



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Evaluación del estrés oxidante en la tilapia *Oreochromis
niloticus* de la zona lacustre urbano-agrícola de
Xochimilco, D.F., México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

Yazmin Valenzuela Velazquez



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Ruth Cecilia Vanegas Pérez
2016**

México, D.F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno

Apellido paterno
Apellido materno
Nombre (s)
Teléfono
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Carrera
Número de cuenta

1. Datos del alumno

Valenzuela
Velazquez
Yazmin
56196521
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307130996

2. Datos del tutor

Grado
Nombre (s)
Apellido paterno
Apellido materno

2. Datos del tutor

Dra.
Ruth Cecilia
Vanegas
Pérez

3. Datos del sinodal 1

Grado
Nombre (s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Irma Aurora
Rosas
Pérez

4. Datos del sinodal 2

Grado
Nombre (s)
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos de sinodal 2

Dra.
Claudia Alejandra
Ponce de León
Hill

5. Datos del sinodal 3

Grado
Nombre (s)
Apellido paterno
Apellido materno

5. Datos del sinodal 3

Dra.
María Eugenia
Gonsebatt
Bonaparte

6. Datos del sinodal 4

Grado
Nombre (s)
Apellido paterno
Apellido materno

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Sebastián Ricardo
Zúñiga
Lagunes

7. Datos del trabajo escrito

Título

Número de páginas
Año

7. Datos del trabajo escrito

Evaluación de estrés oxidante en la tilapia *Oreochromis niloticus* de la zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco, D.F., México
86 p.
2016

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico primeramente con todo mi amor a:

Mis padres, María y Fernando, quienes desde siempre me apoyaron y me guiaron para llegar a la culminación de esta primera etapa de mi vida, gracias a sus consejos, esfuerzo y amor; por dejarme volar, siempre vigilando mi vuelo; por llevarme de la mano hasta que tuve la capacidad de caminar sola, no por ello sin su compañía; por todos esos momentos mágicos a su lado. Por todo esto y muchas cosas más, con todo mi cariño es para ustedes este trabajo.

Para ti Erwin, que revolucionaste mi vida, por tus consejos, apoyo y amor, por ser parte de este sueño, por siempre levantarme cuando pensé que caía, por tu apoyo incondicional en cada momento.

Y por último gracias a la vida, por permitirme conocer este mundo y encontrar a las personas más maravillosas... Siempre estarán en mi corazón. Gracias!!!

Yaz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que formaron parte de este recorrido y estuvieron conmigo compartiendo un pedacito de este sueño, ahora hecho realidad.

Primeramente a la UNAM que se convirtió en mi segunda casa y en especial a la Facultad de Ciencias, en donde recorrí todo el camino para llegar a convertirme en una Bióloga, por todos los triunfos y tropiezos realizados y por todos los amigos y compañeros que conocí en el camino, por dejarme tantas enseñanzas y a un gran hombre.

A la Dra. Cecilia Vanegas Pérez, a la cual le tengo una gran admiración, respeto y cariño, por ser más que mi asesora de tesis, por todas sus enseñanzas, consejos y apoyo en la realización de esta tesis, por acompañarme durante este camino y adentrarme al extraordinario mundo de la Ecotoxicología. Al M. en C. Sebastián Zúñiga Lagunes, al cual admiro mucho, por todo su apoyo y paciencia, por recordarme desde cómo hacer cálculos hasta enseñarme el manejo de todos los equipos y pruebas y por estar siempre presente en cada análisis. A los miembros de la UNAAMB, por alojarme en este lugar en donde me incursioné para aprender y desarrollar gran parte de mi trabajo, en especial al M. en C. Manuel Hernández Quiroz, por todo su apoyo y ayuda, al cual le tengo un gran aprecio y respeto. A mis compañeros de laboratorio, Celeste, Adriana y Sebastian, por acompañarnos durante esta gran etapa.

De igual manera agradezco a la Dra. Irma Rosas Pérez, a la Dra. Claudia Ponce de León Hill y a la Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte por sus comentarios y sugerencias que ayudaron al mejoramiento y enriquecimiento de este trabajo. De manera importante, agradezco el apoyo otorgado por el DGAPA-UNAM a través del programa PAPIME-PE205013 para la realización de este estudio y a la M. en C. Elizabeth Alvarez por su ayuda en el análisis de metales en el ICP-MS.

Gracias a todos los que no menciono pero formaron parte de este gran recorrido, a mis grandes amigos que a pesar de la distancia seguimos juntos.

Y finalmente agradezco el apoyo incondicional de mis padres María de la Luz Velazquez Trejo y Fernando Valenzuela Pérez ya que sin su apoyo, confianza y esfuerzo este trabajo no hubiera sido posible; a mi novio Erwin Vázquez García, por haber estado en cada momento, desde el inicio hasta el término de esta primera etapa, por su ayuda y comprensión.

Gracias

Evaluación del estrés oxidante en la tilapia *Oreochromis niloticus* de la zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco, D.F., México

CONTENIDO	pag.
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Xochimilco. Problemática de la zona lacustre urbano-agrícola	1
1.2. Estrés oxidante inducido por metales	3
1.3. Biomarcadores de exposición y de efecto	7
1.3.1. Nivel Bioquímico	7
1.3.1.1. Biomarcadores de efecto oxidante. Sistema Glutación	7
1.3.1.2. Biomarcadores de exposición. Metalotioneínas	9
1.3.2. Nivel Fisiológico	12
1.3.2.1. Biomarcadores de efecto. Índices de Condición	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. HIPÓTESIS	15
5. OBJETIVOS	15
5.1. Objetivo general	15
5.2. Objetivos particulares	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS	16
6.1. Área de estudio	17
6.1.1. Especie de estudio	19
6.2. Sitios de muestreo (captura <i>in situ</i> de organismos)	21
6.3. Respuestas evaluadas	21
6.3.1. Nivel fisiológico. Biomarcadores de efecto	21
6.3.1.1. Índice de Condición de Fulton	22
6.3.1.2. Índice Hepatosomático	22
6.3.1.3. Índice Gonadosomático	22
6.3.2. Nivel bioquímico	22
6.3.2.1. Biomarcador de efecto oxidante. Sistema Glutación	22
6.3.2.2. Biomarcador de exposición y efecto. Metalotioneínas	23
6.3.2.3. Acumulación hepática de metales. Marcador de exposición	25
6.4. Análisis estadístico	26

7. RESULTADOS	26
7.1. Parámetros fisicoquímicos	26
7.2. Captura por unidad de esfuerzo (CPUE)	27
7.3. Respuestas evaluadas	28
7.3.1. Acumulación hepática de metales	28
7.3.2. Nivel Bioquímico	33
7.3.2.1. Biomarcador de efecto oxidante. Sistema Glutación	33
7.3.2.2. Biomarcador de exposición y efecto. Metalotioneínas	37
7.3.2.3. Proteínas Solubles Totales	38
7.3.3. Nivel fisiológico	39
7.3.3.1. Parámetros morfométricos y proporción sexual	39
7.3.3.2. Índice de Condición de Fulton	40
7.3.3.3. Índice Hepatosomático	40
7.3.3.4. Índice Gonadosomático	41
7.4. Análisis de Componentes Principales (ACP)	
8. DISCUSIÓN	44
8.1. Parámetros fisicoquímicos	45
8.2. Acumulación hepática de metales	45
8.3. Indicadores fisiológicos	47
8.4. Biomarcador de efecto. Sistema Glutación	50
8.5. Biomarcador de exposición y de efecto. Metalotioneínas	53
9. CONCLUSIONES	57
10. LITERATURA CITADA	59
11. ANEXOS	68
11.1. Determinación de la concentración hepática de Metalotioneínas en <i>O. niloticus</i>	68
11.1.1. Curva patrón de Ag ($\mu\text{g Ag/ml}$)	68
11.1.2. Curva Patrón de Metalotioneínas ($\mu\text{g MT/ml}$)	68
11.2. Análisis de Componentes Principales (ACP)	70
11.3. Tablas comparativas	72

RESUMEN

La zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco, localizada al sur de la ciudad de México, es receptor de múltiples contaminantes entre los que destacan los metales los cuales son de particular interés en estudios ecotoxicológicos debido a su persistencia en el medio natural y a su capacidad de estimular la producción de especies reactivas de oxígeno e inducir estrés oxidante. En la zona lacustre de Xochimilco, la tilapia *Oreochromis niloticus* fue introducida a inicios de la década de los 70's a través de un Programa Nacional de Acuicultura. Su amplia tolerancia ambiental, adaptabilidad trófica, alta tasa de reproducción, abundancia, amplia distribución y capacidad de habitar ambientes contaminados, la sitúa como una especie adecuada para estudios de monitoreo ambiental. Sin embargo, por sus características, la tilapia se ha convertido en una especie invasora exitosa, depredadora y competidora de las especies nativas de los ambientes acuáticos incluida la zona lacustre de Xochimilco. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar en la especie tolerante *O. niloticus* marcadores de exposición y de efecto a la exposición de metales bajo diferentes escenarios *in situ* de impacto urbano-agrícola de la zona lacustre de Xochimilco y, analizar la probable relación de causalidad con la concentración hepática de metales. Las tilapias (10 a 20 ejemplares adultos por sitio) fueron capturadas *in situ* en seis sitios con diferente impacto urbano agrícola (Bordo, Apampilco, Apatlaco, La Draga, San Diego, L. Asunción) en los que se registraron los parámetros fisicoquímicos de temperatura, conductividad, salinidad, pH, oxígeno disuelto y profundidad. Para evaluar la condición oxidante celular se evaluó a nivel hepático el sistema glutatión como biomarcador de efecto (glutatión total GSH-T, glutatión reducido GSH, glutatión oxidado GSSG, y razón GSH/GSSG) y la concentración de Metalotioneínas (MT) como indicador de exposición a metales. A la vez, se determinaron los Índices de Condición de Fulton (IF), Gonadosomático (IG) y Hepatosomático (IH) como indicadores de condición fisiológica global y la Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE). Adicionalmente se determinó la concentración hepática de metales esenciales y sin función biológica conocida. Los resultados obtenidos demuestran que las tilapias de todos los sitios

presentan un severo estrés oxidante. Los indicadores del sistema glutatión denotan que las tilapias provenientes de los sitios de mayor impacto urbano (San Diego, La Asunción, La Draga) presentan los mayores niveles de estrés oxidante; no obstante, la mayor inducción hepática de MTs observada en los ejemplares de *O. niloticus* provenientes de Apatlaco da cuenta de su participación en la protección al estrés oxidante y efecto tóxico de los metales. No se encontró una relación positiva entre la expresión hepática de los biomarcadores glutatión y MTs, con los metales totales y principales inductores de estrés oxidante (MTIEO, MPIEO) y los metales totales y principales inductores de metalotioneínas (MTIMT, MPIMT), respectivamente, lo que sugiere la participación de múltiples estresores ambientales. Sin embargo, los indicadores fisiológicos y la CPUE confirman que los organismos de Apatlaco y Apampilco, fueron los que presentaron una menor alteración respecto a las tilapias de los demás sitios.

Los resultados obtenidos demuestran que en estudios de campo en ambientes de elevado deterioro ambiental debido al aporte de múltiples contaminantes como es la zona lacustre de Xochimilco, la evaluación conjunta de múltiples biomarcadores de exposición y de efecto, aunado a la acumulación hepática de contaminantes relevantes como los metales, son necesarios para dar cuenta de la condición de estrés oxidante a la cual están sujetos los organismos. Los resultados obtenidos denotan que en un sistema acuático “cerrado” como es la zona lacustre de Xochimilco aún especies móviles de reconocida tolerancia ambiental como *O. niloticus* pueden ser utilizadas como especies centinela (biomonitores) en programas de monitoreo ambiental ya que exhiben respuestas diferenciales en sitios de diferentes niveles de impacto urbano-agrícola.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Xochimilco. Problemática de la zona lacustre urbano-agrícola

El sistema Lacustre “Ejidos de Xochimilco” y “San Gregorio Atlapulco” se localiza en la parte centro-sureste del Distrito Federal, México; está ubicado en las porciones centro y norte de la Delegación Política de Xochimilco y está incluido en un polígono definido como Área Natural Protegida (GODF, 2006), cuya superficie es de 2522 ha (SEDEMA, 2006-2012). Este sistema acuático constituye un ecosistema remanente de la Cuenca del Valle de México de lo que fueran los lagos de Xaltocan, Zumpango, Texcoco, Xochimilco y Chalco, los cuales abarcaban 920 km² aproximadamente de la cuenca de México; actualmente está conformado por un sistema complejo con aproximadamente 40 km² de canales artificiales, lagos pequeños y humedales temporales entre las áreas rurales y urbanas (Zambrano et al., 2009), además de islas artificiales llamadas “chinampas” donde se ha ido sustituyendo gradualmente la agricultura tradicional por métodos tecnificados (Merlín-Uribe et al., 2013; 2013a; Robles-Mendoza et al., 2009).

La función histórica de este sistema acuático como proveedor de agua a la Ciudad de México ha determinado el desecamiento de los manantiales que lo alimentan, la sustitución de esta agua por agua proveniente de plantas de tratamiento de aguas residuales y la sobre-explotación del acuífero. Esto ha propiciado cambios en el patrón hidrológico del sistema, el descenso en el nivel de las aguas del lago y el hundimiento gradual del suelo (Recuero et al., 2010; Mazari-Hiriart et al., 2008). A la vez, se manifiestan procesos potenciales de contaminación por la entrada de descargas clandestinas, descargas de aguas residuales, descargas directas domiciliarias, aporte de aguas de tormenta y la escorrentía de las chinampas (SECITI-GDF I, 2015; Robles-Mendoza et al., 2009; Zambrano et al., 2009; INECOL, 2002).

Producto de estos aportes, el incremento de múltiples contaminantes en el sistema es significativo entre los cuales destacan agroquímicos y plaguicidas, hidrocarburos poliaromáticos, grasas, aceites, solventes, compuestos farmacológicos, compuestos nitrogenados y metales, aunado al aporte de microorganismos potencialmente patógenos y material particulado (Contreras et al., 2009; Mazari-Hiriart et al., 2008), lo cual ha

deteriorado la calidad del agua de los canales y ha repercutido en la pérdida de hábitats terrestres y acuáticos (INECOL, 2002). Todo lo anterior ha conducido a graves problemas de impacto ambiental en la zona lacustre que atentan contra su condición de Patrimonio Cultural de la Humanidad (UNESCO, 2003), de Área Natural Protegida (GODF, 2006) y de Sitio Ramsar (RCW, 2007).

La degradación de la calidad del agua obedece en parte al manejo inadecuado de las aguas residuales que son vertidas a los canales de Xochimilco. De acuerdo a datos del SACMEX, la zona lacustre de Xochimilco recibe aportes principalmente de tres plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs; Cerro de la Estrella, San Luis Tlaxialtemalco y San Lorenzo), plantas de tipo terciario que aportan un volumen total de 2,410 L/s, equivalente a un volumen de 208, 224 m³ diarios (92% del volumen proveniente de la PTAR Cerro de la Estrella); aunado a ello, se calcula una descarga directa de aguas negras domiciliarias de cerca de 20,000 m³, proveniente de las zonas urbanas alrededor del sistema (SECITI-GDF, PUMA-UNAM, 2014).

El incremento de las concentraciones de metales en agua, sedimento y biota en sistemas acuáticos, son un tema relevante de interés científico en relación a la salud de los ecosistemas y la salud pública. Su aporte por eventos naturales o antrópicos tiene consecuencias en los patrones de su distribución espacio-temporal, en los ciclos biogeoquímicos y en la biodisponibilidad para los organismos (Naji et al., 2014). Una problemática importante es la persistencia de los metales, su acumulación y acción tóxica en los organismos, características que los sitúan como uno de los principales estresores para la biota acuática (Kim et al., 2014; Zeng et al., 2012; Qadir y Malik, 2011). Los metales, pueden interferir en diferentes rutas metabólicas e inducir diferentes alteraciones celulares dependiendo de la concentración y propiedades del metal (Carvalho et al., 2012). La transferencia y biomagnificación de los metales a través de las tramas tróficas puede ocasionar a la vez transformaciones en la estructura y función de los ecosistemas (van der Oost et al., 2003).

Estudios realizados en la zona lacustre de Xochimilco demuestran que la concentración de metales tanto en agua como en sedimentos superan los límites establecidos por las normas ambientales internacionales de protección a la vida acuática, entre los que destacan los niveles de cobre, plomo, arsénico, cromo, níquel, mercurio, fierro y cobalto (González, 2006; Sandoval, 2003; Ramírez, 1990). Asimismo, estudios *in situ* realizados en especies sensibles como el ajolote *Ambystoma mexicanum* en los canales de Xochimilco demuestran que la exposición subcrónica (29 d) ocasiona una acumulación hepática significativa de metales los cuales se correlacionan con un efecto oxidante celular severo (Rodríguez, 2011).

1.2. Estrés oxidante inducido por metales

Los metales desempeñan un importante papel en una amplia variedad de procesos biológicos de los organismos vivientes. Algunos metales son componentes esenciales para el mantenimiento de las funciones normales biológicas; desempeñan una importante función como cofactores para el funcionamiento normal de numerosas enzimas (i.e. Se, Cu, Zn); son elementos estructurales de algunos factores de transcripción (i.e. Zn); participan en el control de diversas vías metabólicas y señalización celular (i.e. Zn, Fe, Cu, Co, Mn) y son fundamentales en el crecimiento y desarrollo celular (Valko et al., 2006; 2005). La homeostasis de los iones metálicos esenciales es mantenida a través de mecanismos que regulan su incorporación, almacenamiento y secreción/eliminación celular (García-Sevillano et al., 2015; Jomova y Valko, 2011). Sin embargo, pueden ejercer acción tóxica cuando se presentan en altas concentraciones, o cuando el organismo está expuesto a exposiciones crónicas ocasionando alteraciones celulares estructurales y funcionales (Lee et al., 2012; Formigari et al., 2007; Lynes et al., 2007). Contrario a los metales esenciales, los metales sin función biológica conocida (i.e. Cd, As, Pb, V, Hg) ejercen efectos tóxicos severos aún cuando la exposición ocurre a bajas concentraciones ya que compiten con los iones metálicos esenciales debido a “similitudes” físicas y químicas como valencia, radio iónico, geometría de coordinación, número de ligandos, características del ligando (carga neta, momento dipolo y polarizabilidad, donación de cargas/capacidad de aceptación, y denticidad (Dudev y Lim, 2014; Foster et al., 2014).

Los iones metálicos pueden ingresar a los organismos acuáticos a través de diferentes rutas: 1) la incorporación directa por el agua a través de las branquias o la piel; 2) la ingestión de partículas suspendidas y, 3) el consumo de alimento. Atraviesan las membranas celulares por transportadores de otros metales esenciales o de aniones orgánicos, dependiendo de su estructura y grado de ionización. La bioacumulación de los metales es principalmente determinada por su cinética de incorporación y de eliminación (Yilmaz et al., 2010; van der Oost et al., 2003).

Los metales como contaminantes son de particular interés debido a su persistencia en el medio natural, a su toxicidad y su capacidad para bioacumularse e incluso biomagnificarse a través de las tramas tróficas (Subotić et al., 2013; Authman et al., 2012). En los ambientes acuáticos, la biodisponibilidad de los iones metálicos es influida por factores fisicoquímicas del agua (i.e. pH, dureza, alcalinidad, temperatura, presencia de quelantes como sustancias húmicas) (Kanak et al., 2014; Martins et al., 2011; Yilmaz et al., 2010). Las diferencias específicas en la citotoxicidad de los iones metálicos están relacionadas con diferencias en su solubilidad, absorbilidad, afinidad por componentes celulares, transporte y concentración celular, reactividad química, y a los complejos celulares que se forman (Sfakianakis et al., 2015; Stohs y Bagchi, 1994).

Tanto los metales sin función biológica conocida como los esenciales en exceso interactúan por su elevada afinidad con los grupos sulfidrilos de las proteínas alterando su estructura y función (Lushchak, 2011; Formigari et al., 2007; Lynes et al., 2007). Un evento inicial común en la acción tóxica de todos los metales es la inducción de estrés oxidante debido a la alteración del balance redox celular, caracterizada por: a) alteración de la función y reducción de los antioxidantes celulares (principalmente GSH) y quelantes de radicales libres (i.e. vitamina E y C), b) inhibición de la actividad de varias enzimas que contribuyen al metabolismo y desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés; reactive oxygen species) y de nitrógeno (RNS por sus siglas en inglés; reactive nitrogen species), como la glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GSH-reductasa), glutatión transferasa (GSH-transferasa), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa

(SOD) y, c) el incremento en la producción de radicales libres y ROS (radical anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical peroxilo, radical hidroxilo (Formigari et al., 2007; Valko et al., 2005).

