y con ello generan un foco de infección. En esta zona se registró presencia de *V. parahaemolyticus*, patógeno de peces y de humanos.³⁷

Cuadro 5

METALES PESADOS TOTALES OBTENIDOS DE LOS *C. Montezumae* EXTRAÍDOS DEL CANAL DE CUEMANCO EN LA ZONA AGRÍCOLA DE XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO
 HEAVY METAL TOTALS OBTAINED FROM *C. Montezumae* EXTRACTED FROM THE CUEMANCO AGRICULTURAL ZONE OF XOCHIMILCO, MEXICO CITY.

Total heavy metals in crayfish Cambarellus Montezumae (Saussure, 1857)

<i>mg/kg</i>												
Al	V	Cr	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ag	Cd	Ba	Pb	Hg
255.330	1.26	0.680	126	0.411	4.893	50.385	75	1.717	0.042	33.222	0.644	0.025

Cuadro 6

CALIDAD NUTRIMENTAL DEL ACOCIL *C. Montezumae*, COMPLETO, INCLUYENDO EXOESQUELETO, HEPATOPÁNCREAS Y CABEZA, EXTRAÍDO DEL CANAL DE CUEMANCO, ZONA AGRÍCOLA DE XOCHIMILCO, CIUDAD DE MÉXICO
 NUTRIMENTAL QUALITY OF CRAYFISH *C. Montezumae*, COMPLETE, INCLUDING SKELETON, HEPATOPANCREAS AND HEAD EXTRACTED FROM THE CUEMANCO CHANNEL, AGRICULTURAL ZONE OF XOCHIMILCO, MEXICO CITY.

<i>Dry base</i>	
<i>Nutrimint</i>	<i>% Crayfish</i>
Protein	62.12
Fat	6.27
Ashes	16.93
Fiber	7.90

Due to the size and body characteristics of the *C. montezumae* extracted from reduced environments, this can be totally ingested, including the exoskeleton, for that motive the protein content was determined in the whole organism, this was recorded at higher level with a difference of 45.12%, in contrast with the level of proteins recorded in muscle of crayfish cultured in aquariums (17%),⁴⁴ besides, this difference could be due to the fact that crayfish that live in reduced environment feed on organic matter and other invertebrates that are a protein source.

Even though the reduced environment studied exceeded the maximum allowable limits of bacterial charge and Fe²⁺ and Ba²⁺ heavy metals, it can be used for *C. montezumae* production, since the crayfish did not exceed the heavy metal allowable limits that could have made it toxic; even when this contains diverse bacterial species; some of pathogenic importance, they are not considered threatening for human health, since among the uses and customs of the region community, main consumers of this product, these organisms before being commercialized or consumed, are subjected to two disinfectant processes: boiled and

Otro aspecto a considerar en los canales de Xochimilco es la presencia de metales pesados; sin embargo, en los registros de las zonas de muestreo no se rebasaron los límites máximos permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-004) de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales,³² para Cr³⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Pb⁴⁺ y Hg²⁺. Las bajas concentraciones de estos metales se deben a que las bacterias sulfato-reductoras, al generar sulfuro de hidrógeno, causan la precipitación de los metales solubles e insolubles biodisponibles y los transforman en compuestos utilizables,^{6,30} por lo que ya no se encuentran disponibles en el sedimento. Otro factor importante fue el pH, ya que si éste es mayor de 6.0 y existe un alto nivel de materia orgánica y arcilla, se conserva baja actividad de los iones de los metales en solución.²⁹ Además, no se presentan problemas de toxicidad por un incremento en la disponibilidad de los metales, ya que son casi totalmente adsorbidos, fijados o precipitados al sedimento.²⁹

El Ba²⁺ y Fe²⁺ excedieron los límites máximos permisibles en todas las zonas de muestreo (NOM-12714), pero debido a la actividad de las bacterias sulfato-

roasted, means by which this product loses the risk of these microorganisms; besides, crayfish is an excellent source of protein, fiber and fat for human consumption.