De manera particular, la inducción del estrés oxidante por la producción de ROS ocurre por dos vías, la vía directa y la indirecta. En la vía directa, los ROS son producidos por metales redox activos (i.e. Fe, Cu, Cr, Co, Ni, V) involucrados en la reacción de Fenton/Haber-Weiss. En la primera reacción un ión metálico reacciona con el H_2O_2 para generar el radical $\bullet OH$ más un ion metálico oxidado, mientras que en la reacción de Haber-Weiss, el $O_2\bullet$ media la generación del radical $\bullet OH$ a partir del H_2O_2 participando también en la reducción del Fe (III), entrando después a la reacción de Fenton (Lee et al., 2012). En la vía indirecta, los metales redox inactivos (i.e. Cd, Pb, As) pueden estimular indirectamente la generación de ROS al a) desplazar el Fe y Cu de las metalotioneínas (MTs) y otras metaloproteínas, metales reactivos que inducen a su vez la producción de ROS vía reacción de Fenton (Formigari et al., 2007) y b) al desplazar por competencia, iones metálicos constitutivos de metaloproteinas y moléculas antioxidantes enzimáticas (CAT, SOD, GPX) o por su enlace a grupos tiol de moléculas antioxidantes no enzimáticas (i.e. GSH), con lo cual se altera su función antioxidante y por ende la regulación de los niveles de ROS (Lee et al., 2012; Flora et al., 2008).

Las ROS son productos del metabolismo normal aerobio y es en el complejo III de la cadena transportadora de electrones de la mitocondria donde se produce la mayor cantidad de ROS. De manera normal, más del 90% del oxígeno se reduce por la vía de cuatro electrones teniendo como producto final la formación de H_2O ; sin embargo, del 1-10% de este oxígeno se reduce parcialmente por la vía desacoplada de tres electrones induciendo con esto la formación de ROS, como el radical anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\bullet OH$) (Lushchak, 2011; Circu y Aw, 2010). Dependiendo de su concentración, los ROS pueden ser benéficas o dañinas para las células y tejidos. A bajos niveles fisiológicos los ROS actúan como mensajeros redox para la regulación y señalización intracelular, son esenciales para el desarrollo adecuado y

proliferación celular y, amplifican la acción de factores de crecimiento (Schieber y Chandel, 2014; Circu y Aw, 2010; Bartosz, 2009). Como los ROS son continuamente generados, su concentración celular es un parámetro dinámico, donde la cantidad producida de ROS es igual a la eliminada, y cuyos niveles son regulados por el sistema antioxidante celular. Cuando el incremento transitorio o crónico de las concentraciones estables de ROS y la capacidad antioxidante celular es sobrepasada, ocurre la alteración del balance redox celular conocido como estrés oxidante, donde los ROS pueden ocasionar daño a los constituyentes celulares y generar alteraciones a las proteínas, al DNA y peroxidación de los lípidos, iniciando un proceso degenerativo que puede conducir a la apoptosis celular (Lee et al., 2012; Ray et al., 2012; Lushchack, 2011).

El efecto adverso de las especies reactivas de oxígeno está regulado por la acción de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, las cuales participan en la eliminación directa de los radicales libres y proveen la máxima protección al estrés oxidante para los organismos. Un buen antioxidante debe: 1) quelar los radicales libres; 2) quelar los metales redox; 3) interactuar con otros antioxidantes dentro de la “red antioxidante”; 4) tener un efecto positivo sobre la expresión de genes; 5) ser absorbido rápidamente y, 6) actuar en dominios acuosos y de membrana (Pisoschi y Pop, 2015; Valko et al., 2006). Los antioxidantes enzimáticos incluyen la superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GSH-reductasa), glutatión transferasa (GSH-transferasa) y catalasa (CAT). Los antioxidantes no enzimáticos incluyen los principales amortiguadores redox celulares: el sistema glutatión y el ácido ascórbico (vitamina C), además del α -tocoferol (vitamina E), el sistema tioredoxina y las metalotioneínas (Pisoschi y Pop, 2015; Formigari et al., 2007; Apel y Hirt, 2004).

Para evaluar el estrés oxidante inducido por metales en peces, el análisis de biomarcadores de exposición y efecto ha sido ampliamente utilizado en diversos estudios de laboratorio y campo, ya que como se ha descrito, su exposición ocasiona un incremento en la producción de ROS y conduce a la alteración del balance redox celular la cual puede ser cuantificable a través de múltiples indicadores o marcadores biológicos

(Kanak et al., 2014; Pathiratne et al., 2009; Linde-Arias et al., 2008; Monserrat et al., 2007).

1.3. Biomarcadores de exposición y de efecto

Los biomarcadores o marcadores biológicos son respuestas cuantitativas a diferentes niveles de organización biológica (molecular, celular, tisular, órganos, organismo) que reflejan una interacción entre el sistema biológico y el daño potencial químico, físico o biológico ocasionado por la exposición a químicos u otros estresores ambientales (Lam y Gray, 2003; Peakall, 1994). En un contexto ambiental, los biomarcadores demuestran de manera sensible la incorporación de un tóxico al organismo, su distribución en los tejidos y, la inducción de un efecto tóxico, lo cual aporta herramientas para relacionar la presencia de contaminantes en el ambiente (causa) y su efecto, proporcionando además información única sobre la salud del ecosistema (Carvalho et al., 2012). Los biomarcadores de exposición son utilizados para evaluar y confirmar la exposición de los individuos o población a una sustancia en particular, dando una relación entre la magnitud de la exposición externa y la concentración interna de los contaminantes y/o metabolitos, bajo análisis; los biomarcadores de efecto, permiten documentar alteraciones a nivel bioquímico, fisiológico o conductual asociadas a un efecto tóxico sobre el organismo debido a una exposición externa y la absorción de un xenobiótico (van der Oost et al., 2003).

1.3.1. Nivel Bioquímico

1.3.1.1. Biomarcadores de efecto oxidante. Sistema Glutación

El glutatión es el tiol celular más prevalente y el péptido de bajo peso molecular más abundante en las células, presente en concentraciones milimolares en procariontes y eucariontes; es el principal regulador no enzimático de la homeostasis redox intracelular. Este tripéptido rico en cisteína está presente en dos formas; la más abundante es su forma reducida (GSH) y, su forma oxidada (GSSG) es también nombrada como glutatión disulfuro (Masella et al., 2005; Rana et al., 2002; Deneke y Fanburg, 1989). Es sintetizado directamente de precursores de aminoácidos, en dos pasos: primero la γ -glutamilcisteína

sintetasa cataliza la unión de los aminoácidos glutamato y cisteína, y después, la glutatión sintetasa a la glicina (Rana et al., 2002).

El glutatión mantiene un ambiente redox celular óptimo para el correcto funcionamiento celular de las proteínas, y está compartimentalizado en distintos sitios redox, en el citosol, la mitocondria, el retículo endoplásmico y el núcleo (Masella et al., 2005). El GSH es la forma biológicamente activa y es oxidado a GSSG durante el estrés oxidante. Usualmente las células exhiben una alta razón GSH/GSSG, ya que del 90-99% del glutatión total (GSH-T) está en su forma reducida (GSH) y del 1-10% está en su forma oxidada (GSSG); así, la razón GSH/GSSG ofrece una simple y conveniente expresión del estado redox celular (Circu y Aw, 2010; Bell y Vallee, 2009; Deneke y Fanburg, 1989). El mantenimiento de la concentración baja de GSSG está dada por su reacción rápida con tioles de proteína, su reducción por el NADPH y la glutatión reductasa y, su transporte activo fuera de las células (Rana et al., 2002).

Diversas reacciones químicas y enzimáticas participan en la función antioxidante que tiene el GSH, cuyas funciones son: a) el transporte de aminoácidos; b) el mantenimiento del estado tiol-disulfuro; c) el secuestro de radicales libres; d) la transducción de señales; e) como cofactor esencial de diversas enzimas; f) como una forma de almacenamiento no tóxica de la cisteína y glutamato y, g) como defensa contra moléculas oxidantes y xenobióticos potencialmente tóxicos, como los metales (Formigari et al., 2007; Pompella et al., 2003; Peña-Llopis et al., 2001).

El estado tiol celular junto con las enzimas antioxidantes son importantes indicadores de daño oxidante y son utilizados en programas de monitoreo ambiental (Livingstone, 2001). Diversos estudios *in situ* (Franco et al., 2010; Falfushynska et al., 2010; Falfushynska y Stolyar, 2009) y de laboratorio (Eroglu et al., 2014; Kanak et al., 2014; Atli y Canli, 2008; Lima et al., 2006) evalúan las concentraciones de GSH-T, GSH, GSSG y la razón GSH/GSSG como biomarcadores relevantes de estrés oxidante en diferentes tejidos de especies de peces dulceacuícolas. Estos estudios demuestran que una disminución en la concentración

de GSH y de la razón GSH/GSSG son indicativos de una alteración oxidante celular, si bien también la inducción de GSH en peces expuestos a metales da cuenta de la participación del GSH como una primera línea de defensa a la acción adversa del estrés oxidante en los peces.

1.3.1.2. Biomarcadores de exposición y efecto. Metalotioneínas

Las metalotioneínas (MTs) son proteínas de bajo peso molecular (6-7 kDa), no enzimáticas, y comunes en todos los grupos (procariontes, protistas, hongos, plantas, animales). Presentan un alto contenido de metales, composición rica en aminoácidos (61-68) con alto contenido en cisteína y, están estructuralmente conformadas por dos dominios globulares (α y β) con diferente capacidad de asociarse con los iones metálicos (figura 1); la terminal C del dominio α contiene 11 cisteínas y la terminal N del dominio β contiene 9 cisteínas, donde el grupo tiol (-SH) de los residuos de cisteína hace capaz que la MT se una particularmente a los iones metálicos (Amiard et al., 2006; Haq et al., 2003; Klaassen et al., 1999; Roesijadi, 1992).

La síntesis de MTs puede ser inducida por una variedad de estímulos que incluyen los iones metálicos, citoquinas, la radiación y factores de crecimiento. Se ha demostrado que la concentración de MTs se incrementa significativamente durante el estrés oxidante celular como un mecanismo de protección a la oxidación de lípidos, proteínas y DNA (Ruttkay-Nedecky et al., 2013; Monserrat et al., 2007; Amiard et al., 2006).

Una de las características de los iones metálicos es su facilidad de ceder electrones. Por ello, se piensa que en las células los metales se encuentran siempre unidos a moléculas como proteínas que disminuyen su reactividad. Entre las moléculas que unen metales están las MTs. Sus funciones comprenden: a) la regulación de metales esenciales (i.e. Cu, Zn); b) la desintoxicación del exceso de metales tanto esenciales como sin función biológica conocida y, c) la reducción del estrés oxidante por el secuestro de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) (Formigari et al., 2007; Amiard et al., 2006; Chan et al., 2002; Park et al., 2001).

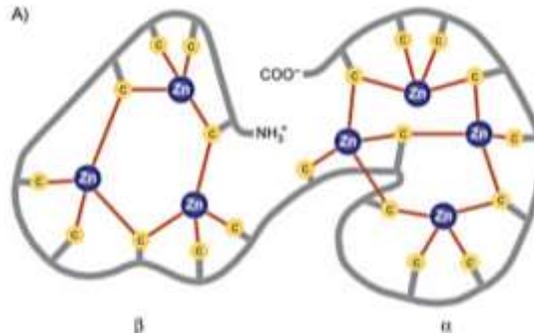


Fig. 1. Dominios α y β de la Metalotioneína unida a Zn (tomada de Bell y Valle, 2009).

Una de las vías celulares cruciales para quelar a los radicales libres es a través del complejo redox glutatión-MTs. Bajo condiciones fisiológicas, el Zn unido a la MT es liberado a través de la oxidación del cluster tiolado cuando el medio celular se torna oxidado y donde la formación de MT-disulfuro o tionina (si todos los metales son liberados de la MT) puede estar sujeta a degradación. Sin embargo, cuando el ambiente oxidado se reduce (debido por ejemplo, a un incremento en los niveles de GSH), la MT-disulfuro o tionina es reducida a MT-tiol o tioneína, proceso acelerado en presencia de Se o de otros agentes catalíticos aún no identificados. En presencia de Zn, la MT es rápidamente reconstituida. Este proceso constituye el ciclo redox de la MT, el cual desempeña un papel crucial en las funciones biológicas de las MTs (figura 2) (Ruttkey-Nedecky et al., 2013; Kang, 2006).

La capacidad de las MTs de ser inducidas por metales y de enlazar a iones metálicos de elevada toxicidad celular en los organismos acuáticos (i.e. Cd, Cu, Hg, Ag, Zn) ha promovido su evaluación como marcador para evaluar la contaminación por metales en los ambientes acuáticos (Monserrat et al., 2007; Amiard et al., 2006; Roesijadi, 1992). Las MTs han sido analizadas en numerosas especies de peces dulceacuícolas y ampliamente utilizadas como biomarcadores de exposición a metales en programas de monitoreo. En estudios *in situ* se ha demostrado su inducción aún en especies tolerantes como la carpa y la tilapia, así como la relación entre su expresión y la bioacumulación de metales; no obstante, no en todos los casos se ha demostrado esta relación, ya que su expresión puede ser influida por variables bióticas y abióticas que pueden afectar la acumulación de

ESTRÉS OXIDANTE - Marco conceptual

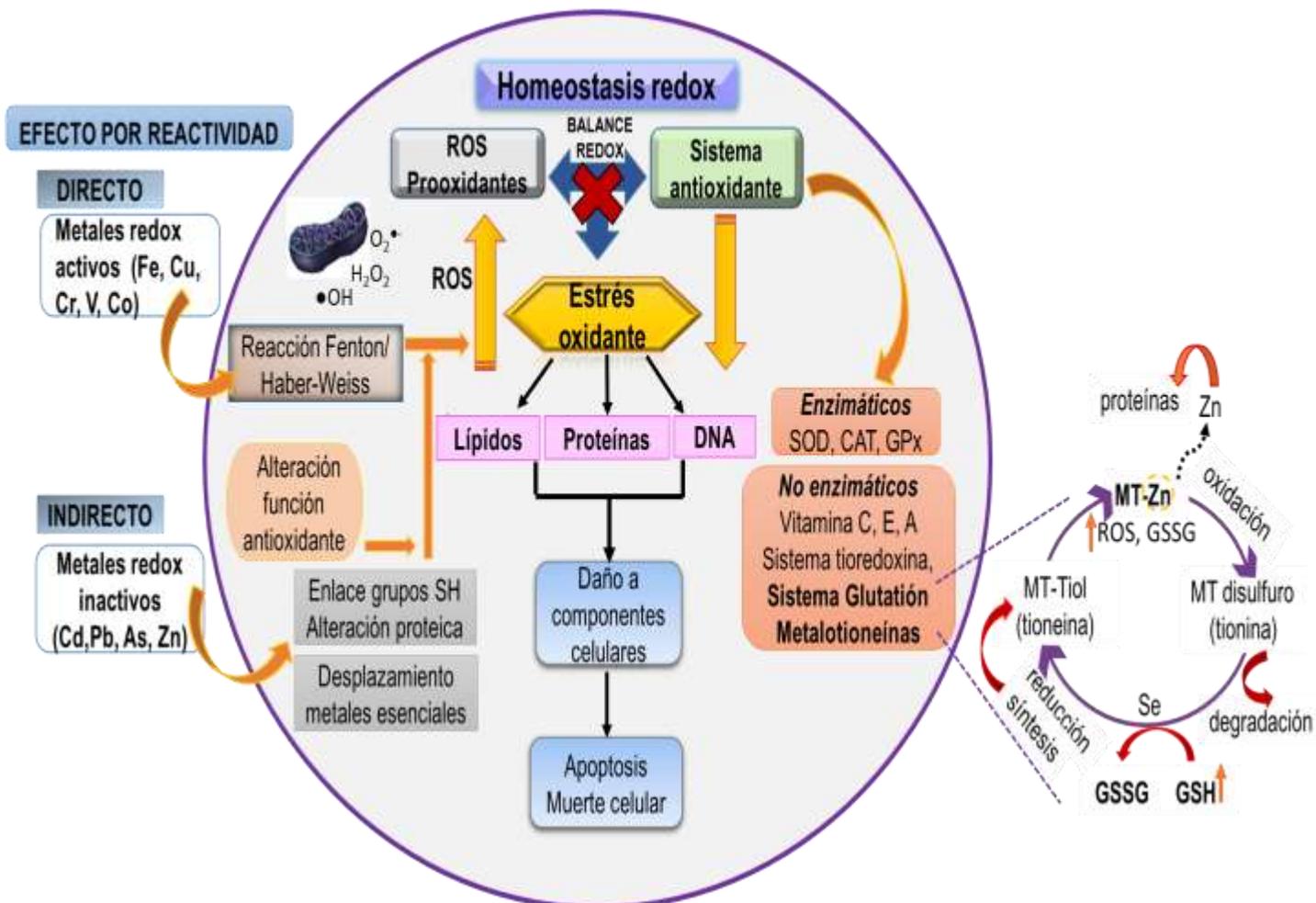


Fig. 2. Diagrama integrador que describe las dos vías de acción de los metales para ejercer estrés oxidante, los diferentes componentes celulares afectados y los mecanismos de defensa antioxidante; se enfatiza la relación del complejo redox glutatión-MTs (Ruttkay-Nedecky et al., 2013; Jomova y Valko, 2011; Lushchak, 2011; Kang, 2006).

los metales, aspecto relevante a considerar cuando las MTs son evaluadas y empleadas como biomarcador específico de la contaminación por metales (Naji et al., 2014; Falfushynska et al., 2010; Falfushynska y Stolyar, 2009; Pathiratne et al., 2009; Atli y Canli, 2008; Linde-Arias et al., 2008).

1.3.2. Nivel fisiológico

1.3.2.1. Biomarcadores de efecto. Índices de condición

Los índices de condición fisiológica (i.e. índice hepatosomático; índice de condición de Fulton; índice gonadosomático) han sido ampliamente utilizados para cuantificar la salud global de los individuos. Estos índices están basados en medidas morfométricas de los organismos y asumen que las reservas de energía disponible están localizadas en los tejidos somáticos y en los germinales (Brosset et al., 2015). De tal manera, aportan información de la tasa de crecimiento y el estado nutricional de los organismos; además, los índices basados en la relación longitud-peso como es el Factor de condición de Fulton asumen que el pez más pesado y de mayor longitud posee una mejor condición de salud (Vasconcelos et al., 2009).

Los Índices de Condición son afectados por diversas variables (i.e. estación del año, enfermedades, estado nutricional) incluidos los tóxicos ambientales. De tal manera han sido ampliamente utilizados en peces como biomarcadores del efecto de xenobióticos sobre su condición global de salud. (Linde-Arias et al., 2008). Diversos estudios han evaluado el efecto que tienen los metales en distintas especies de peces dulceacuícolas, encontrando un incremento en el índice hepatosomático y la reducción en el índice de condición de Fulton (Kumari et al., 2014). En especies como la tilapia *Oreochromis niloticus* en ambientes acuáticos sujetos a impactos urbanos, industriales y agrícolas, se ha demostrado que a mayor impacto ambiental se registran menores índices de condición en los individuos (Linde-Arias et al., 2008). Sin embargo, estos resultados pueden estar influidos por diversas variables fisicoquímicas así como por interacciones intra e interespecíficas, las cuales deben ser consideradas para una correcta interpretación de la utilidad de estos índices (Stevenson y Woods, 2006).

Los estudios *in situ* que abordan el efecto de contaminantes en poblaciones acuáticas son de una elevada complejidad debido a la heterogeneidad ambiental y a las múltiples interacciones bióticas y abióticas que influyen las respuestas biológicas de los organismos. Sin embargo estos estudios integran y reflejan las condiciones reales de los sistemas y aportan información valiosa en programas de monitoreo y de diagnóstico ambiental. Así, para la evaluación *in situ* de la exposición y de los efectos de contaminantes en organismos acuáticos, es relevante el estudio de biomarcadores múltiples, considerando diferentes niveles de organización biológica (i.e. bioquímica, fisiológica) que permitan integrar las relaciones de causalidad entre los contaminantes de interés, su concentración tisular y sus efectos tóxicos potenciales.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco es un complejo sistema que recibe el aporte de múltiples contaminantes provenientes de las plantas de tratamiento que lo alimentan y de las descargas domésticas locales, urbanas y agrícolas. Entre los principales contaminantes que se descargan al sistema destacan los metales los que por su persistencia, acumulación y acción tóxica los sitúan como uno de los principales estresores para la biota. En la zona lacustre de Xochimilco, diversos estudios demuestran que la concentración de metales tanto en agua y sedimento superan los límites establecidos por las normas ambientales internacionales de protección a la vida acuática. Estudios recientes comprueban que numerosos metales, entre los que destacan cadmio, cobre, plomo, arsénico, cromo, níquel, mercurio, fierro y cobalto, son inductores de estrés oxidante y estimulan la producción de especies reactivas de oxígeno las cuales pueden alterar el balance redox celular, ocasionar peroxidación de lípidos, alterar la función y estructura proteica, ocasionar daños al DNA e inducir la apoptosis celular, comprometiendo con ello la integridad de los organismos.

Estudios *in situ* realizados en especies sensibles como el ajolote *Ambystoma mexicanum* en los canales de Xochimilco demuestran que la exposición subcrónica (29 d) ocasiona una acumulación hepática significativa de metales los cuales se correlacionan con el efecto

oxidante celular lo cual, en parte, podría explicar el deterioro de las poblaciones de este anfibio endémico en su hábitat natural, la zona lacustre de Xochimilco. Con el presente estudio se pretende evaluar en una especie sumamente tolerante e introducida en este sistema acuático, como es la tilapia *Oreochromis niloticus*, el efecto de la exposición *in situ*, crónica, de los metales, así como evaluar si éstos ejercen una acción tóxica a nivel bioquímico (estrés oxidante celular) y fisiológico (índices de condición) y si estas alteraciones biológicas se relacionan con la acumulación hepática de metales. Cabe señalar que pese a que *O. niloticus* es caracterizada como una especie tolerante a los estresores ambientales, diversos estudios sugieren que puede ser considerada como un biomonitor adecuado de contaminación ambiental.

3. JUSTIFICACIÓN

Se reconoce que *O. niloticus* es una especie competidora y sumamente tolerante a la variabilidad ambiental demostrando una alta adaptabilidad ecológica. En los cuerpos acuáticos de México, la introducción de esta especie se llevó a cabo en la década de los setentas y a principios de los ochentas por un programa de alimentación en México que promovió su uso en la acuicultura. Para ello se promovió la creación de centros de producción de especies con rápido crecimiento y fáciles de criar como *O. niloticus*, la cual fue introducida a los lagos y reservorios de todo el país incluida la zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco. Su amplia tolerancia ambiental, adaptabilidad trófica, y altas tasas de reproducción, beneficiaron su cultivo pero también la convirtieron en una exitosa especie invasora (competidora y depredadora). No obstante esas características junto con su abundancia, amplia distribución y resistencia a contaminantes, han propiciado que *O. niloticus* sea considerada como un buen candidato de especie centinela en programas de monitoreo ambiental.

A pesar de que *O. niloticus* es una especie móvil se ha reportado que en la zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco la especie se distribuye en parches y presenta diferencias morfométricas, lo cual sugiere su distribución diferencial en escenarios con diferentes impactos urbano-agrícolas. Con el presente estudio se pretende analizar si *O. niloticus*

refleja el efecto tóxico de metales en estos diferentes escenarios de impacto ambiental a través de la evaluación de biomarcadores de exposición y de efecto a metales.

4. HIPÓTESIS

En una especie reconocida como tolerante y bajo condiciones de exposición *in situ*, crónica, a metales, se esperan respuestas diferenciales en organismos sujetos a diferentes impactos urbano-agrícolas y a diferentes niveles de exposición a metales. De tal manera, se espera que:

1. Las tilapias capturadas en escenarios de bajo impacto urbano-agrícola (Bordo y Apampilco) presentarán las menores alteraciones bioquímicas (estrés oxidante hepático) y fisiológicas (índices de condición) que las tilapias provenientes de sitios de mayor perturbación (San Diego y L. Asunción).
2. Se presente una correlación positiva entre la acumulación hepática de metales y las alteraciones observadas en los biomarcadores evaluados (biomarcadores de exposición y de efecto).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Evaluar en la especie tolerante *Oreochromis niloticus* marcadores de exposición y de efecto a la exposición de metales bajo diferentes escenarios *in situ* de impacto urbano-agrícola de la zona lacustre de Xochimilco y analizar la probable relación de causalidad con la concentración hepática de metales.

5.2. Objetivos particulares

- Determinar la acumulación de metales esenciales y sin función biológica conocida en el hígado de *O. niloticus*.
- Evaluar en *O. niloticus* la concentración hepática de metalotioneínas como marcador de exposición y de efecto al efecto adverso de metales.

- Evaluar la concentración hepática de glutatión (total GSH-T, oxidado GSSG, reducido GSH, razón GSH/GSSG) como marcador del efecto oxidante de metales en *O. niloticus*.
- Determinar los Índices de Condición de Fulton, Hepatosomático y Gonadosomático como indicadores globales de la condición fisiológica de *O. niloticus*.
- Analizar las probables relaciones de causalidad entre las respuestas biológicas evaluadas y las concentraciones de metales a nivel hepático en *O. niloticus*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Área de estudio

La zona lacustre de Xochimilco es un complejo sistema de lagos, canales e islas artificiales, remanente del sistema de lagos interconectados de la cuenca valle de México, incluidos los lagos de México (Tenochtitlan), Zumpango, Xaltocan, Xochimilco, Chalco y Texcoco. A la fecha, el sistema lacustre de Xochimilco ubicado al sur de la ciudad de México cuenta con aproximadamente 184 kms de canales en aprox. 40 km², entre los que destacan por su longitud los canales de Cuemanco, Nacional, Chalco, Bordo, Apatlaco, San Sebastián, Apampilco, Texhuilo, Zacapa, Caltongo, Santa Cruz y Japón (Contreras et al., 2009; Ruvalcaba, 2009; RCW, 2007).

El 11 de diciembre de 1987, Xochimilco fue inscrito en la Lista de Patrimonio Mundial, y el 7 de mayo de 1992 es establecido por Decreto como Área Natural Protegida Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco, contando con una superficie de 2522 ha. El 2 de febrero de 2004 se declara Sistema Lacustre de Xochimilco como humedal de importancia internacional Ramsar, por considerar que constituía un ecosistema representativo de la cuenca de México, remanente del gran Lago (SEDEMA, 2006-2012).

Es reconocido el severo deterioro de la zona lacustre de Xochimilco como consecuencia de las actividades relacionadas con el crecimiento urbano no regulado en la zona y el cambio de prácticas agrícolas tradicionales a tecnificadas. Los aportes hídricos al sistema están limitados a las descargas de plantas de tratamiento de agua (Cerro de la Estrella y San Luis Tlaxialtemalco), de aguas residuales domésticas y de aguas de tormenta y al aporte del

agua de lluvia durante la época húmeda (mayo a octubre) (Mazari-Hiriart et al., 2008; Solís et al., 2006). Las descargas urbanas y agrícolas aportan al sistema lacustre numerosos contaminantes incluidos micro-organismos, agroquímicos, hidrocarburos poliaromáticos, fármacos y metales (Robles-Mendoza et al., 2009; Mazari-Hiriart et al., 2008; Solís et al., 2006). El deterioro de la zona lacustre ha repercutido en las pérdidas de hábitats y la extinción de casi la tercera parte de las plantas nativas de Xochimilco, de especies nativas de peces, de reptiles, de anfibios anuros y la casi extinción del anfibio urodelo *Ambystoma mexicanum* (Recuero et al., 2010).

La extinción de diversas especies acuáticas en la zona lacustre, obedece además a la introducción de especies competidoras y depredadoras como los ciprínidos *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngogon idella* y *Carassius aureatus* y, los cíclidos *Oreochromis aureus* y *O. niloticus*, especies introducidas bajo programas nacionales inadecuados a finales de los 70's con fines comerciales y alimentarios. A la fecha, las poblaciones de ciprínidos y de cíclidos han desplazado y reducido poblaciones nativas de peces, anfibios y crustáceos, y son las especies dominantes del sistema (INECOL, 2002).

6.1.1. Especie de estudio

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Cichlidae

Género: *Oreochromis*

Especie: *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)



Las tilapias son un grupo de peces dulceacuícolas de aguas tropicales y subtropicales pertenecientes a la familia Cichlidae, nativas de África y del suroeste del Medio Este; están agrupadas en tres géneros de acuerdo al cuidado parental: *Oreochromis*

(incubadoras bucales maternas), *Sarotherodon* (incubadores bucales paternos o biparentales) y, *Tilapia* (anidación en sustrato) (Canonico et al., 2005).

Las tilapias han sido introducidas en forma acelerada a países tropicales y subtropicales de todo el mundo para fines de cultivo debido a su amplia tolerancia a variables ambientales, rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, elevada productividad, capacidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno disuelto, elevadas densidades y a diferentes salinidades, así como la aceptación de una amplia gama de alimentos naturales y artificiales. Su reproducción es asincrónica y en estanques de cultivo alcanzan la madurez sexual a la edad de 5 o 6 meses (SAGARPA-CONAPESCA-INCA RURAL, 2012).

En ambientes naturales, la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) se distribuye en aguas someras, en temperaturas ideales de 31 y 36°C y con temperaturas letales inferiores y superiores de 11-12°C y 42°C, respectivamente. Son organismos omnívoros y se alimentan de fitoplancton, perifiton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados y detritus (FAO, 2005-2015). Debido a que es una especie generalista, desplaza a las especies nativas al competir interespecíficamente por recursos alimentarios y nichos reproductivos. Al respecto, estudios en la zona lacustre de Xochimilco señalan que es depredadora de los estadios tempranos (huevos y larvas) del ajolote endémico *Ambystoma mexicanum* y, de otras especies de peces nativos (Valiente, 2006).

En México, la tilapia (procedente de EUA) fue introducida en 1964 en el Centro Acuícola de Temazcal, Oaxaca, con fines de cultivo controlado. A finales de 1970 hubo un auge de los programas de acuicultura en el país, resultando en la creación de centros de producción acuícola de especies de rápido crecimiento y a su introducción a cuerpos de agua continentales (Canonico et al., 2005). De manera particular, la introducción de *Oreochromis niloticus* a la zona lacustre de Xochimilco a inicios de la década de los 70's la realizó el gobierno federal mediante el Programa Nacional de Acuicultura, en el que junto con *Cyprinus carpio*, fueron declaradas especies de interés público y social como bienes de consumo popular y cuya explotación, permitiría a los lugareños tener unidades de

producción para la comercialización de productos de alto rendimiento económico (Valiente, 2006).

6.2. Sitios de muestreo (captura *in situ* de organismos)

Para la selección de los sitios de muestreo en la zona lacustre, se consideraron tres niveles de impacto urbano-agrícola: bajo, medio y alto. El nivel de impacto se estableció de acuerdo a diversos criterios: las descargas directas y difusas (domésticas y agrícolas) que recibe cada zona; la presencia de chinampas activas o inactivas y el desarrollo de invernaderos; las áreas de actividad porcina o ganadera; los asentamientos urbanos. De manera adicional, se tomaron en cuenta caracterizaciones previas similares en la zona de estudio (Rodríguez, 2011; González, 2006).

De acuerdo a los criterios señalados, se seleccionaron seis sitios de muestreo con diferente impacto urbano-agrícola (figura 3), en los cuales se capturaron ejemplares adultos de la tilapia *Oreochromis niloticus*. La captura de las tilapias se realizó con atarraya de una pulgada de diámetro de malla, considerando la misma hora del día en cada sitio de captura. Los sitios de estudio seleccionados se describen a continuación:

- El Bordo: sitio con bajo impacto urbano y bajo impacto agrícola (chinampas inactivas); presenta baja presencia de ganado; es aparentemente la zona de menor impacto.
- Apampilco: sitio con bajo impacto urbano y alto impacto agrícola (chinampas activas); algunas chinampas compactadas para canchas de fútbol; no se observa presencia de ganado.
- Apatlaco: sitio con mediano impacto urbano (baja densidad de casas sobre el canal) y alto impacto agrícola (chinampas activas); hay desarrollo de invernaderos; elevada densidad de lirio acuático en el canal.
- La Draga: sitio con elevado impacto urbano (sitio receptor de la descarga principal de aguas residuales de la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella); área

urbana de baja densidad sobre los canales; bajo impacto agrícola; zona de chinampas compactadas para canchas de futbol y áreas deportivas.

- San Diego: sitio con alto impacto urbano (sitio receptor de descarga secundaria de aguas residuales de la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella); bajo impacto agrícola. Ambiente acuático con elevada presencia de *Elodea* sp.; área urbana de elevada densidad sobre los canales.
- Laguna de la Asunción: sitio con alto impacto urbano (elevada densidad urbana sobre los canales); bajo impacto agrícola. Descargas directas de aguas negras; elevada distribución de lirio acuático; áreas de manejo porcino y vacuno.

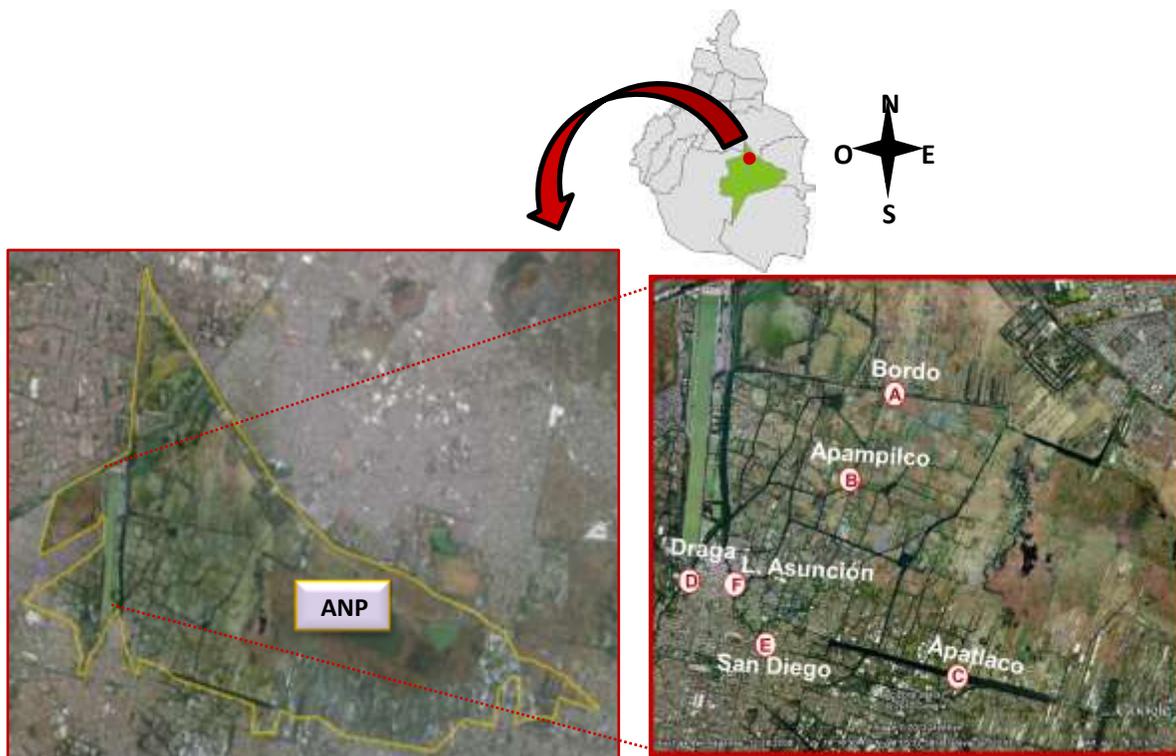


Fig. 3. Sitios de captura de los ejemplares de tilapia en la zona lacustre de Xochimilco: (A) Bordo, (B) Apampilco, (C) Apatlaco, (D) La Draga, (E) San Diego, (F) Laguna de la Asunción. Se señala el polígono del Área Natural Protegida (ANP) “Ejidos de Xochimilco” y “San Gregorio Atlapulco”. Imagen tomada de Google Earth (©2015) y Google Maps.

Las tilapias capturadas (10-20 organismos por sitio) se lavaron con agua destilada y se colocaron inmediatamente en hielo para bajar su metabolismo y sacrificarlas por frío. Al

término de la captura los peces fueron trasladados a la Unidad de Análisis Ambiental (UNAAMB) de la Facultad de Ciencias, UNAM, para su análisis.

A partir del esfuerzo realizado para la captura de los ejemplares en cada sitio de muestreo se calculó la Captura por unidad de esfuerzo (CPUE) a partir de la fórmula (Alverson y Pereyra, 1969):

$$CPUE = (N)(A)(NI) / (A)(NI)$$

donde, N es el número de individuos, A es el área de la atarraya y NI es el número de lances.

En cada sitio de captura se tomaron los parámetros fisicoquímicos de temperatura (°C), salinidad (‰), conductividad (mS), oxígeno disuelto (mg O₂/L) con un sensor multiparámetro (YSI 63-10FT: YSI 85-10 FT). Adicionalmente se efectuaron registros de profundidad del canal (cm) y turbidez (cm) con un disco de Secchii calibrado.

6.3. Respuestas evaluadas

6.3.1. Nivel fisiológico. Biomarcadores de efecto

A su llegada a la UNAAMB, los organismos se lavaron con agua desionizada, se secaron y se tomaron registros morfométricos del peso (g PH), la longitud total (cm LT), la longitud patrón (cm LP), el ancho (cm An) y el alto del cuerpo (cm Al). Inmediatamente se disectaron el hígado y la gónada de los ejemplares, se lavaron con solución salina fisiológica para peces y se registró el peso de cada órgano (g PH). El hígado se fraccionó en diferentes submuestras para el análisis de marcadores bioquímicos y la determinación de la concentración de metales. Las fracciones se congelaron a -60°C (REVCO) para su posterior análisis.

A partir de diversas mediciones morfométricas se evaluaron diversos índices de la condición global de salud de los organismos como indicadores del efecto de la exposición *in situ* a metales.

6.3.1.1. Índice de Condición de Fulton

El Índice de Fulton (IF) describe la condición global del individuo a través de la relación de su peso (g PH) y su longitud (cm LT) y se calculó en cada uno de los ejemplares capturados por sitio (10-20 por sitio) a partir de la fórmula (Bagenal y Tesch, 1978):

$$IF = P/L^3$$

donde P es el peso total (g PH) y L es la longitud total (cm) del pez.

6.3.1.2. Índice Hepatosomático

El índice Hepatosomático (IH, %) se evaluó en cada uno de los ejemplares provenientes de cada sitio de muestreo (10 por sitio) a partir de la fórmula (Greg et al., 1990):

$$IH = (PHh/PHo) 100$$

donde PHh es el peso húmedo del hígado completo (g PH) y PHo es el peso húmedo total del organismo (g PH).

6.3.1.3. Índice Gonadosomático

El Índice Gonadosomático (IG, %) se calculó de manera independiente para las hembras y los machos provenientes de cada sitio de muestreo, a partir de la fórmula (Nikolsky, 1963):

$$IG = (PHg/PHo) 100$$

donde PHg es el peso húmedo de la gónada (ovario o testículos, g PH) y PHo es el peso húmedo total del organismo (g PH).

6.3.2. Nivel bioquímico

6.3.2.1. Biomarcador de efecto oxidante. Sistema Glutación

La determinación de glutatión total (GSH-T), reducido (GSH) y oxidado (GSSG) se basó en el método propuesto por Griffith (1980) y Baker et al. (1990), procedimiento ampliamente descrito en Vanegas et al. (2015). La prueba se basa en la reacción del GSH con la solución de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitro benzoico, DTNB) reduciéndolo a TNB; la velocidad de reducción es proporcional al contenido de GSH donde el producto puede ser cuantificado

espectrofotométricamente a 412 nm. El análisis se efectuó en las fracciones hepáticas de 10 tilapias por sitio de estudio, considerando un mínimo de 0.05 g PH de hígado.

Todo el procedimiento se efectuó en frío y se describe brevemente. Las fracciones de hígado se homogenizaron (PT1200, POLYTRON) con Ácido Sulfosalicílico (ASS) al 5% en una proporción tejido:solución 1:5. Posteriormente se incubaron con el ASS durante 20 min en frío y se centrifugaron (Eppendorf® 5417 R) a 20000 g por 10 min a 5°C. El sobrenadante se separó en tubos Eppendorf y posteriormente se tomó una alícuota que se diluyó a 1:40 con agua desionizada para el análisis posterior de GSH-T y GSSG. Para la evaluación del contenido de GSH-T y GSSG, se preparó una curva patrón a partir de un estándar de 4 µg GSSG/ml (0 a 3.265 µM GSSG; 0 a 6.529 µM GSH). Para la cuantificación de GSSG, se efectuó inicialmente una derivatización del GSH con (2-VP) durante 60 min a temperatura ambiente tanto en las submuestras experimentales como en la de la curva patrón de GSSG. Las muestras experimentales y las de la curvas estándar (con y sin derivatización del GSH) se colocaron por triplicado en una microplaca de 96 pozos y se les adicionó la mezcla de reacción (DTNB 1mM, NADPH 1 mM, Buffer fosfatos, GSH reductasa). Las muestras fueron leídas a 412 nm en un espectrofotómetro (BIORAD, modelo xMark). La concentración de Glutati6n reducido (GSH) se obtuvo por la diferencia del GSH-T y su correspondiente GSSG. Los resultados de GSH-T, GSH y GSSG se expresaron en µmoles/ g PH.

A partir de los resultados obtenidos se calculó la razón GSH/GSSG, utilizada como un indicador de la condici6n del balance redox celular (Peña-Llopis et al., 2003).

6.3.2.2. Biomarcador de exposici6n y efecto. Metalotioneínas

La evaluaci6n de metalotioneínas (MTs) se basó en el método de saturaci6n por plata propuesto por Scheuhammer y Cheiran, (1986), procedimiento ampliamente descrito en Zúñiga et al. (2015) y que se describe brevemente. La estimaci6n de las MTs por el método de saturaci6n de plata se sustenta en la elevada capacidad de enlace de la MT a la plata y su elevada estabilidad térmica, en comparaci6n con otros ligandos citos6licos. La adici6n de una soluci6n saturada de plata a un sobrenadante de muestra biol6gica, resulta en el

enlace de la Ag a la MT y otros ligandos citosólicos, por el desplazamiento de otros metales de los sitios de unión. La adición de la hemoglobina a la muestra remueve la Ag de todos los ligandos a excepción de la MT. Durante el procedimiento, los pasos sucesivos de calentamiento de la muestra y adición de hemoglobina remueve por precipitación el exceso de Ag enlazada a la hemoglobina y otros ligandos citosólicos a excepción del ligando MT-Ag. De esta forma, la concentración de MT en la muestra se determina a través de la cuantificación de la Ag contenida en el sobrenadante al final de la muestra procesada (Scheuhammer y Cherian, 1986).