Referencias

1. WEBB MC GINNESS, LAPPIN SCOTT, WEBB JEREMY S. Metal removal by sulphate-reducing bacteria from natural and constructed wetlands. *J Appl Microbiol* 1998; 84:240-248.
2. HAACK-SHERIDAN, FOGARTY L R, WEST TG, ALMEIDA, MCGUIRE JT, LONG DT *et al.* Spatial and temporal changes in microbial community structure associated with recharge influenced chemical gradients in a contaminated aquifer. *Env Microbiol* 2004;6:438-448.
3. ULRICH GA, KRUMHOLZ LE. A rapid and simple method for estimating sulfate reduction activity and quantifying inorganic. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63 (4): 16-27.
4. JORGENSEN BB. The microbial sulphur cycle. Microbial geochemistry. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1983.
5. BARG UC. Orientación para la promoción de la ordenación medio ambiental del desarrollo de la acuicultura costera. Roma, Italia: FAO Documentos técnicos de pesca Fisheries Technical 1992;138.
6. ERLER D, POLLARD P, DUNCAN P, KNIIBB W. Treatment of shrimp farm effluent with omnivorous finfish and artificial substrates. *Aquaculture Res* 2004;35:816-827.
7. BACHERE E. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture* 2000;191:3-11.
8. LE MOULLAC G. HAFFNER P. Environmental factors affecting immune responses in crustacea. *Aquaculture* 2000;191:121-131.
9. MUSTAFA MH. The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture* 2003;230:181-187.
10. OTA H, KINJO S. Nature farming and shrimp production in South America. Seventh International Conference on Kyusei Nature Farming. Proceedings of the conference held at Christchurch; 2002 January 15-18; New Zealand Bangkok. New Zealand Bangkok: Asia Pacific Natural Agriculture Network (APNAN), 2003: 226-228.
11. JACKSON JC, PRESTON N, BURFORD MA, THOMPSON PJ. Manning the development of sustainable shrimp farming in Australia: the role of sedimentation ponds in treatment of farm discharge water. *Aquaculture* 2003;226:23-34.
12. JUAREZ-FIGUEROA LA, SILVA-SANCHEZ J, URIBESALAS FJ, CIFUENTES-GARCIA E. Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco channels, Mexico City. Mexico City: Salud Pública de México 2003; 45 (5):389-395.
13. UNESCO. Proyecto para la identificación participativa de un plan de rehabilitación integral del patrimonio cultural de Xochimilco. México DF: UNESCO, 2005.
- reductoras, éstas, al producir ácido sulfhídrico, provocan su precipitación, disolviéndolos como sulfitos de metal, por lo que su biodisponibilidad se reduce.^{1,40}
- Aun cuando existen metales pesados en el acocil, cuenta con diversos mecanismos metabólicos mediante los que incorpora y almacena en el exoesqueleto metales pesados (Pb^{4+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}), que utiliza y posteriormente, cuando se satura de ellos, los expulsa.⁴¹⁻⁴³
- Debido al tamaño y características corporales del *C. montezumae* extraído de ambientes reducidos, éste se puede ingerir en su totalidad, incluido el exoesqueleto, por tal motivo se determinó el contenido proteínico en el organismo completo, esto registró mayor nivel, con diferencia de 45.12%, en comparación con el nivel de proteínas registrado en músculo de acociles cultivados en acuarios (17%),⁴⁴ esta diferencia podría deberse, además, a que los acociles que habitan en ambientes reducidos se alimentan de materia orgánica y de otros invertebrados que son fuente de proteínas.
- A pesar de que el ambiente reducido estudiado rebasó los límites máximos permisibles de carga bacteriana y de los metales pesados Fe^{2+} y Ba^{2+} , se puede utilizar para la producción de *C. montezumae*, ya que el acocil no sobrepasó los niveles permisibles de metales pesados que lo podrían haber hecho tóxico; aun cuando éste contiene diversas especies bacterianas; algunas con importancia patogénica no se consideran de riesgo para la salud humana, pues entre los usos y costumbres de los pobladores de la región, principales consumidores de este producto, estos organismos antes de ser comercializados o consumidos son sometidos a dos procesos de desinfección; de cocción con agua hirviendo y asándolos a fuego directo, por medio de los cuales el producto pierde el riesgo de estos microorganismos; además, el acocil, al ser excelente fuente de proteínas, fibra y grasa, es apto para el humano.
14. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1994. Salud ambiental, para uso y consumo humano – límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. 18 enero 1996.
15. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 1995. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-022-PESCA-1994. Que establece las regulaciones de higiene y su control, así como la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en las instalaciones y procesos de las granjas acuícolas. 26 enero 1995.
16. APHA. Standard Methods for examination of water and wastewater. 14th ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
17. RODIER J. Análisis de las aguas. 2^{da} ed. Barcelona: Omega, 1990.
18. MACHESKY ML, SLOWIKOWSKI JA, CAHILL RA, BOGNER CW, MARLIN JC, HOLM TR *et al.* Sediment