La cuantificación de las MTs se realizó en las fracciones hepáticas de 10 organismos por sitio de estudio, en un mínimo de 0.2 g PH de tejido. El tejido se homogenizó en frío con sacarosa 0.25 M en una proporción 1:4 durante 3 min (PT 1200, POLYTRON) y posteriormente se centrifugó a 20000 g durante 20 min (Eppendorf 5417R). El sobrenadante obtenido se analizó por duplicado. Se tomaron 187.5 µl de cada muestra, se le adicionó 412.5 µl de buffer glicina 0.5 M, se mezcló suavemente y posteriormente se adicionó 250 µl de solución de Ag (20 µg/ml); las muestras se incubaron 20 min a temperatura ambiente y en oscuridad, con la finalidad de que la Ag se enlace a las MTs, desplazando a otros metales de menor afinidad. Al término de este periodo a cada muestra se le adicionó 100 µl de hemolizado de sangre de rata, se mezcló (Daigger Vórtex Genic 2) durante 2 min. Posteriormente se colocaron las muestras en baño María durante 2 min a una temperatura máxima de 98°C, con el objetivo de eliminar el exceso de la plata unida a la hemoglobina del hemolizado y a otras proteínas por precipitación, excepto a las MTs, que son termoestables. Las muestras se centrifugaron a 12000 g durante 5 min a temperatura ambiente, para remover la hemoglobina y las proteínas desnaturalizadas. Se separó el sobrenadante y se repitió el procedimiento de lavado hemolizado de sangre de rata y calentamiento en baño María, dos veces más. Por último se centrifugó el sobrenadante a 15000 g durante 5 min, se separó y se congeló a -60°C (REVCO) hasta su evaluación en el Espectro de Absorción Atómica.

El procedimiento anterior se realizó paralelamente y por duplicado en muestras de blanco reactivo (sin hemolizado de rata), blanco hemolizado (con hemolizado de rata), blanco método (sin adición de Ag) y en las muestras de la curva patrón de MTs (de concentraciones conocidas). La curva patrón de MTs (0, 5, 10, 20, 30 μg MT/ml) se preparó previamente utilizando MT II de hígado de conejo (CAS No. 65278-41-3).

Previo a su lectura, las muestras (blancos, curva patrón de MTs y experimentales) se diluyeron (1:3) con glicina 0.05 M. La concentración de MTs de las muestras se determinó a partir de la interpolación de los valores obtenidos en una curva patrón de plata (0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2 μg Ag/ml), las muestras, blancos y curva fueron leídas en un Espectro de Absorción Atómica (PerkinElmer instruments AAnalyst 800) en la Unidad de Análisis Ambiental de la Facultad de Ciencias, UNAM.

La concentración de MTs de las muestras experimentales se expresaron como μg MT/g PH. La concentración de proteínas solubles totales (mg PST/g PH) de las muestras experimentales se determinó previamente en alícuotas del homogenado inicial de las fracciones hepáticas, de acuerdo al método de Bradford (1976).

6.3.2.3. Acumulación hepática de metales. Marcador de exposición

La concentración hepática de metales se evaluó en una fracción de hígado en seis tilapias por cada sitio de muestreo. Se determinaron 8 metales esenciales (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Cr, Ni) y 6 metales sin función biológica conocida (V, Sr, Ag, Cd, As, Pb). Para ello se llevó a cabo una digestión en frío a temperatura ambiente durante 18-20 d. Cada fracción de hígado se colocó en tubos plásticos de 15 ml, se le adicionó 5 ml de ácido nítrico al 70% redestilado y diariamente se agitaron las muestras (mañana y tarde) para garantizar una digestión homogénea. Al término del periodo de digestión las muestras fueron filtradas a través de membranas de nitrocelulosa de 0.45 μm (Millipore[®]) en tubos plásticos de 5 ml de este filtrado se tomaron 750 μl y se diluyó a 10 ml con agua desionizada, para tener una concentración final de 5.25% de ácido nítrico.

La evaluación de la concentración de metales en las muestras de hígado, esenciales y sin función biológica conocida, se llevó a cabo en el Laboratorio de Espectrometría de Masas, del Instituto de Geofísica de la UNAM, y se determinó por análisis multielemental en Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS). Como controles de calidad se utilizaron materiales de referencia (hígado de pez DORM-4; NRC 2012), el Indio como estándar interno y el ácido nítrico como blanco reactivo. Los resultados obtenidos se expresaron como $\mu\text{g/g PH}$.

6.4. Análisis estadístico

Para determinar las diferencias significativas de los resultados obtenidos entre los organismos provenientes de los diferentes sitios de estudio, en cada caso se realizó un análisis de comparación múltiple no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido de un análisis post hoc de Tukey ($p < 0.05$). Para determinar las variables de mayor peso entre los diferentes sitios de estudio, se realizó un análisis de componentes principales. Todos los análisis fueron llevados a cabo con el programa STATISTICA (Ver. 6.0. ©).

7. RESULTADOS

7.1. Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos registrados durante la captura de los organismos en los diferentes sitios de estudio se integran en la tabla 1. De manera general la temperatura, la salinidad y el pH se mantienen constantes en todos los sitios, si bien en relación al pH el Bordo registró una condición más alcalina y L. Asunción, un pH ligeramente ácido, respecto a los demás sitios. L. Asunción presentó la mayor conductividad y La Draga la menor; la mayor concentración de oxígeno disuelto se registró en el Bordo y los menores valores en San Diego. Respecto a la profundidad, San Diego fue el sitio más somero y L. Asunción fue el sitio con la mayor profundidad. La mayor turbidez se registró en el Bordo, San Diego y L. Asunción.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos registrados en los seis sitios de muestreo en la zona urbano-agrícola de Xochimilco.

Sitios	Ubicación GPS	Temperatura (°C)	Conductividad (mS)	Salinidad (‰)	pH	OD (mg O ₂ / L)	Profundidad/ Turbidez (cm)
Bordo	N 19°17'3.4'' O 99°5'35.3''	18.10	780	0.4	8.76	5.98	80/ 20
Apampilco	N19°16'28.9' O 99°5'48.7''	18.20	718	0.4	7.38	3.14	110/ 80
Apatlaco	N 19°15'45.4'' O 99°4'54.4''	19.10	756	0.4	7.90	3.95	100/ 70
La Draga	N 19°16'16'' O 99°6'17.7''	19	695	0.4	7.34	3.20	110/ 40
San Diego	N19°15'58.5' O 99°5'58.1''	19.50	781	0.4	7.23	2.23	50/ 20
L. Asunción	N 19°16'9.4'' O 99°6'3''	20.50	813	0.4	6.98	3.78	140/ 30

7.2. Captura por unidad de esfuerzo (CPUE)

La captura por unidad de esfuerzo (CPUE, organismos/ m²/ h) difirió entre los sitios de estudio (tabla 2). La mayor CPUE se realizó en los sitios de Apampilco y Apatlaco mientras que las menores CPUE se realizaron en L. Asunción y San Diego.

Tabla 2. Captura por unidad de esfuerzo (CPUE) de *Oreochromis niloticus* en los seis sitios de muestreo en la zona urbano-agrícola de Xochimilco.

Sitio	CPUE (organismos / m ² / h)
Bordo	37
Apampilco	70
Apatlaco	70
La Draga	56
San Diego	26
L. Asunción	16

7.3. Respuestas evaluadas

7.3.1. Acumulación hepática de metales

Se evaluaron 14 metales en el tejido hepático de las tilapias provenientes de cada sitio de estudio, 8 esenciales (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Cr y Ni) y 6 sin función biológica conocida (V, Sr, Ag, Cd, As y Pb), resultados que se presentan en la tabla 3. En relación a los metales esenciales, las concentraciones hepáticas de Fe, Zn, Cr y Ni fueron similares ($p > 0.05$) en las tilapias provenientes de todos los sitios de estudio. Con respecto al Mn, los mayores niveles se registraron en los organismos de L. Asunción con niveles 2.3, 2 y 1.7 veces mayores ($p < 0.05$) que los registrados en los peces de Apampilco, La Draga y Bordo, respetivamente; entre estos últimos, las concentraciones fueron similares ($p > 0.05$). En relación al Co, los mayores niveles se registraron en los peces provenientes del Bordo, con concentraciones 2.2 veces mayores ($p < 0.05$) que los provenientes de Apampilco y Apatlaco. En lo que respecta al Cu, la mayor concentración hepática se registró en los peces de La Draga, con niveles 7.7 veces mayores ($p < 0.05$) que los de Apatlaco. Para el caso del Se, las mayores concentraciones se registraron en los organismos de La Draga y San Diego con niveles 2.7 y 2.1 veces mayores ($p < 0.05$) que los provenientes de Apatlaco y L. Asunción, respetivamente.

En lo que respecta a los metales sin función biológica conocida, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las concentraciones hepáticas de V, Sr, Cd, As y Pb. En relación a la Ag, los mayores niveles se observaron en los peces provenientes del Bordo y Apampilco, 3.3 veces mayores ($p < 0.05$) que en las tilapias de Apatlaco y L. Asunción.

De manera global, la mayor concentración de metales se registró en el hígado de los ejemplares de Apatlaco, y la menor, en los organismos del Bordo (figura 4). La mayor concentración hepática de metales esenciales se observó en los peces de Apatlaco, destacando los niveles de Fe, y la menor concentración se registró en los organismos del Bordo (figura 5). Con respecto a las concentraciones de los metales sin función biológica conocida, el mayor nivel hepático se registró en los ejemplares de Apatlaco, destacando el V, mientras que en los organismos de La Draga se registró la menor concentración hepática (figura 6).

Tabla 3. Concentración de metales ($\mu\text{g/g,PH}$; ppm) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio. Se señalan valores promedio y error estándar.

	Bordo	Apampilco	Apatlaco	La Draga	San Diego	L. Asunción
Mn	0.80 ± 0.09^a	0.61 ± 0.05^a	0.93 ± 0.17^{ab}	0.69 ± 0.08^a	0.96 ± 0.10^{ab}	1.39 ± 0.14^b
Fe	335.27 ± 209^a	915.55 ± 142.13^a	1296.32 ± 245^a	874.34 ± 87.93^a	928.46 ± 136.37^a	932.23 ± 244.96^a
Co	0.13 ± 0.02^a	0.06 ± 0.01^b	0.06 ± 0.01^b	0.08 ± 0.01^{ab}	0.08 ± 0.01^{ab}	0.09 ± 0.02^{ab}
Cu	21.02 ± 5.6^{ab}	23.65 ± 6.65^{ab}	4.45 ± 0.95^a	34.39 ± 9.39^b	26.68 ± 8.45^{ab}	9.92 ± 4.64^{ab}
Zn	18.98 ± 0.8^a	17.81 ± 1.17^a	14.92 ± 1.61^a	17.03 ± 1.45^a	17.99 ± 0.32^a	20.92 ± 1.26^a
Se	1.54 ± 0.15^{ac}	2.07 ± 0.09^{abc}	1.02 ± 0.1^a	2.79 ± 0.59^c	2.79 ± 0.59^c	1.31 ± 0.14^a
Cr	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a	0.42 ± 0.07^b	0.05 ± 0.01^a
Ni	0.07 ± 0.01^a	0.06 ± 0.01^a	0.04 ± 0.005^a	0.05 ± 0.005^a	0.12 ± 0.01^a	0.33 ± 0.22^a
V	1.47 ± 0.37^a	0.79 ± 0.14^a	3.07 ± 0.97^a	0.83 ± 0.32^a	1.64 ± 0.28^a	1.44 ± 0.62^a
Sr	0.18 ± 0.03^a	0.27 ± 0.06^a	0.13 ± 0.02^a	0.20 ± 0.03^a	0.27 ± 0.04^a	0.15 ± 0.02^a
Ag	1.15 ± 0.17^a	1.18 ± 0.16^a	0.36 ± 0.09^b	0.78 ± 0.05^{ab}	0.78 ± 0.23^{ab}	0.35 ± 0.08^b
Cd	0.02 ± 0.005^a	0.01 ± 0.002^a	0.01 ± 0.002^a	0.02 ± 0.003^a	0.01 ± 0.003^a	0.01 ± 0.001^a
As	0.05 ± 0.01^a	0.06 ± 0.01^a	0.07 ± 0.03^a	0.06 ± 0.004^a	0.06 ± 0.004^a	0.05 ± 0.01^a
Pb	0.21 ± 0.08^a	0.23 ± 0.04^a	0.20 ± 0.03^a	0.20 ± 0.02^a	0.19 ± 0.05^a	0.11 ± 0.02^a

Para cada metal letras diferentes indican diferencias significativas entre los seis sitios de estudio ($p < 0.05$).

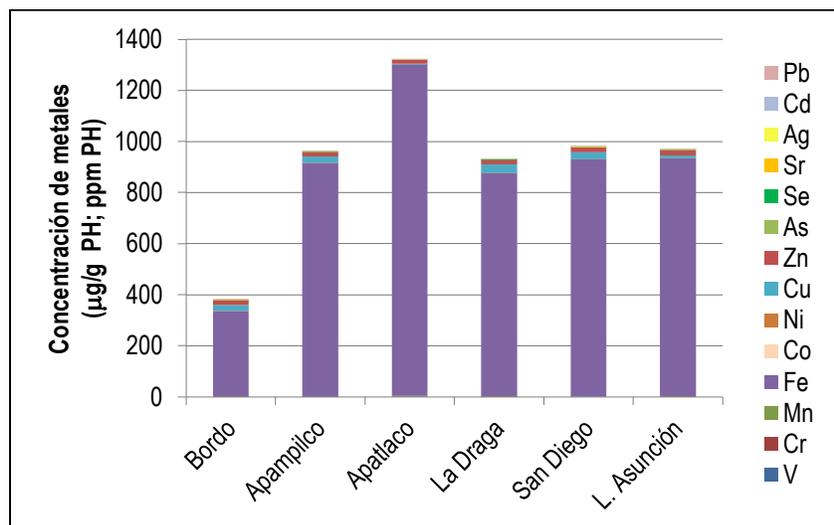


Fig. 4. Concentración total de metales ($\mu\text{g/g PH}$; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio.

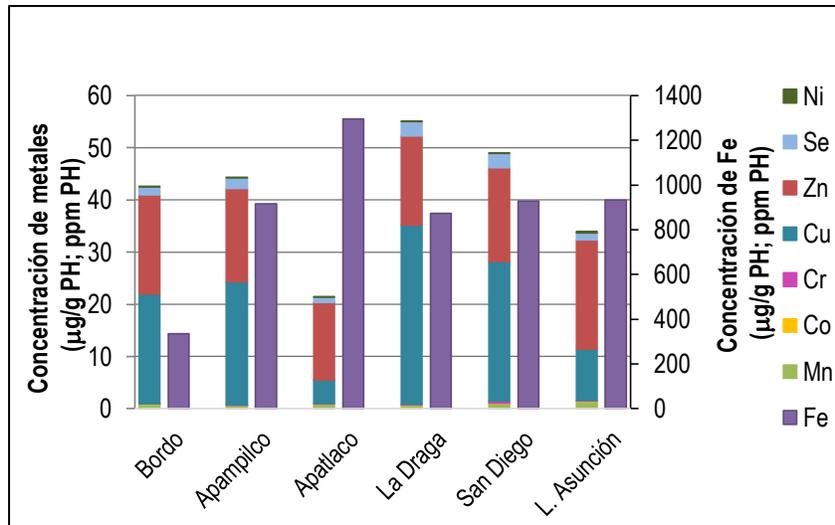


Fig. 5. Concentración de metales esenciales ($\mu\text{g/g PH}$; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio.

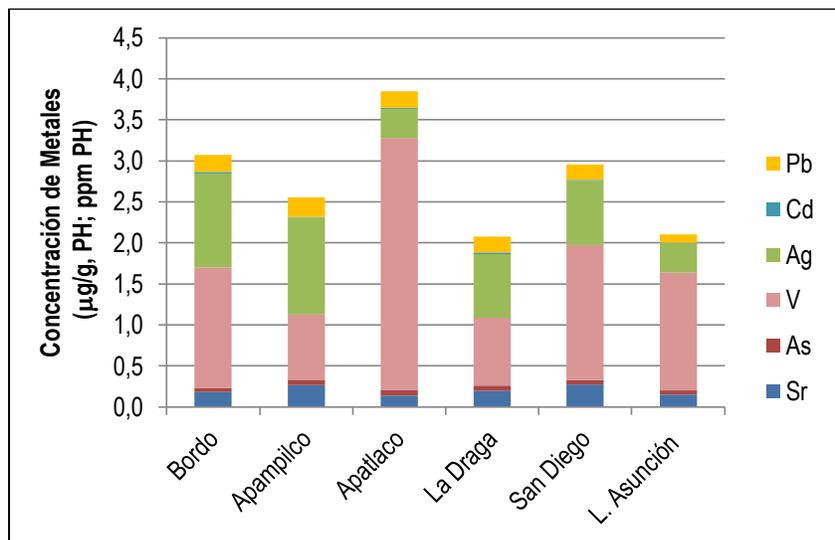


Fig. 6. Concentración de metales sin función biológica conocida ($\mu\text{g/g PH}$; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio.

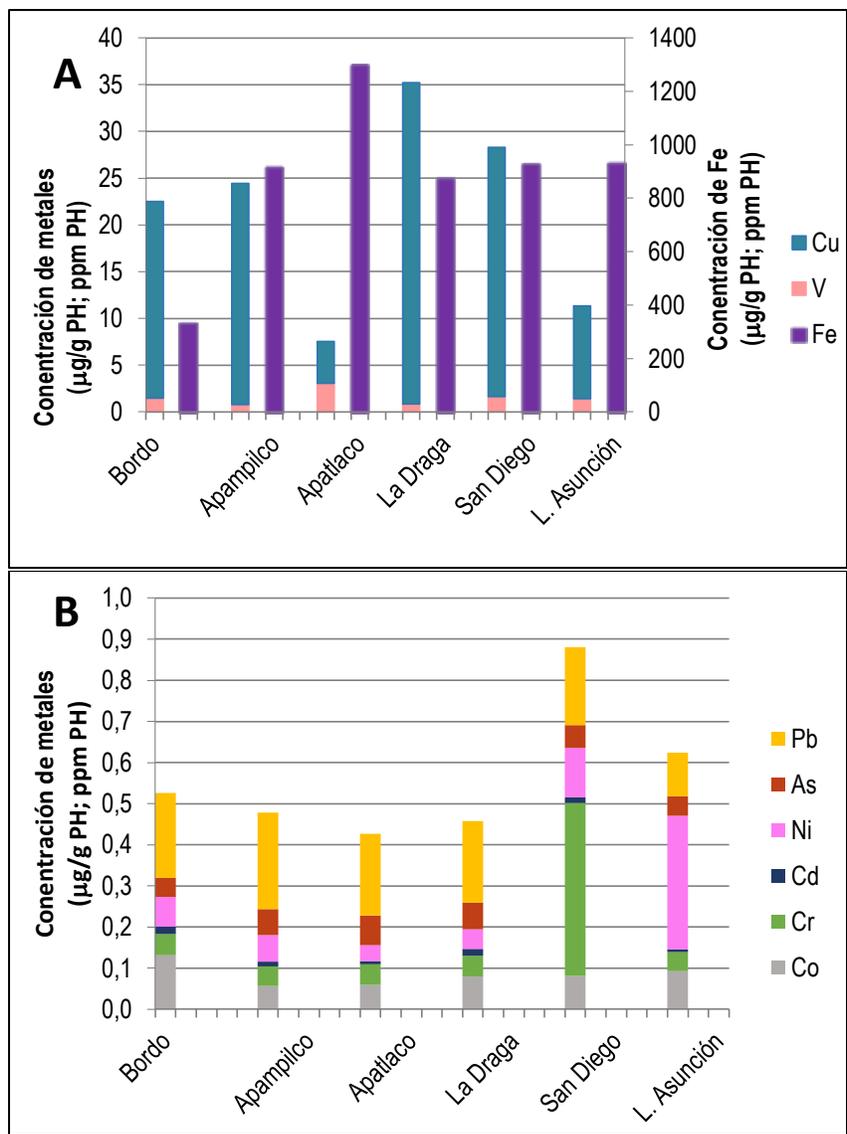


Fig. 7. Concentración de metales totales inductores de estrés oxidante (MTIEO; µg/g PH; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* provenientes de los seis diferentes sitios de estudio. Se grafican niveles de Cu, V, Fe (Fig. 7A); y de Pb, As, Ni, Cd, Cr, Co (Fig. 7B).

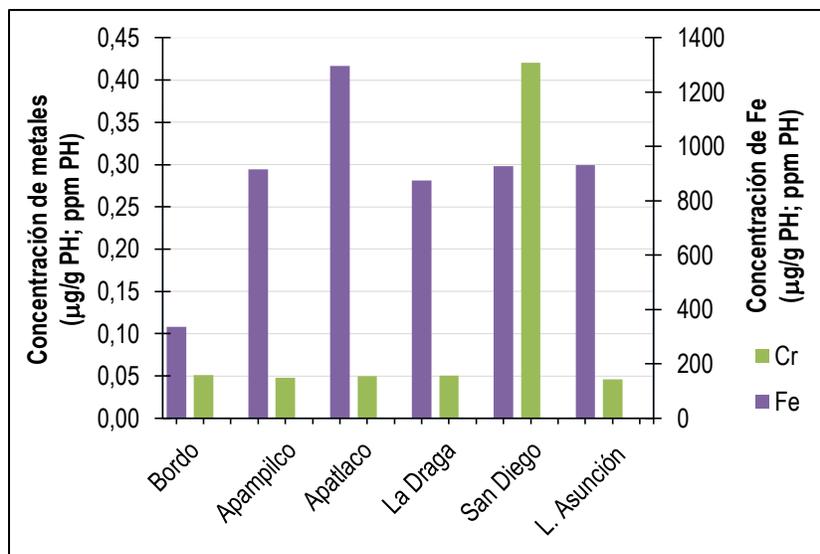


Fig. 8. Concentración de metales principales inductores de estrés oxidante (MPIEO; µg/g PH; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* provenientes de los seis diferentes sitios de estudio.

Los metales evaluados en el tejido hepático de las tilapias, se agruparon para su análisis en *metales totales inductores de estrés oxidante* (Fe, Cu, Cr, Co, Ni, V, As, Pb y Cd) (MTIEO; figura 7) y *principales metales inductores de estrés oxidante* (Fe y Cr) (MPIEO; figura 8). En relación a éstos últimos, la mayor concentración se registró en los organismos provenientes de Apatlaco, destacando el Fe como el metal de mayor acción oxidante. Si bien las concentraciones de Cr son mucho menores que las del Fe, la mayor concentración hepática del metal se registró en las tilapias de San Diego.

De manera similar, se agruparon los metales en *metales totales inductores de la síntesis de Metalotioneínas* (MTs) (Zn, Co, Cu, Ni, Mn, Cr, Fe, Cd y Pb) (MTIMT; figura 9) y *principales metales inductores de MTs* (Zn, Cu, Cd y Pb) (MPIMT; figura 10). La mayor concentración hepática de los MTIMT se registró en los ejemplares provenientes de Apatlaco, destacando la elevada concentración de Fe (figura 9). En relación a los MPIMT, la mayor concentración se registró en las tilapias provenientes de La Draga, destacando la mayor concentración del Cu (figura 10).

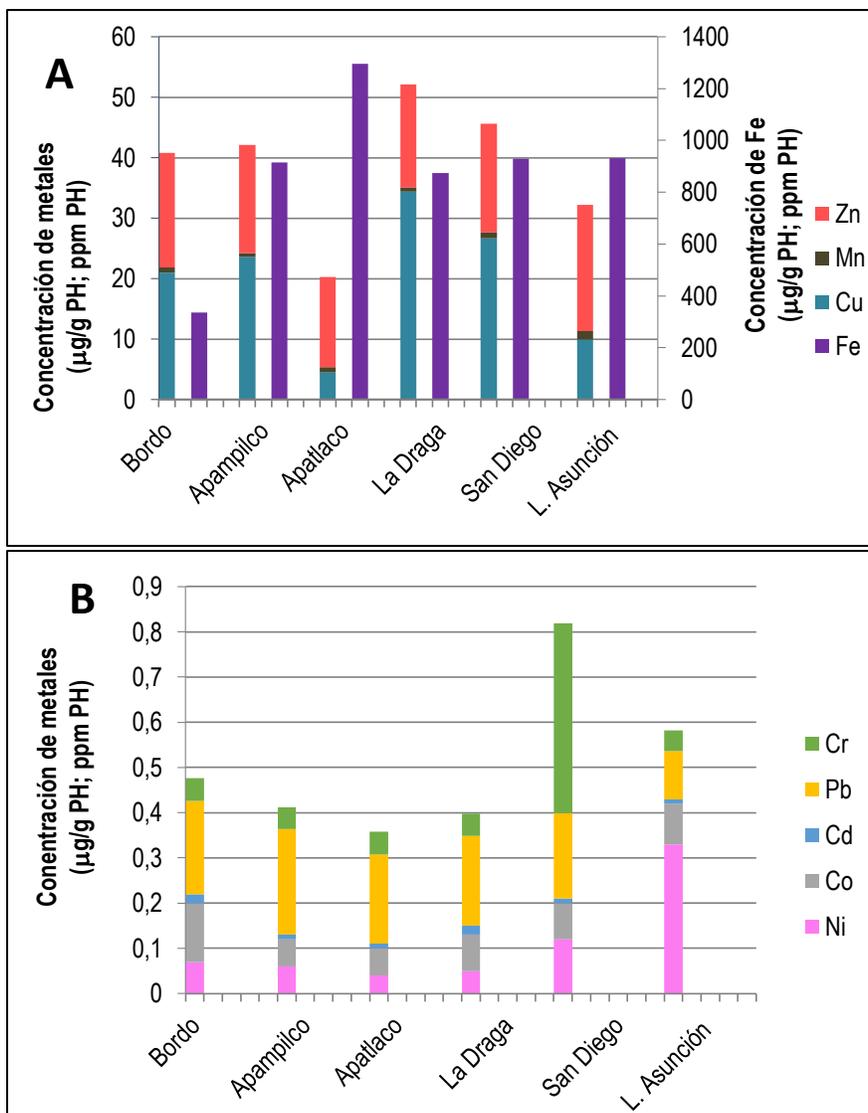


Fig. 9. Concentración de metales totales inductores de Metalotioneínas (MTIMT; µg/ g PH; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* provenientes de los seis diferentes sitios de estudio. Se grafican los niveles de Zn, Mn, Cu, Fe (Fig. 9A) y de Cr, Pb, Cd, Co, Ni (Fig. 9B).

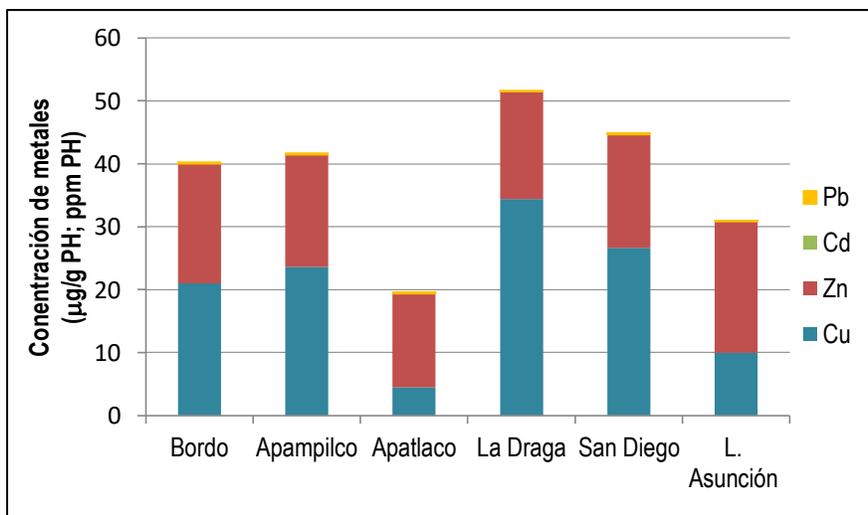


Fig. 10. Concentración de metales principales inductores de Metalotioneínas (MPIMT; µg/g PH; ppm PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* provenientes de los seis diferentes sitios de estudio.

7.3.2. Nivel Bioquímico

7.3.2.1. Biomarcador de efecto oxidante. Sistema Glutación

Los parámetros del sistema glutatión, glutatión total (GSH-T), reducido (GSH), oxidado (GSSG) y la razón GSH/GSSG a nivel hepático se analizaron como biomarcadores del efecto oxidante de la exposición crónica *in situ* a los metales en la tilapia *O. niloticus* (tabla 4). La concentración total de glutatión, expresada en µmoles GSH-T /g PH, fue mayor en los organismos provenientes de Apampilco, seguido de los de Apatlaco, los cuales registraron una concentración 1.2 veces mayor ($p < 0.05$) que la de los peces provenientes de La Draga y San Diego, en los que se registró la menor concentración de GSH-T (tabla 4; figura 11). Los niveles hepáticos de GSSG (µmoles GSSG/g PH) fueron mayores en los organismos provenientes de Apampilco y La Draga, concentraciones 1.6 veces mayores ($p < 0.05$) que de los organismos provenientes de San Diego, en los que se registró la menor concentración de GSSG (tabla 4; figura 12). En cuanto al GSH hepático (µmoles GSH/g PH), las mayores concentraciones se registraron en los peces provenientes de Apampilco, Apatlaco y L. Asunción, niveles 1.3 veces mayores ($p < 0.05$) que las obtenidas en los ejemplares provenientes de La Draga, donde se registraron las menores concentraciones de GSH (tabla 4; figura 13).

Tabla 4. Glutación total (GSH-T), oxidado (GSSG), reducido (GSH) y relación GSH/GSSG en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio. Se señalan valores promedio y error estándar. Las concentraciones se expresan en $\mu\text{moles/g PH}$; entre paréntesis, se expresan en $\mu\text{moles/mg PST}$. PST = proteína soluble total.

	GSH-T	GSSG	GSH	GSH/GSSG	GSH/GSSG (%)
Bordo	2.22±0.10 ^{ab} (0.029±0.002 ^{ab})	0.54±0.06 ^{ab} (0.007±0.001 ^a)	1.68±0.08 ^{abc} (0.022±0.002 ^{ab})	3.35±0.32 ^{ab}	76 / 24
Apampilco	2.45±0.13 ^a (0.036±0.005 ^{ab})	0.57±0.05 ^a (0.009±0.002 ^a)	1.88±0.11 ^{ac} (0.028±0.004 ^{ab})	3.48±0.31 ^{ab}	77 / 23
Apatlaco	2.36±0.08 ^{ab} (0.039±0.004 ^a)	0.50±0.04 ^{ab} (0.008±0.001 ^a)	1.86±0.11 ^{ac} (0.031±0.003 ^a)	4.04±0.42 ^{ab}	79 / 21
La Draga	2.00±0.10 ^b (0.026±0.002 ^b)	0.57±0.04 ^a (0.007±0.001 ^a)	1.43±0.11 ^b (0.019±0.002 ^b)	2.70±0.35 ^a	72 / 29
San Diego	2.02±0.07 ^b (0.039±0.003 ^{ab})	0.36±0.02 ^b (0.007±0.001 ^a)	1.66±0.09 ^{abc} (0.032±0.002 ^a)	4.90±0.51 ^b	82 / 18
L. Asunción	2.26±0.08 ^{ab} (0.035±0.002 ^{ab})	0.41±0.04 ^{ab} (0.006±0.001 ^a)	1.86±0.07 ^c (0.029±0.002 ^{ab})	4.85±0.43 ^b	82 / 18

Para cada parámetro, letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

Los parámetros del sistema glutación se expresaron además en $\mu\text{moles/g PST}$ con fines comparativos con otras especies y presentaron un comportamiento ligeramente diferente a los parámetros expresados en $\mu\text{moles/g PH}$, previamente descritos. En el caso del GSH-T se observó un comportamiento similar al GSH-T expresado en $\mu\text{moles/g PH}$; las tilapias de Apatlaco y San Diego, seguidas de Apampilco, registraron las mayores concentraciones hepáticas mientras que en los organismos provenientes de La Draga se registraron las menores concentraciones. Sin embargo, las diferencias significativas ($p < 0.05$) se observaron sólo entre las concentraciones hepáticas de los peces provenientes de Apatlaco y La Draga (tabla 4). En el caso de GSSG, la concentración hepática fue similar en los peces provenientes de todos los sitios de estudio ($p > 0.05$). En el caso de GSH, la mayor concentración hepática se registró en las tilapias provenientes de San Diego y

Apatlaco, con niveles 1.7 veces mayores ($p < 0.05$) que los peces provenientes de La Draga, en los que se registró la menor concentración.

Al integrar las concentraciones hepáticas obtenidas ($\mu\text{moles/g PH}$) del glutatión oxidado y reducido en la razón GSH/GSSG, los mayores registros se obtuvieron en los organismos provenientes de San Diego y L. Asunción, niveles 1.8 veces mayores ($p < 0.05$) que los obtenidos en los organismos provenientes de La Draga, donde se observaron los menores valores de la razón GSH/GSSG (tabla 4; figura 14).

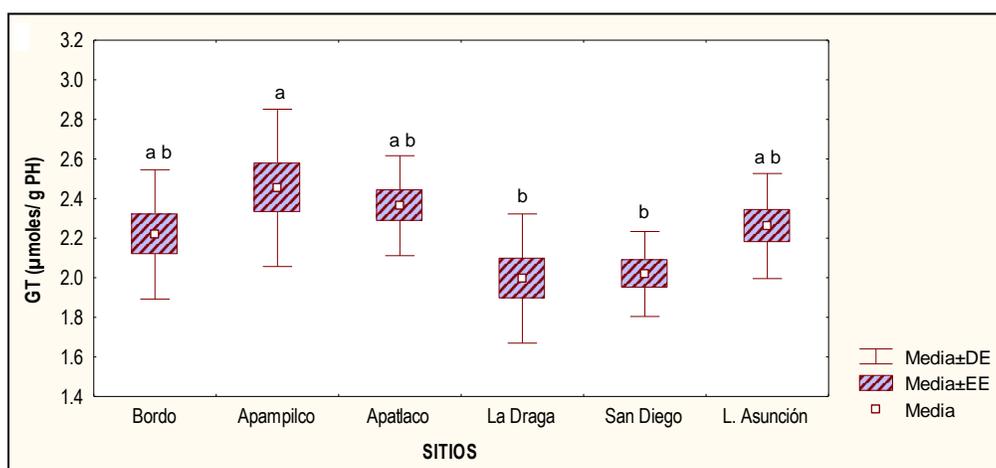


Fig. 11. Concentración de Glutatión Total ($\mu\text{moles GSH-T/g PH}$) en el hígado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

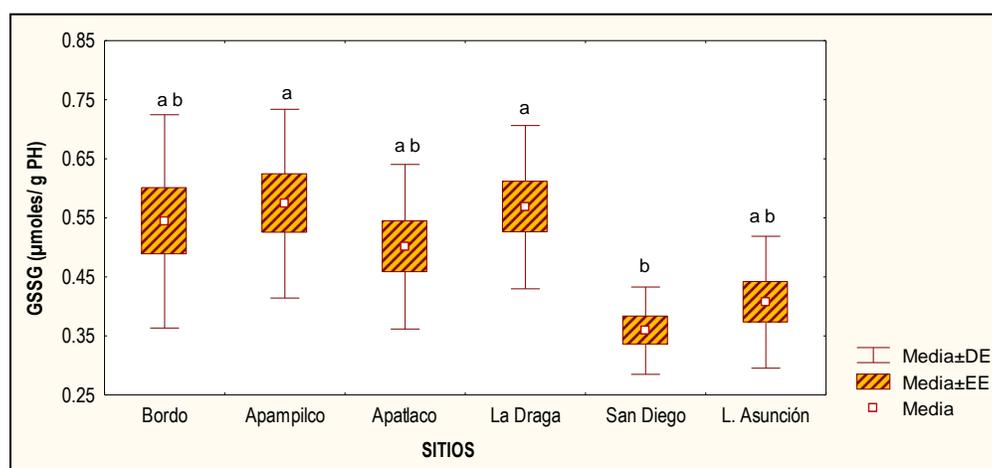


Fig. 12. Concentración de Glutatión Oxidado ($\mu\text{moles GSSG/g PH}$) en el hígado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

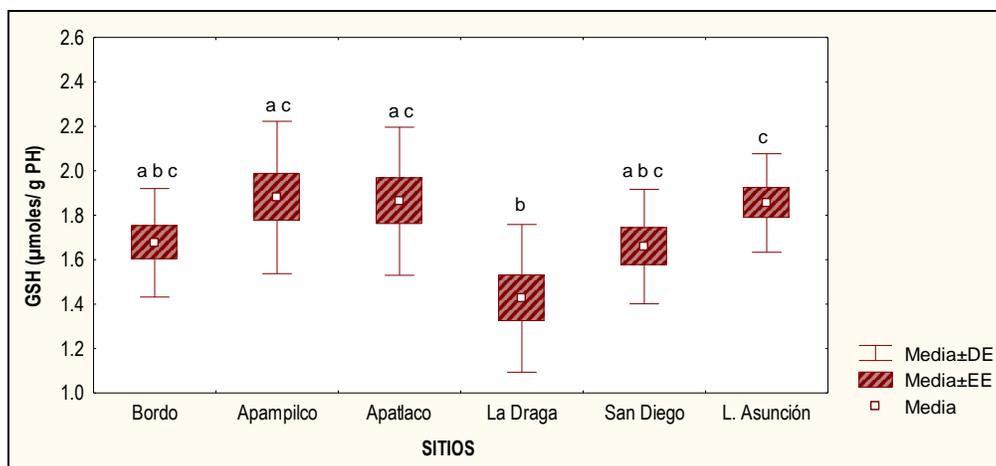


Fig. 13. Concentración de Glutati6n Reducido ($\mu\text{moles GSH/g PH}$) en el h6gado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

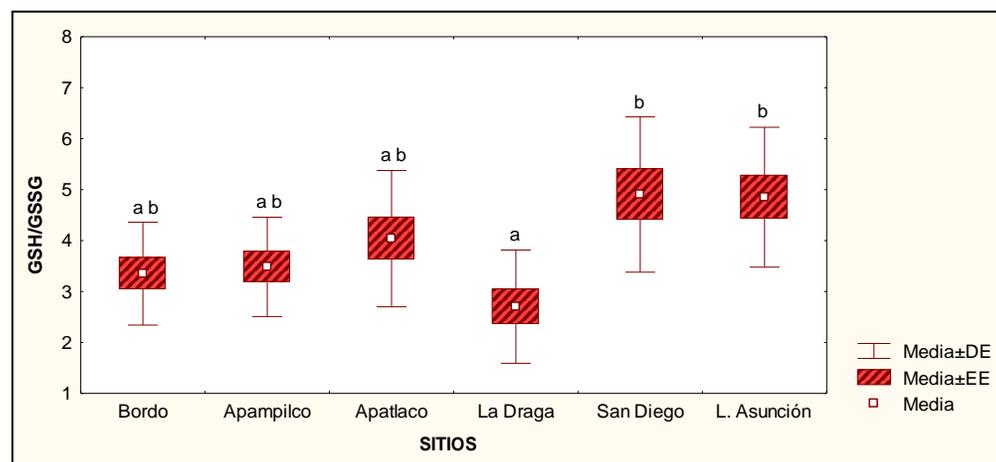


Fig. 14. Raz6n GSH/GSSG en el h6gado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

7.3.2.2. Biomarcador de exposici6n. Metalotione6nas

La mayor concentraci6n hep6tica de Metalotione6nas (MTs; $\mu\text{g MTs/g PH}$, $\mu\text{g MTs/mg PST}$) se registr6 en los organismos procedentes de Apatlaco mientras que la menor concentraci6n se registr6 en los peces de San Diego. Si bien los niveles de MTs, expresados en $\mu\text{g MTs/g PH}$, de los organismos provenientes de este 6ltimo sitio fueron similares a los de L. Asunci6n ($p > 0.05$), fueron 4.21, 5.62, 6.17 y 11.05 veces menores ($p <$

0.05) que los provenientes de La Draga, El Bordo, Apampilco y Apatlaco, respectivamente (tabla 5; figura 15). Al expresar las unidades en μg MTs/mg PST, si bien los niveles de MTs de los peces provenientes de San Diego fueron asimismo similares a los de L. Asunción ($p > 0.05$), fueron 2.7, 3.8, 4.4 y 9.4 veces menores ($p < 0.05$) que los provenientes de La Draga, El Bordo, Apampilco y Apatlaco, respectivamente (tabla 5).

Tabla 5. Concentración de Metalotioneínas (μg MTs/g PH) y Proteína Soluble Total (PST; mg/g PH) en el hígado de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los seis diferentes sitios de estudio. Se señalan valores promedio y error estándar. Entre paréntesis se expresan μg MT/mg PST.