- quality and quantity issues related to the restoration of backwater lakes along the Illinois River waterway. *Aquat Ecosystem Health Management Soc* 2005;8:33-40.
19. RODRÍGUEZ-SERNA M, CARMONA-OSALDE C. Balance energético del acocil *Cambarellus montezumae* (Saussure) (Crustacea Astacidae Cambride) pérdida de energía en la tasa metabólica. *Universidad y Ciencia* 2002; 18 (36):128-134.
 20. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Crustáceos en conserva. Especificaciones sanitarias. 27 febrero 1995
 21. POSTEGATE JR. *The Sulphate-Reducing Bacteria*. Cambridge: University Press, 1969.
 22. DÍAZ R, GAMANZO C, LÓPEZ GI. *Manual práctico de microbiología*. Madrid: España: MASSON, 1998.
 23. *MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO MERCK*. Darmstadt Alemania: Merk KGaA, 1999.
 24. ANALYTICAL PROFILE INDEX. *Enterobacteriaceae* and other Gram negative Bacteria. 4th ed. France: BioMerioux, 1997.
 25. ANALYTICAL PROFILE INDEX. *Enterobacteriaceae* and other Gram negative Bacteria. 9th ed. Paris, France: BioMerioux, 1989.
 26. A.O.A.C. *Official methods of analysis*. 15th ed. Washington: Association of Official Agricultural Chemists, 1990.
 27. SMITH MG. *Manual of phycology an introduction to the algae and their biology*. New York: The Ronald Press company, 1992.
 28. LANDAW M. *INTRODUCTION TO AQUACULTURE*. NEW YORK: John Wiley & Sons, 1991.
 29. RAMOS-BELLO R, CAJUSTE JL, FLORES-ROMÁN D, GARCÍA-CALDERÓN NE. Metales pesados, sales y sodio en suelos de chinampa en México. *Agrociencia* 2001;35:385-395.
 30. MADIGAN TM, MARTINKO MJ, PARKER J. *Biología de los microorganismos*, 8^{va} ed. Madrid: Prentice Hall, 2000.
 31. HÄUBI SC. *Teoría Ácido Básico de Stewart: Aplicaciones prácticas de una nueva teoría de la regulación del pH en los sistemas biológicos*. México DF: Cigoma, 2004.
 32. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección Ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. 15 agosto 2003.
 33. APUN K, YUSOF AM, JUGANG K. Distribution of bacteria in tropical freshwater fish and ponds. *Int J Environ Health Res* 1999; 9: 285-292.
 34. VÁZQUEZ L, SIERRA C, JUÁREZ S, AGUNDIS C, ZAVALA A, ZENTENO E. Mecanismo de inmunidad en crustáceos. *Interciencia* 1998; 23:344-348.
 35. DIAS BAINY. Biochemical response in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture* 2000;191:163-168.
 36. RODRIGUEZ J, LE MOULLAC G. State of the art of immunological tolols and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 2000 (191): 109-119.
 37. BROWN L. *Acuicultura para veterinarios: Producción y clínica de peces*. Zaragoza España: Acribia SA, 2000.
 38. PETERSEN A, DALSGAARD A. Antimicrobial resistance of intestinal aeromonas spp. And enterococcus spp. In fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailandia. *Aquaculture* 2003;219:71-82.
 39. ANGULO F. Agentes microbianos en acuicultura: impacto potencial en la salud pública. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 20 :217-219.
 40. MONROY M, DÍAZ-BF, RAZO I, CARRIZALES L. Evaluación de la contaminación por Arsénico y metales pesados (Pb, Cu, Zn) y análisis de riesgo en salud en Villa de la Paz-Matehuala, S.L.P. México DF: Instituto de metalurgia Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2002.
 41. AHEARN GA, MANDAL PK, MANDAL A. Mechanism of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *J Comp Physiol Biol* 2004; 174: 439-452.
 42. MARDSEN ID, RAINBOW PS. Does the accumulation of trace metal in crustaceans affect their ecology- the amphipod example? *J Exp Mar Bio Eco* 2004; 300: 373-408.
 43. GHERARDI F, BARBARESI S, VASELLI O, BENCINA A. A comparison of trace metal accumulation in indigenous and alien freshwater macro-decapods. *Mar Fresh Behav. Physiol.* 2001; 35: 179-188.
 44. GIL-SANCHEZ, ALBA-TORCEDOR. Ecology of the native and introduced crayfishes *Astropotamobius pallipes* and *Procambarus clarkii* in southern Spain implications for conservation of the native species. *Biol Conserv* 2002, 105: 75-78.ç