	Bordo	Apampilco	Apatlaco	La Draga	San Diego	L. Asunción
MT	29.00 \pm 1.32 ^a (0.38 \pm 0.04 ^a)	31.84 \pm 2.21 ^a (0.44 \pm 0.05 ^a)	57.05 \pm 0.78 ^b (0.94 \pm 0.07 ^b)	21.73 \pm 6.20 ^{ad} (0.27 \pm 0.09 ^{ac})	5.16 \pm 0.84 ^c (0.10 \pm 0.02 ^c)	12.40 \pm 1.21 ^{cd} (0.19 \pm 0.02 ^c)
PST	80.46 \pm 6.28 ^a	75.63 \pm 7.89 ^{ab}	63.75 \pm 4.77 ^{ab}	74.40 \pm 3.11 ^{ab}	53.62 \pm 4.05 ^b	64.02 \pm 2.06 ^{ab}

Para cada parámetro, letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

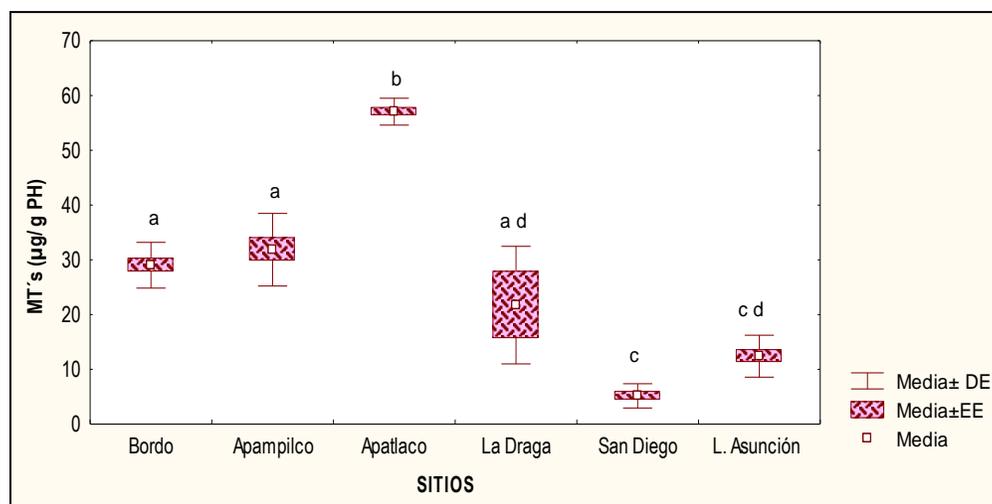


Fig. 15. Concentración de Metalotioneínas (μg MT/ g PH) en el hígado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

7.3.2.3. Proteínas Solubles Totales

En relación a las Proteínas Solubles Totales, la mayor concentración hepática se registró en las tilapias procedentes del Bordo con niveles 1.5 veces mayores ($p < 0.05$) que los ejemplares provenientes de San Diego (tabla 5; figura 16).

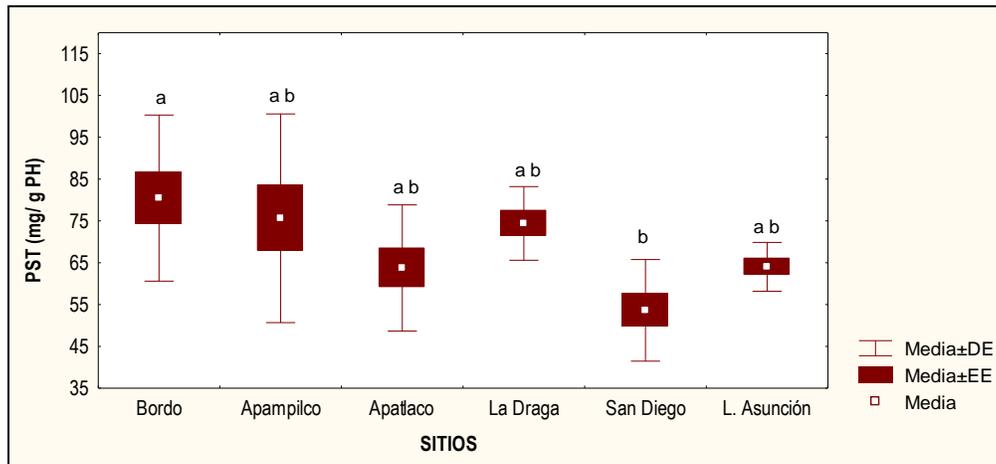


Fig. 16. Concentración de Proteína Soluble total (mg PST/ g PH) en el hígado de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

7.3.3. Nivel fisiológico

7.3.3.1. Parámetros morfométricos y proporción sexual

Los distintos parámetros morfométricos y de proporción sexual (Hembras: Machos) de los ejemplares capturados de *O. niloticus* se integran en la tabla 6. La mayor proporción de hembras se registró en los sitios del Bordo y L. Asunción, a diferencia de Apampilco y La Draga en donde se registró la mayor proporción de machos; la proporción sexual (H:M) fue de 1:1 en Apatlaco mientras que en San Diego no hubo presencia de machos.

Respecto a las medidas morfométricas, el peso total (g PH) de los organismos de Apatlaco y La Draga fue el mayor, aproximadamente 1.4 a 1.7 veces significativamente mayor ($p < 0.05$) que de los organismos provenientes de los demás sitios de estudio; entre estos últimos, los pesos fueron similares ($p > 0.05$). De igual manera, la longitud total (cm LT), la

longitud patrón (cm LP) y el ancho (cm) de los organismos provenientes de Apatlaco y La Draga fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) que de los organismos provenientes de los demás sitios de estudio. Los ejemplares de Apatlaco registraron a su vez la mayor altura (cm) y el mayor peso del hígado (g PH) ($p < 0.05$) en relación a los organismos provenientes de los demás sitios de estudio; entre estos últimos, la altura y el peso hepático fueron similares ($p > 0.05$).

Tabla 6. Parámetros morfométricos y proporción sexual (hembras:machos; H:M) de la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio de Xochimilco. Peso total (PT, g PH), Peso hígado (Ph, g PH); Longitud Total (LT, cm); Longitud patrón (LP, cm); PH = peso húmedo. Se muestran los valores promedio y el error estándar.

	Bordo	Apampilco	Apatlaco	La Draga	San Diego	L. Asunción
H:M	1:0.4	1:3.5	1:1	1:1.5	1:0	1:0.25
PT (g PH)	88.92 ± 4.23 ^a	76.85 ± 3.56 ^a	121.68 ± 8.83 ^b	128.24 ± 6.57 ^b	83.64 ± 6.08 ^a	81.36 ± 5.70 ^a
LT (cm)	17.07 ± 0.28 ^{ab}	16.31 ± 0.27 ^a	18.51 ± 0.45 ^{bc}	19.40 ± 0.38 ^c	16.79 ± 0.40 ^{ab}	16.58 ± 0.42 ^a
LP (cm)	13.74 ± 0.25 ^{ab}	13 ± 0.21 ^a	15.04 ± 0.40 ^b	15.56 ± 0.23 ^b	13.35 ± 0.35 ^a	13.06 ± 0.36 ^a
Ancho (cm)	2.65 ± 0.06 ^{ab}	2.47 ± 0.05 ^a	3.00 ± 0.12 ^b	3.04 ± 0.07 ^b	2.66 ± 0.10 ^{ab}	2.46 ± 0.08 ^a
Alto (cm)	5.36 ± 0.08 ^{abc}	5.32 ± 0.13 ^{ac}	6.18 ± 0.21 ^b	6.00 ± 0.19 ^{ab}	5.19 ± 0.14 ^c	5.49 ± 0.11 ^{ac}
Ph (g PH)	1.97 ± 0.13 ^a	1.61 ± 0.12 ^a	3.25 ± 0.34 ^b	2.28 ± 0.18 ^a	1.53 ± 0.15 ^a	1.97 ± 0.16 ^a

Para cada parámetro, letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

7.3.3.2. Índice de Condición de Fulton

Las tilapias provenientes de Apampilco y Apatlaco presentaron el mayor índice de Fulton, significativamente mayor ($p < 0.05$) que las provenientes de La Draga, San Diego y L. Asunción, las cuales presentaron los valores más bajos. Los organismos provenientes del Bordo registraron un IF similar a las tilapias provenientes de los demás sitios de muestreo ($p > 0.05$) (tabla 7; figura 17).

7.3.3.3. Índice Hepatosomático

El mayor índice Hepatosomático se registró en las tilapias provenientes de Apatlaco, 1.45 veces mayor ($p < 0.05$) que los valores observados en los peces provenientes de Apampilco, La Draga y San Diego donde se observaron los menores valores (tabla 7; figura 18). No obstante, el IH fue similar ($p > 0.05$) entre los ejemplares provenientes de Apatlaco, el Bordo y L. Asunción.

7.3.3.4. Índice Gonadosomático

Los machos provenientes de Apatlaco registraron el mayor Índice Gonadosomático, significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de los machos provenientes de Bordo y Apampilco, los cuales presentaron el menor IG. Los organismos provenientes de La Draga y La Asunción registraron un IG similar a los organismos provenientes de todos los sitios de estudio ($p > 0.05$) (tabla 7; figura 19). En el caso de las hembras, a pesar que el mayor IG se observó en las tilapias provenientes de Apatlaco con valores 1.79 veces mayor que las provenientes de San Diego donde se registró el menor IG, no se observaron diferencias significativas entre los ejemplares provenientes de los diferentes sitios de estudio ($p > 0.05$) (tabla 7; figura 20).

Tabla 7. Índices de Fulton (IF), Gonadosomático (IG, %) y Hepatosomático (IH, %) en la tilapia *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio de Xochimilco. Se muestran los valores promedio y el error estándar.

	IF	IG (%)		IH (%)
		Machos	Hembras	
Bordo	0.018 ± 0.0003 ^{ab}	0.11 ± 0.03 ^a	2.59 ± 0.57 ^a	2.22 ± 0.13 ^{ab}
Apampilco	0.019 ± 0.0003 ^a	0.18 ± 0.03 ^a	2.14 ± 1.10 ^a	1.63 ± 0.10 ^{ac}
Apatlaco	0.019 ± 0.0005 ^a	0.79 ± 0.32 ^b	3.63 ± 0.99 ^a	2.38 ± 0.07 ^b
La Draga	0.017 ± 0.0003 ^b	0.57 ± 0.09 ^{ab}	2.92 ± 0.63 ^a	1.71 ± 0.08 ^{ac}
San Diego	0.017 ± 0.0003 ^b	---	2.03 ± 0.38 ^a	1.64 ± 0.17 ^c
L. Asunción	0.017 ± 0.0003 ^b	0.36 ± 0.03 ^{ab}	3.27 ± 0.69 ^a	1.92 ± 0.09 ^{abc}

Para cada parámetro, letras diferentes indican diferencias significativas entre los sitios de estudio ($p < 0.05$).

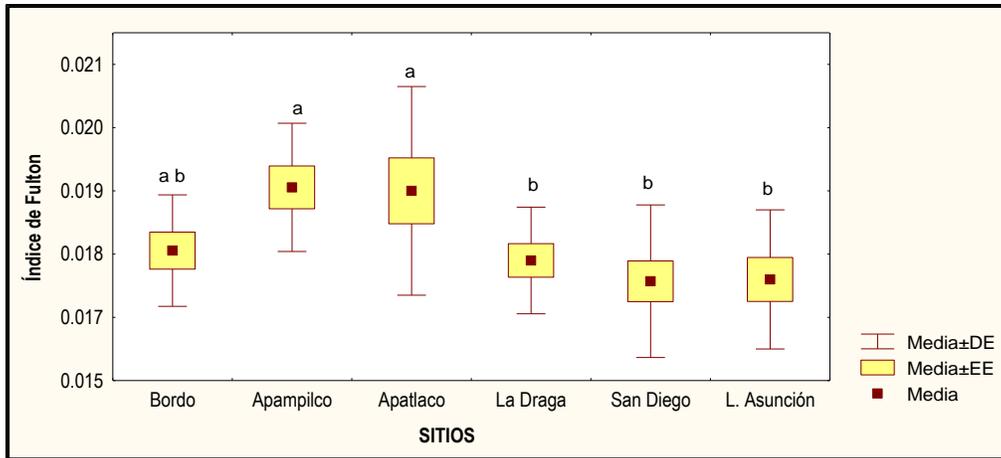


Fig. 17. Índice de Condición de Fulton de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los seis sitios de estudio ($p < 0.05$).

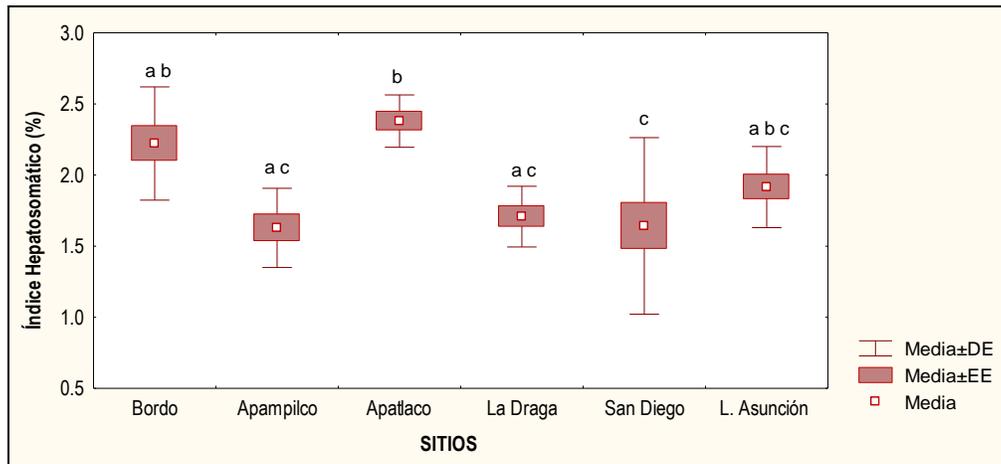


Fig. 18. Índice Hepatosomático (IH, %) de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los seis sitios de estudio ($p < 0.05$).

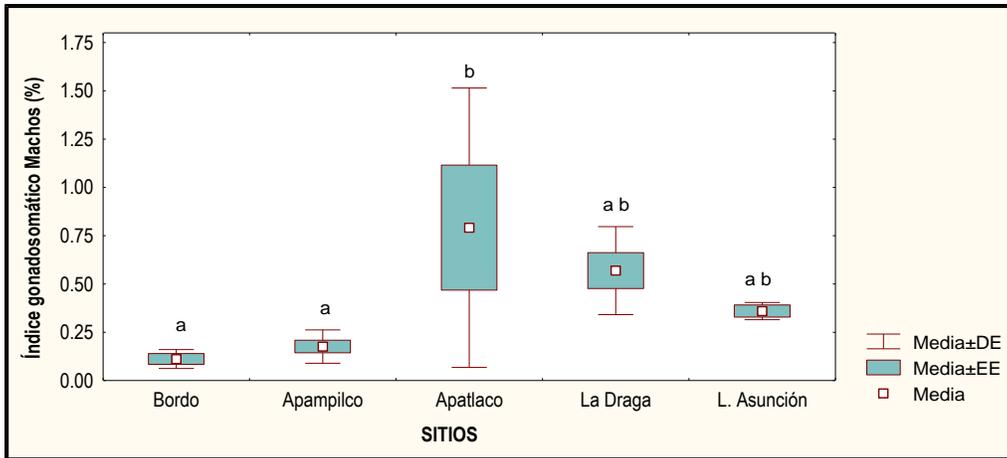


Fig. 19. Índice Gonadosomático (IGM, %) en machos de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los seis sitios de estudio ($p < 0.05$).

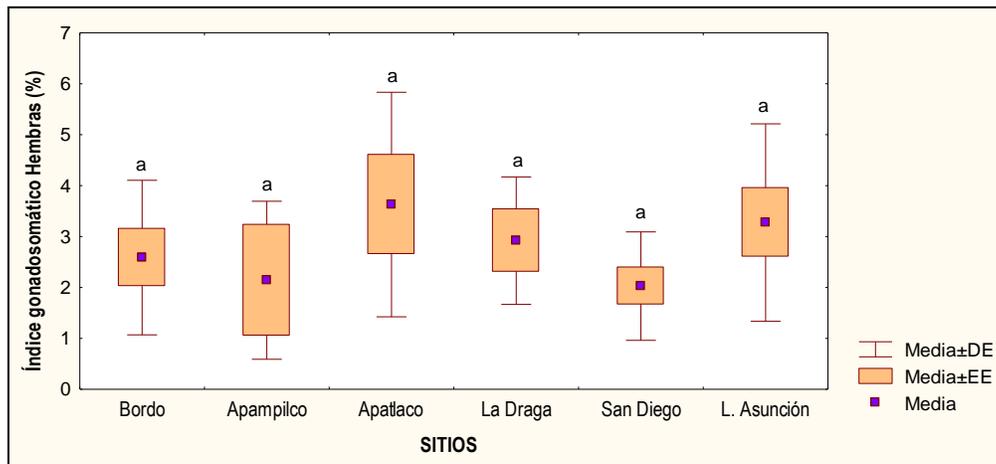


Fig. 20. Índice Gonadosomático (IGH, %) en hembras de *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los seis sitios de estudio ($p < 0.05$).

7.4. Análisis de Componentes Principales (ACP)

El análisis de componentes principales indicó que las variables que están ejerciendo un mayor efecto sobre las tilapias están relacionadas con los metales inductores totales y principales de estrés oxidante (MTIEO, MPIEO) y metales totales inductores de metalotioneínas (MTIMT) (Factor 1, 32.39 %) y con la inducción de metalotioneínas y la condición celular de estrés oxidante (Factor 2, 24.52 %) (Figura 21; ver anexo 11.2, tablas 1, 2 y 3).

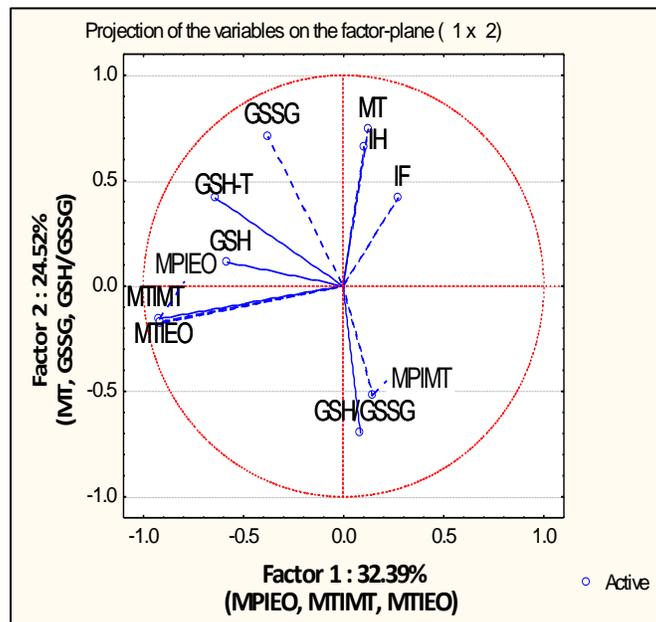


Fig. 21. Análisis de componentes principales (ACP). Muestra las variables principales que ejercen un mayor efecto sobre *Oreochromis niloticus* proveniente de los sitios de estudio.

8. DISCUSIÓN

La introducción de peces no nativos en los cuerpos de agua mexicanos a inicios de la década de los 70's, incluido la zona lacustre de Xochimilco, fue considerada una práctica idónea para incrementar la producción acuícola en el país fundamentalmente de carpas y tilapias (Valiente, 2006; Canonico et al., 2005).

La elevada tolerancia ambiental, adaptabilidad trófica y altas tasas de reproducción de las especies introducidas beneficiaron el cultivo de especies como la tilapia, pero también se convirtieron en una exitosa especie invasora, competidora y depredadora de las especies nativas (Canonico et al., 2005). La amplia distribución y abundancia de estas especies en los cuerpos de agua, su elevada tolerancia ambiental y su resistencia a contaminantes (inorgánicos y orgánicos) ha propiciado que, en particular, *Oreochromis niloticus* sea considerada como un buen candidato a utilizar en programas de monitoreo ambiental (Atli y Canli, 2010; Pathiratne et al., 2009; Linde-Arias et al., 2008). De acuerdo a Costa y Teixeira (2014), y Wiersma (2004), una especie utilizada en programas de monitoreo ambiental debe reunir los siguientes requisitos: vida sedentaria, amplia abundancia y distribución, tolerancia a los contaminantes analizados, capacidad para acumular tóxicos, proveer información de causalidades (concentración contaminante-efecto tóxico), ser una especie de relevancia ecológica e integrar los efectos de los contaminantes en el tiempo.

En la zona lacustre de Xochimilco, estudios previos sugieren que a pesar de su movilidad, las poblaciones de tilapia se distribuyen en parches (Zambrano, com.per.). De tal manera se parte del supuesto que si la especie presenta características ideales como biomonitora ambiental, reflejará las condiciones particulares de la zonación efectuada *a priori* de acuerdo a los impactos agrícolas y urbanos:

1. Bajo impacto urbano y bajo impacto agrícola: Bordo
2. Bajo impacto urbano y elevado impacto agrícola: Apampilco.
3. Impacto medio urbano y elevado impacto agrícola: Apatlaco
4. Alto impacto urbano y bajo impacto agrícola: La Draga, San Diego y Laguna de Asunción.

8.1. Parámetros fisicoquímicos

La complejidad y heterogeneidad ambiental de la zona lacustre de Xochimilco es consecuencia de las severas transformaciones del entorno lo cual ha conducido a cambios significativos de la calidad del agua producto del aporte de aguas residuales provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) fundamentalmente de la del Cerro de la Estrella (CE), a la descarga directa de agua negras domiciliarias y al aporte de múltiples contaminantes de origen urbano, pecuario-ganadero y agrícola (SECITI-GDF I, 2015; Robles-Mendoza et al., 2009; Zambrano et al., 2009; INECOL, 2002), lo cual incide en las características particulares fisicoquímicas del agua y sedimentos de los canales. En el presente estudio, la temperatura y la salinidad fueron similares entre los sitios de muestreo, a diferencia de la conductividad, el pH y el oxígeno disuelto, cuya variabilidad obedece a las características particulares de cada sitio. De manera particular, en San Diego sitio muy somero, cerrado, receptor de las aguas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del Cerro de la Estrella (PTAR-CE), las condiciones de hipoxia pueden relacionarse con el elevado aporte de material orgánico por la descarga de aguas residuales y de aguas negras domiciliarias, aunado a la baja circulación de agua del sitio. En contraste, en los demás sitios de estudio, las condiciones óxicas, aún en sitios de elevado impacto urbano como L. Asunción, podrían relacionarse con procesos de mezcla promovidos por el viento y patrones particulares de la circulación del agua.

8.2. Acumulación hepática de metales

En los organismos acuáticos, la acumulación corporal de metales es un indicador idóneo de la biodisponibilidad de metales en el medio externo. La bioacumulación hepática, es el resultado de la diferencia entre las tasas de incorporación, distribución y eliminación corporal del metal, y donde la incorporación de metales biodisponibles ocurre a través de las superficiales permeables corporales al agua del medio externo (i.e. branquias) y a través de la dieta (Yilmaz et al., 2010; van der Oost et al., 2003; Campbell y Tessier, 1996). En la zona lacustre de Xochimilco, la elevada concentración de material particulado suspendido característico del sistema (Merlín-Uribe et al., 2013; Zambrano et al., 2003),

actúa como un ligando de los xenobióticos presentes, incluidos los metales, reduciendo la biodisponibilidad de las formas químicas solubles en la columna de agua (Atkinson et al., 2007; Akkanen y Kukkonen, 2001). De tal manera, en peces como *Oreochromis niloticus*, de comportamiento bentopelágico y hábitos omnívoros (SAGARPA-CONAPESCA-INCA RURAL, 2012; FAO, 2005-2015) se sugiere que la principal ruta de incorporación de metales es a través de la dieta y de la ingesta incidental de material particulado (Subotić et al., 2013; Authman et al., 2012; Yilmaz et al., 2010; van der Oost et al., 2003).

En el presente estudio, en *O. niloticus* provenientes de los diferentes sitios de estudio se registró la concentración hepática de 8 metales esenciales (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Cr, Ni) y 6 metales sin función biológica conocida (V, Sr, Ag, Cd, As, Pb). Los resultados obtenidos de la concentración hepática de los metales esenciales, sugiere el mantenimiento de su regulación homeostática, independientemente del nivel de alteración del sitio de estudio, de las fuentes potenciales de metales y/o de las concentraciones de metales en el medio externo. Si bien las concentraciones de metales esenciales en los peces son órgano-específicas y especie-específicas, los niveles hepáticos registrados de Zn y Cu en *O. niloticus*, tanto en magnitud como en variabilidad, son similares a los reportados para la misma especie y para *O. mossambicus* en estudios de laboratorio (Atli y Canli, 2008) y de campo (Naji et al., 2014; Taweel et al., 2013) (Ver Anexos, 11.3. Tabla 1). En el presente estudio, si bien las concentraciones hepáticas de metales sin función biológica conocida en *O. niloticus*, particularmente de Cd y Pb, son menores a las reportadas en *O. mossambicus* (Naji et al., 2014) y *O. niloticus* (Taweel et al., 2013) provenientes de ambientes de elevado deterioro ambiental por actividades industriales, urbanas y agrícolas, su registro hepático en las tilapias de la zona lacustre de Xochimilco es consecuencia de su acumulación del medio externo y de la ocurrencia de múltiples fuentes de emisión al sistema. No se observaron patrones claros en la bioacumulación de estos metales en función de los principales impactos urbanos y agrícolas, lo cual sugiere múltiples aportes de diversos orígenes en los diferentes sitios de estudio, aunado a una diferencia en la biodisponibilidad de metales, la cual es afectada por la cantidad de materia orgánica y material particulado del sistema lacustre. Es conocido el efecto adverso

de metales sin función biológica conocida cuya bioacumulación en diversos órganos, incluido el hígado, ejerce alteraciones estructurales y funcionales (Naji et al., 2014; Qadir y Malik, 2011; Falfushynska et al., 2010) que representan un riesgo para a la biota, máxime en escenarios de exposición subletal continua, crónica.

8.3. Indicadores fisiológicos

En el presente estudio, el muestreo fue dirigido a la captura de ejemplares adultos todos ellos observados en condición reproductiva y cuya distribución se registró en todos los sitios de estudio, desde sitios de hipoxia severa de elevado impacto urbano (2.23 mg O₂/L; San Diego) a sitios óxicos de bajo impacto urbano y agrícola como el Bordo. No obstante, las tilapias de mayor peso total (PT), mayor longitud (LT) y mayor peso hepático (g PH) se registraron en Apatlaco (alto impacto agrícola) y La Draga (alto impacto urbano), mientras que los peces que registraron los menores valores de estos parámetros morfométricos se capturaron en Apampilco (alto impacto agrícola). Cabrera et al., (2008) reportaron que las hembras del poecílido *Gambusia puncticulata* colectadas en sitios contaminados por materia orgánica y por efluentes industriales presentaron valores significativamente mayores de talla, probablemente relacionado con una mayor disponibilidad de alimento en los sitios más alterados, fundamentalmente por la eutrofización. En el presente estudio, es posible suponer que las tilapias con las mayores tallas se distribuyan en zonas que presentan elevado aporte de materia orgánica proveniente tanto de la actividad agrícola de invernaderos (Apatlaco) como de la descarga de aguas residuales urbanas (La Draga), posiblemente asociado a una mayor disponibilidad de alimento, lo cual promueva un mayor crecimiento de los ejemplares. No obstante, en las tilapias provenientes de Apampilco (de elevado impacto agrícola) donde se supondría un elevado aporte de materia orgánica proveniente de la actividad agrícola o en los organismos provenientes de sitios de elevado impacto urbano (y materia orgánica) como L. Asunción, las menores tallas registradas pueden ser reflejo de las condiciones ambientales particulares de cada sitio, incluido el efecto del aporte de múltiples contaminantes. Bajo condiciones de cultivo, las tilapias alcanzan un peso total en un amplio intervalo de valores que va de los 60-1100 g PH y LT de 16-32 cm (SAGARPA-CONAPESCA-INCA RURAL, 2012; Nakayama et

al., 2010; Atli y Canli, 2008; Linde-Arias et al., 2008). En el presente estudio, el PT promedio varió de los 77-128 g PH, con LT promedio de 16-19 cm. Es sabido que bajo condiciones de cultivo se requiere del uso de poblaciones macho monosexadas, los cuales presentan una tasa de crecimiento del doble de las hembras; en las poblaciones mixtas se genera una gran disparidad en la talla de los peces cultivados, donde la presencia de tilapias hembras genera una reproducción descontrolada, el excesivo reclutamiento de alevines, competencia por alimento y enanismo de la población original impidiendo que alcancen las tallas comerciales (FAO, 2005-2015). Es probable que estas variables estén influyendo a la vez en la variabilidad que se observó en los parámetros morfométricos de las tilapias en las tallas máximas de captura así como en la proporción sexual de los ejemplares provenientes de los diferentes sitios de estudio. Así, se registraron desde la presencia exclusiva de hembras en San Diego (elevado impacto urbano) a proporciones mayoritariamente de machos en Apampilco (alto impacto agrícola, bajo impacto urbano), donde las proporciones sexuales registradas en cada sitio influyen a la vez en los resultados obtenidos en el IG.

Los índices de condición fisiológica han sido frecuentemente usados como monitor de salud en peces y asumen que la masa de las reservas de energía disponible está localizada en los tejidos somáticos y germinales, donde a un peso total dado (y/o longitud), valores mayores de estos índices reflejan una mejor condición de salud de los individuos (Brosset et al., 2015; Vasconcelos et al., 2009). En el presente estudio, el mayor Índice de Fulton (IF) se observó en las tilapias provenientes de Apampilco y Apatlaco (alto impacto agrícola; bajo a medio impacto urbano) lo cual sugiere que se encuentran en una mejor condición fisiológica que las tilapias provenientes de La Draga, San Diego y L. Asunción (alto impacto urbano; bajo impacto agrícola) donde se observaron los menores registros de IF y probablemente se encuentren sujetas a mayores niveles de estrés ambiental. Estos resultados son similares a los reportados por Linde-Arias et al., (2008) quienes registraron los menores IF en tilapias provenientes de sitios que reciben descargas industriales y sometidas a mayores niveles de deterioro ambiental.

No obstante, los resultados obtenidos del Índice Hepatosomático (IH) de las tilapias provenientes de los diferentes sitios de estudio generan información contradictoria dado que los mayores valores se registraron en los organismos provenientes tanto de Apatlaco (alto impacto agrícola; medio impacto urbano) como del Bordo (bajo impacto agrícola y urbano). El hígado en los peces juega un importante papel en diversas funciones vitales sobre el metabolismo y es también el principal órgano de acumulación, biotransformación, y excreción de contaminantes (Figueiredo-Fernández et al., 2006); la alteración estructural y funcional del hígado, se ha reportado en diversos estudios en peces, donde el incremento en su peso es una respuesta no específica a los tóxicos debido al aumento en la demanda de la actividad enzimática; sin embargo, la inducción específica de proteínas como la vitelogenina por compuestos estrogénicos puede a la vez ocasionar el incremento en el peso del hígado (Toft et al., 2003). Porter y Janz (2003) y Toft et al., (2004) reportan en peces de ambientes alterados, el incremento del IH como consecuencia de la exposición a agentes estresantes entre ellos los contaminantes. A su vez, Tricklebank et al., (2002) mencionan que el incremento hepático puede deberse a la hiperplasia o a la hipertrofia como una respuesta adaptativa para ampliar la capacidad de desintoxicación del hígado a compuestos xenobióticos, si bien algunas fuentes de contaminación pueden conllevar a la reducción de este órgano. De tal manera, las diferencias observadas en el IH de las tilapias analizadas en el presente estudio pueden ser debidas tanto a la naturaleza de los múltiples contaminantes presentes en los diversos sitios de estudio como a la variabilidad en la capacidad de respuesta particular de desintoxicación de los organismos.

Cabe destacar que de acuerdo a los registros de la Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE), las mayores densidades de organismos se registraron en Apampilco y Apatlaco (alto impacto agrícola, bajo a mediano impacto urbano) y las menores en el Bordo (bajo impacto urbano y agrícola) San Diego y L. Asunción (alto impacto urbano), sitios en los cuales se registraron a la vez los mayores y menores IF, respectivamente. La CPUE, medida de abundancia relativa, es utilizada para monitorear los cambios potenciales en las poblaciones de peces debido a actividades industriales, al efecto de especies invasoras y al

impacto de contaminantes antropogénicos (Guzzo et al., 2014). De tal manera, es posible suponer que la CPUE en las tilapias registrada en el presente estudio refleje a su vez condiciones diferenciales de impacto antrópico por contaminantes en la zona lacustre de Xochimilco.

Los estudios *in situ* para evaluar el efecto adverso de los xenobióticos (incluidos los metales pesados) en las especies acuáticas, si bien integran y reflejan las condiciones reales del sistema, representan una elevada complejidad debido a las múltiples interacciones con variables bióticas y abióticas, (Crane et al., 2007; Monserrat et al., 2007; Graca et al., 2002; Ireland et al., 1996; Maia et al., 1999). No obstante las múltiples limitaciones en la interpretación de los Índices fisiológicos de las tilapias aunado a los registros de la CPUE, los resultados sugieren que los sitios de Apampilco y Apatlaco (alto impacto agrícola; bajo a mediano impacto urbano) son ambientes locales de aparente menor estrés ambiental para el desarrollo de las tilapias.

8.4. Biomarcador de efecto. Sistema Glutación

Un evento inicial común en la acción tóxica de todos los metales es la inducción de estrés oxidante debido a la alteración del balance redox celular (Formigari et al., 2007; Valko et al., 2005). Diversos estudios en peces, evidencian que el sistema glutatión actúa como una primera línea de defensa celular ante la alteración del balance redox por estrés oxidante, donde el hígado es el órgano central de su síntesis (Rana et al., 2002; Deneke y Fanburg, 1989). En el presente estudio, se evaluó el sistema glutatión (glutatión total GSH-T, reducido GSH, oxidado GSSG y razón GSH/GSSG) como biomarcador de la condición del estrés oxidante a nivel hepático en *O. niloticus*.

El GSH (glutatión reducido) es el principal tiol celular participando en las reacciones redox celular y desempeña un papel fundamental en la desintoxicación de ROS y metabolitos electrofílicos. El GSH actúa tanto como un antioxidante no enzimático (quelando metales), como cofactor y sustrato para las actividades enzimáticas de GST (glutatión S-transferasa) y GPx (glutatión peroxidasa), relevantes en el ciclo redox del GSH. Así, altos niveles de GSH protegen a proteínas ante la acción oxidante de metales a través del ciclo

redox GSH o directamente desintoxicando los ROS generados por la exposición a contaminantes, mientras que bajos niveles de GSH pueden modular la actividad de GPx y GST (Ruas et al., 2008).

En peces dulceacuícolas, diversos estudios *in situ* (Franco et al., 2010; Falfushynska et al., 2010; Falfushynska y Stolyar, 2009) y de laboratorio (Eroglu et al., 2014; Kanak et al., 2014; Atli y Canli, 2008; Lima et al., 2006) demuestran que una disminución en la concentración de GSH y de la razón GSH/GSSG son indicativos de una alteración oxidante celular. No obstante, diversos estudios de laboratorio en *O. niloticus* evidencian la inducción de GSH en peces expuestos a metales como una primera línea de defensa a la acción adversa del estrés oxidante (Firat et al., 2009; Atli y Canli, 2008; Lima et al., 2006).

Los niveles hepáticos de GSH-T, GSH y GSSG registrados en *O. niloticus* de la zona lacustre de Xochimilco son similares a los reportados para la misma especie bajo diferentes escenarios ambientales de estrés oxidante (Franco et al., 2010; Lima et al., 2006) (Ver Anexos, 11.3. Tabla 2). En el presente estudio, los menores niveles hepáticos de GSH-T y GSH, se registraron en los organismos provenientes de La Draga y San Diego sitios de elevado impacto urbano. A su vez, los menores niveles de GSSG se registraron en los organismos provenientes de San Diego y L. Asunción, éste último también de elevado impacto urbano. Dado que los organismos se encuentran expuestos de manera crónica al efecto oxidante de estresores ambientales en su medio, es posible sugerir que la reducción en los niveles de GSH-T y GSH da cuenta del agotamiento del pool de glutatión y refleja una mayor alteración oxidante celular en los organismos provenientes de La Draga, sitio de elevado impacto urbano. Resultados similares en estudios *in situ* han sido reportados en *O. niloticus* (Franco et al., 2010; Lima et al., 2006) de ambientes alterados por actividades antrópicas.

De acuerdo a Deneke y Fanburg (1989) la reducción del pool celular de GSH bajo condiciones de estrés oxidante puede ser consecuencia de su conjugación con numerosos compuestos xenobióticos con centros electrofílicos, como mecanismo de desintoxicación o protección celular. De igual manera, el incremento celular en los niveles de GSSG se

asocia con el incremento en las tasas de su producción ligadas al incremento en la producción de GSH y una mayor actividad de la GSH peroxidasa o bien por la inhibición de la actividad enzimática de la glutatión reductasa (GR), donde el resultado final neto es la pérdida del GSH intracelular. No obstante, el incremento en la síntesis y el pool celular de GSH debido a la acción oxidante de metales es una primera línea de defensa a su acción oxidante al actuar como quelante, remover los oxiradicales y participar en reacciones de desintoxicación catalizadas por GPx. Al respecto, Lima et al., (2006) reporta una fase bifásica en el sistema antioxidante de *O. niloticus* expuestos 60 y 90 d a efluentes urbanos; en una primera etapa (60 d) se incrementa el sistema antioxidante mientras que en una segunda etapa (90 d), se reduce progresivamente la respuesta debido al daño oxidante.

Bajo condiciones normales, usualmente las células exhiben una elevada razón GSH/GSSG, ya que del 90-99% del glutatión total (GSH-T) está en su forma reducida (GSH) y del 1-10% está en su forma oxidada (GSSG). De tal manera, desviaciones en las proporciones normales de GSH y GSSG resultan en incrementos o reducciones en los valores de la razón GSH/GSSG que dan cuenta de condiciones de estrés oxidante celular, por lo cual la razón GSH/GSSG ha sido utilizada como un biomarcador integral del estado redox celular (Circu y Aw, 2010; Bell y Vallee, 2009; Deneke y Fanburg, 1989).

En el presente estudio, las proporciones celulares hepáticas de GSH y GSSG, sugieren que las tilapias provenientes de todos los sitios de estudio de la zona lacustre de Xochimilco están sujetas a condiciones de estrés oxidante, de diversa magnitud. Los resultados de la razón GSH/GSSG confirman que los organismos provenientes de La Draga sitio de alto impacto urbano, se encuentran sujetos a un mayor estrés oxidante que los peces de los demás sitios de estudio. Los mayores valores de la razón hepática GSH/GSSG se observaron en los organismos provenientes de San Diego y L. Asunción (sitios de elevado impacto urbano) asociados a las menores concentraciones de GSSG en hígado; en contraste, los menores valores de GSH/GSSG observados en los organismos de La Draga (alto impacto urbano) se asocian a las menores concentraciones hepáticas registradas de GSH. La disminución en la razón GSH/GSSG bajo escenarios de contaminación antrópica

también ha sido reportado en *O. niloticus* (Piner y Ünner, 2013; Franco et al., 2010; Lima et al., 2006) y en *Carassius auratus* (Zhang et al., 2005).

Contrario a lo esperado, no se observó una relación entre las alteraciones en las respuestas del sistema glutatión evaluados como indicadores del estrés oxidante y las concentraciones hepáticas de los metales totales (MTIEO) y principales metales (MPIEO) inductores de estrés oxidante. Las mayores concentraciones hepáticas de MTIEO y MPIEO se registraron en las tilapias de Apatlaco, donde la principal contribución fue del Fe; sin embargo, en estos organismos la relación GSH/GSSG denota que sin bien las tilapias exhiben una condición de estrés oxidante, su magnitud es menor a la registrada en los ejemplares provenientes de La Draga. Bajo el escenario de alteración ambiental y de exposición crónica continua a la interacción de múltiples estresores es posible que operen simultáneamente diversos mecanismos de compensación al estrés oxidante que están sujetos los organismos, como se discutirá más adelante.

8.5. Biomarcador de exposición y efecto. Metalotioneínas

Las MTs han sido ampliamente utilizadas como biomarcadores de exposición a metales en estudios de monitoreo ambiental, ya que muestran una expresión diferencial en situaciones de contaminación ambiental por metales, debido a su estrecha relación entre su inducción y las concentraciones encontradas particularmente a nivel hepático, principal órgano del metabolismo y desintoxicación (Tenório-Daussat et al., 2014).

En estudios de trasplante y de campo en peces demuestran una mayor concentración hepática de MTs en peces provenientes de ambientes con mayor impacto antrópico (Naji et al., 2014; Pathiratne et al., 2009; Linde-Arias et al., 2008). En el presente estudio, las concentraciones hepáticas promedio de MTs en *O. niloticus* de la zona lacustre de Xochimilco variaron de 5.16 a 57.05 μg MTs/g PH (0.10 a 0.94 μg MTs/mg PST), niveles menores a los reportados en *O. mossambicus* (Naji et al., 2014), *Carassius carassius* (Falfushynska et al., 2010), *Cyprinus carpio* (Falfushynska y Stolyar, 2009) y *O. niloticus* (Pathiratne et al., 2009; Linde-Arias et al., 2008) provenientes de ambientes alterados por actividades urbanas, agrícolas e industriales (Ver Anexos, 11.3. Tabla 3). Estas diferencias

pueden ser reflejo de la variabilidad en la biodisponibilidad de metales y de la multiplicidad de estresores ambientales responsables de la inducción de MTs como ha sido sugerido por Carvalho et al., (2012) y Pathiratne et al., (2009).

A pesar de la variabilidad observada en los niveles hepáticos de MTs en los ejemplares de *O. niloticus* de la zona lacustre de Xochimilco, destacan dos comportamientos. Por un lado, las mayores concentraciones hepáticas de MTs se registraron en los ejemplares de *O. niloticus* provenientes de Apatlaco (medio impacto urbano, alto impacto agrícola) en los cuales se observó la mayor concentración hepática de metales totales, metales esenciales, de metales sin función biológica conocida y de metales totales inductores de metalotioneínas (MTIMT), donde la principal contribución fue dada por el Fe; en estos ejemplares se registró a su vez la mayor concentración de los principales metales inductores de estrés oxidante (Fe y Cr). En contraste, los menores niveles hepáticos de MTs se registraron en los ejemplares provenientes de San Diego y L. Asunción (elevado impacto urbano); no obstante las concentraciones hepáticas de los MTIMT fueron mayores a los registrados en los organismos provenientes del Bordo, cuyos niveles de MTs fueron mayores a las registradas en los individuos provenientes de San Diego y L. Asunción. Cabe destacar que sólo en los organismos de San Diego fue evidente la mayor concentración de Cr, metal altamente reactivo e inductor de estrés oxidante. De tal manera, los resultados obtenidos sugieren la acción dual de las MTs, tanto como mecanismo de desintoxicación a los metales como de protección al estrés oxidante.

Las MTs desempeñan múltiples funciones incluyendo el mantenimiento de la homeostasis celular de metales esenciales, la desintoxicación de metales, la regulación de la expresión génica y regeneración tisular y la remoción de ROS (Formigari et al., 2007; Amiard et al., 2006; Chan et al., 2002; Park et al., 2001). La función de las MTs en la remoción de ROS se relaciona con su estructura rica en residuos de cisteína (Amiard et al., 2006; Haq et al., 2003; Klaassen et al., 1999; Roesijadi, 1992). Diversos estudios plantean que el complejo redox glutatión-MTs es una de las vías cruciales para remover o quelar a los radicales libres, proceso que constituye el ciclo redox de la MT, el cual es mediado por el Se. De tal manera, la actividad antioxidante de las MTs junto con el sistema GSH son fundamentales

en el balance redox celular y en la protección contra el estrés oxidante (Ruttkay-Nedecky et al., 2013; Nzungue et al., 2011; Atli y Canli, 2008; Kang, 2006).

De tal manera, es posible suponer que la mayor inducción hepática de MTs observada en los ejemplares de *O. niloticus* provenientes de Apatlaco da cuenta de la protección al estrés oxidante y efecto tóxico de los metales, lo cual a su vez explica el hecho de que, de acuerdo a los valores de la razón GSH/GSSG, los organismos de este sitio presentaron uno de los menores niveles de estrés oxidante. Aunado a ello, en estos organismos junto con los de Apampilco, se registraron los mejores índices de condición fisiológica y altos valores de CPUE. En contraste, la menor inducción de MTs observada en los ejemplares de San Diego y L. Asunción puede ser reflejo de una reducción en la síntesis de esta metaloproteína, la cual puede ser consecuencia del incremento en la demanda de residuos de cisteína para la síntesis de GSH durante la desintoxicación a contaminantes, como ha sido sugerido por Romeo et al., (1997). De hecho, en estos organismos la razón GSH/GSSG fue la más alta respecto a los organismos de los demás sitios, sin embargo fueron los organismos con el menor índice de condición fisiológica de Fulton y con los menores registros de CPUE lo que sugiere una condición de elevado deterioro global.

A pesar de la variabilidad en los resultados obtenidos en el presente estudio, los resultados del análisis de componentes principales y el comportamiento de las concentraciones hepáticas de MTs y de los indicadores del sistema glutatión, sugieren su participación acoplada bajo condiciones de estrés oxidante en los ejemplares de *O. niloticus* de la zona de estudio. La falta de correlación entre la concentración hepática de metales inductores de MTs y los niveles de MTs así como entre la concentración hepática de los metales inductores de estrés oxidante y los niveles de los indicadores de estrés oxidante del sistema glutatión, dan cuenta de la complejidad de las interacciones de múltiples estresores ambientales que ejercen acción oxidante en un sistema de elevada complejidad como es la zona lacustre de Xochimilco. En este escenario ambiental, numerosas variables pueden ocasionar el incremento en los niveles celulares de ROS y generar estrés oxidante como son condiciones de hipoxia, bajos niveles de pH, numerosos contaminantes de origen urbano y agrícola (i.e. disruptores endócrinos, plaguicidas) y

elevados niveles de compuestos nitrogenados (Ruas et al., 2008). Resultados recientes (Vanegas com. per.) demuestran que en La Draga, San Diego y L. Asunción receptores de aguas de descargas residuales (PTAR-CE) y descargas de aguas negras domiciliarias se registran los mayores niveles de amonio, nitrito y nitratos, compuestos nitrogenados que en concentraciones elevadas ejercen acción oxidante a la biota acuática (Zambrano et al., 2003).

Diversos estudios en peces demuestran la capacidad de los organismos de habitar ambientes alterados por estresores que ejercen acción oxidante debido fundamentalmente a la inducción de mecanismos de defensa que permiten la desintoxicación de los xenobióticos y la protección antioxidante como ha sido reportado en *Oreochromis mossambicus* (Naji et al., 2014) *Carassius carassius* (Falfushynska et al., 2010) y *Cyprinus carpio* (Falfushynska y Stolyar, 2009). No obstante, bajo condiciones de exposición subletal crónica y continua, los mecanismos de protección a nivel molecular, bioquímico y celular podrían conducir a la compensación a largo plazo y/o aclimatación al estrés tóxico de metales siempre y cuando se garantice un suministro energético alimentario adecuado.

Los resultados obtenidos demuestran que en estudios de campo en ambientes de elevado deterioro ambiental debido al aporte de múltiples contaminantes como es la zona lacustre de Xochimilco, la evaluación conjunta de múltiples biomarcadores de exposición y de efecto, a nivel bioquímico (MTs, sistema Glutación), fisiológico (indicadores de condición) y “pesquero” (CPUE), aunado a la acumulación hepática de contaminantes relevantes como los metales, son necesarios para dar cuenta de la condición de estrés oxidante a la cual están sujetos los organismos. Contrario a lo esperado, los resultados obtenidos denotan que en un sistema acuático “cerrado” como es la zona lacustre de Xochimilco aún especies móviles de reconocida tolerancia ambiental como *O. niloticus* pueden ser utilizadas como biomonitores en programas de monitoreo ambiental ya que exhiben respuestas diferenciales en sitios de diferentes niveles de impacto urbano-agrícola.

9. CONCLUSIONES

- En los ejemplares de la tilapia *Oreochromis niloticus* provenientes de los 6 diferentes escenarios de impacto urbano agrícola se registró a nivel hepático la alteración del balance redox celular y una condición de severo estrés oxidante.
- En las tilapias de todos los sitios de estudio se registraron a nivel hepático 8 metales esenciales (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Cr y Ni) y 6 sin función biológica conocida (V, Sr, Ag, Cd, As y Pb). Los niveles de los metales esenciales sugieren su regulación homeostática mientras que los de sin función biológica sugieren un riesgo para los organismos.
- No se observaron patrones claros en la bioacumulación de los metales en función de los principales impactos urbanos y agrícolas, lo cual sugiere múltiples aportes de diversos orígenes en los diferentes sitios de estudio, y una variabilidad en la disponibilidad de alimento y material particulado en suspensión que podría estar modulando la biodisponibilidad de los metales. De manera global, la mayor concentración de metales se registró en el hígado de los ejemplares de Apatlaco, y la menor, en los organismos del Bordo.
- Los marcadores de estrés oxidante sugieren una mayor alteración en los organismos provenientes de los sitios de mayor impacto urbano (La Asunción, San Diego y La Draga). Las tilapias provenientes de Apatlaco (impacto agrícola) presentaron la menor alteración de estrés oxidante probablemente asociado a la participación de las MTs como mecanismo de desintoxicación y protección celular.
- No se observó una correlación positiva entre la acumulación hepática de metales totales y principales inductores de estrés oxidante (MTIEO, MPIEO) y de metales totales y principales inductores de Metalotioneínas (MTIMT, MPIMT) con la expresión de los biomarcadores Sistema Glutación ni Metalotioneínas.

- Los indicadores fisiológicos y de pesca (CPUE) confirman que los organismos provenientes de Apatlaco y Apampilco (impacto agrícola) presentan la mejor condición fisiológica.
- En la zona lacustre de Xochimilco, sistema de elevada heterogeneidad ambiental y receptora de múltiples contaminantes, diversos factores pueden influir sobre la expresión de los biomarcadores analizados y la acumulación de los metales. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio denotan que la evaluación conjunta de múltiples biomarcadores de exposición y de efecto, aunado a la acumulación hepática de contaminantes relevantes como los metales, sugiere que a pesar de que *O. niloticus* es una especie tolerante, refleja las condiciones locales de deterioro de la zona lacustre y puede ser utilizada en programas de monitoreo ambiental.

10. LITERATURA CITADA

- Akkanen J. and J. Kukkonen. 2001. Effects of water hardness and dissolved organic material on bioavailability of selected organic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 2303-2308.
- Alverson D.L. and W.T. Pereyra. 1969. Demersal fish explorations in the northeastern pacific ocean: An evaluation of exploratory fishing methods and analytical approaches to stock size and yield forecasts. *Proceedings of the Indo-Pacific Fisheries Council*. 13 (III): 224-254.
- Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Barka S., Pellerin J. and P.S. Rainbow. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*. 76: 160- 202.
- Apel K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55: 373-399.
- Atkinson C.A., Jolley D.F., S.L. Simpson. 2007. Effect of overlying water pH, dissolved oxygen, salinity and sediment disturbances on metal release and sequestration from metal contaminated marine sediments. *Chemosphere*. 69: 1428-1437.
- Atli G. and M. Canli. 2008. Responses of metallothionein and reduced glutathione in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* following metal exposures. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 25: 33-38.
- Atli G. and M. Canli. 2010. Responses of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1884-1889.
- Authman M.M., Abbas W.T. and A.Y. Gaafar. 2012. Metals concentrations in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from illegal fish farm in Al-Minufiya Province, Egypt, and their effects on some tissues structures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 84: 163-172.
- Bagenal T.B. and F.W. Tesch. 1978. Age and growth. *Methods for assessment of fish production in freshwater*, 3rd edition. Blackwell Scientific Publication, Oxford, U.K. 101-136.
- Baker M.A., Cerniglia G.J. and A. Zaman. 1990. Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Analytical Biochemistry*. 190: 360-365.
- Bartosz G. 2009. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochemical Pharmacology*. 77: 1303-1315.
- Bell S.G. and B. Vallee. 2009. The Metallothionein/Thionein System: An Oxidoreductive Metabolic Zinc Link. *ChemBioChem*. 10: 55-62.
- Blewett T.A. and C.M. Wood. 2015. Salinity-dependent nickel accumulation and Oxidative stress responses in the euryhaline killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 68: 382-394.
- Bradford M. 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.

- Brosset P., Fromentin J.M., Ménard F., Pernet F., Bourdeix J.H., Bigot J.L., Van E., Pérez M., Choy S. and C. Saraux C. 2015. Measurement and analysis of small pelagic fish condition: A suitable method for rapid evaluation in the field. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 462: 90-97
- Cabrera Y., Aguilar C. and C. González . 2008. Indicadores morfológicos y reproductivos del pez *Gambusia puncticulata* (Poeciliidae) en sitios muy contaminados del río Almendares, Cuba. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 56 (4): 1991-2004.
- Campbell P. and A. Tessier. 1996. Ecotoxicology of metals in the aquatic environment: geochemical aspects. Cap. 2. In. Newman M. and Jagoe Ch. (Edits). *Ecotoxicology. A Hierarchical Treatment*. CRC Lewis Publishers. NY. 411 pp.
- Canonico G.C., Arthington A., Mccrary J.K. and M.L. Thieme. 2005. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic conservation: Marine and freshwater ecosystems*. 15: 463-483.
- Carrión C., Ponce-de-León C., Cram S., Sommer I., Hernández M. and C. Vanegas. 2012. Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) en Xochimilco para fitorremediación de metales. Potential use of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in Xochimilco for metal phytoremediation. *Agrociencia*. 46: 609-620.
- Carvalho C., Bernusso V., Sobreiro H., Gaeta E. and M. Narciso. 2012. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*. 89: 60-69.
- Chan J., Huang Z., Merrifield M.E., Salgado M.T. and M.J. Stillman. 2002. Studies of metal binding reactions in metallothioneins by spectroscopic, molecular biology, and molecular modeling techniques. *Coordination Chemistry Reviews*. 319-339.
- Circu M.L and T.Y. Aw. 2010. Reactive oxygen species, celular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*. 48: 749-762.
- Contreras V., Martínez-Meyer E., Valiente-Riveros E. and L. Zambrano. 2009. Recent decline and potential distribution in the last remnant area of the microendemic Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Biological Conservation*. 142: 2881-2885.
- Costa C. and J.P. Teixeira. 2014. Biomonitoring. Portuguese National Institute of Health, Porto, Portugal. *Encyclopedia of Toxicology*. Vol. 1. 483-484.
- Crane M., Burton G., Culp J., Greenberg M., Munkittrick K., Ribeiro M., Salazar M. and S. St-Jean. 2007. Review of aquatic in situ approaches for stressor and effect diagnosis. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 3: 234-245.
- Deneke S. and B. Fanburg. 1989. Regulation of cellular glutathione. *American Journal of Physiology*. 257: L163-L173.
- dos Santos C., Bernusso V., Sobreiro H., Gaeta E.L. and M. Narciso. 2012. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*. 89: 60-69.
- Dudev T. and C. Lim. 2014. Competition among metals ions for protein binding sites: Determinants of metal ion selectivity in proteins. *Chemical Reviews*. 114: 538-556.
- Eroglu A., Dogan Z., Kanak E.G., Atli G. and M. Canli. 2014. Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environmental Science and Pollution Research*. 22: 3229-3237.

- Falfushynska H.I. and O.B. Stolyar. 2009. Responses of biochemical markers in carp *Cyprinus carpio* from two field sites in Western Ukraine. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72: 729-736.
- Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Priyduin C.V., Stoliar O.B. and Y.K. Nam. 2010. Variability of responses in the crucian carp *Carassius carassius* from two Ukrainian ponds determined by multi-marker approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1896-1906.
- FAO. 2005-2015. Cultured aquatic species information programme *Oreochromis niloticus*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Rakocy J.E. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromisniloticus/es>]. Consultado el 080915.
- Figueiredo-Fernandes A., Fontainhas-Fernandes A., Peixoto F., Rocha E. and M.A. Reis-Henriques. 2006. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 85: 97-103.
- Firat O., Cogun H.Y., Aslanyavrusu S. and F. Kargin. 2009. Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn + Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology*. 29: 295-301.
- Flora S.J.S., Mittal M. and A. Mehta. 2008. Heavy metal induced oxidative stress and possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*. 128: 501-523.
- Formigari A., Irato P. and A. Santon. 2007. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: Biochemical and cytochemical aspects. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part. C*. 146:443-459.
- Foster A.W., Osman D. and N. Robinson. 2014. Metal preferences and metallation. *The Journal of Biological Chemistry*. 41: 28095-28103.
- Franco J.L., Trevisan R., Posser T., Trivella D., Hoppe R., Martins J., Fernandes D., Decker H., Tasca C., Bairy R., Marques M., Dias A. and A. Dafre. 2010. Biochemical alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 864-872.
- Gaceta Oficial del Distrito Federal (GODF). 2006. Programa de manejo del área natural protegida con carácter de zona de conservación ecológica "Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco. Gobierno del Distrito Federal. No. 5: 164 pp.
- García-Sevillano M.A., García-Barrera T. and J.L. Gómez-Ariza. 2015. Environmental metabolomics: biological markers for metal toxicity. *Electrophoresis*. 1-36.
- GODF. 2006. Informe Final. Análisis del estado de conservación ecológica del sistema lacustre chinampero de la superficie reconocida por la UNESCO como Sitio Patrimonio de la Humanidad en Xochimilco, Tláhuac y Milpa Alta. México D.F. México. 95 pp.
- González E.S. 2006. Evaluación *in situ* del efecto biológico de metales pesados en el ajolote *Ambystoma mexicanum*. Tesis de grado. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 91 pp.
- Graça A.S., Rodrigues-Capítulo A., Ocón C. and N. Gómez. 2002. In situ test for water quality assessment: a case study in Pampean rivers. *Water Research*. 36: 4033 – 4040.

- Greg P., Busakerl R.A. and M.E. Goolish. 1990. Methods for fish Biology American Fisheries Society. Maryland. USA. 684 pp.
- Griffith O.W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry*. 106: 207-212.
- Guzzo M.M., Rennie M.D. and P.J. Blanchfield. 2014. Evaluating the relationship between mean catch per unit effort and abundance for littoral cyprinids in small boreal shield lakes. *Fisheries Research*. 150: 100-108.
- Haq F., Mahoney M. and J. Koropatnick. 2003. Signaling events for metallothionein induction. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 533: 211-226.
- INECOL. 2002. Programa de Manejo. Área Natural Protegida de los Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco. Informe Final. Instituto de Ecología. CORENA. Gobierno del Distrito Federal. México. D.F. México. 337 pp.
- Ireland D.S., Burton G.A. and G.G. Hess. 1996. In situ toxicity evaluations of turbita and photoinduction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15: 574 – 581.
- Jomova K. and M. Valko. 2011. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 283: 65-87.
- Kanak E.G., Dogan Z., Eroglu A., Atli G. and M. Canli. 2014. Effects of fish size on the response of antioxidant systems of *Oreochromis niloticus* following metal exposures. *Fish Physiology Biochemistry*. 40: 1083-1091.
- Kang Y.J. 2006. Metallothionein redox cycle and function. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 1459-1467.
- Kim B.M., Rhee J.S., Jeong C.B., Seo J.S., Park G.S., Lee Y.M. and J.S. Lee. 2014. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (*hsp*) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 65-74.
- Klaassen C.D., Liu J. and S Choudhuri. 1999. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Pharmacology and Toxicology* 39: 267-294.
- Kumari K., Khare A. and S. Dange. 2014. The applicability of oxidative stress biomarkers in assessing chromium induced toxicity in the fish *Labeo rohita*. *BioMed Research International*. 1-11.
- Lam P.K. and J.S. Gray. 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin*. 46: 182-186.
- Lee J.C., Son Y-O., Pratheeshkumar P. and X. Shi. 2012. Oxidative stress and metal carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*. 53: 742-757.
- Lima P.L., Benassi J.C., Pedrosa R.C., Dal Magro J., Oliveira T.B. and D.W. Filho. 2006. Time-course variations of DNA damage and biomarkers of oxidative stress in *Tilapia (Oreochromis niloticus)* exposed to effluents from a swine industry. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 50: 23-30.
- Linde-Arias A.R., Inácio A. F., de Albuquerque C., Freire M.M. and J.C. Moreira. 2008. Biomarkers in an invasive fish species, *Oreochromis niloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Science of the Total Environment*. 399: 186-192.

- Linde-Arias A.R., Inácio A.F., Novo L.A., de Albuquerque C. and J.C. Moreira. 2008. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraíba do Sul. *Environmental Pollution*. 156: 974-979.
- Livingstone D.R. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*. 42: 656-666.
- Lushchak V.I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. 101: 13-30.
- Lynes M.A., Kang J., Sensi S.L., Perdrizet G.A. and L.E. Hightower. 2007. Heavy metal ions in normal physiology, toxic stress, and cytoprotection. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1113: 159-172.
- Maia P.A., Velho M.A., Gonçalves F. and R. Ribeiro. 1999. Test chambers and test procedures for in situ toxicity testing with zooplakton. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18: 1956 – 1964.
- Martins C.I., Eding E. and J. Verreth. 2011. The effect of recirculating aquaculture systems on the concentrations of heavy metals in culture water and tissues of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Food Chemistry*. 126: 1001-1005.
- Masella R., Di Benedetto R., Varí R., Filesi C. and C. Giovannini C. 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16: 577-586.
- Mazari-Hiriart M., Ponce-de-León S., López-Vidal Y., Islas-Macías P., Amieva-Fernández R.I. and F. Quiñones-Falconi. 2008. Microbiological implications of periurban agriculture and water reuse in Mexico city. *PLoS ONE*. 3(5): e2305.
- Merlín-Uribe Y., Contreras-Hernández A., Astier-Calderón M., Jensen O.P., Zaragoza R. and L. Zambrano. 2013. Urban expansion into a protected natural area in Mexico City: alternative management scenarios. *Journal of Environmental Planning and Management*. 56:3, 398-411.
- Merlín-Uribe Y., González-Esquivel C.E., Contreras-Hernández A., Zambrano L., Moreno-Casasola P. and M. Astier. 2013 a. Environmental and socio-economic sustainability of chinampas (raised beds) in Xochimilco, Mexico City. *International Journal of Agricultural Sustainability*. 11: 3, 216-233.
- Monserat J.M., Martínez P.E., Geracitano L.A., Lund L., Martinez C., Lopes G., Soares I., Ferreira-Cravo M., Ventura-Lima J. and A. Bianchini. 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 146: 221-234.
- Naji A., Ismail A., Kamrani E. and T. Sohrabi. 2014. Correlation of MT levels in livers and gills with heavy metals, in wild tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from the Klang River, Malaysia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 92: 674-679.
- Nakayama S.M., Ikenaka Y., Muzandu K., Choongo K., Oroszlany B., Teraoka H., Mizuno N. and M. Ishizuka. 2010. Heavy metal accumulation in lake sediments, fish (*Oreochromis niloticus*) and *Serranochromis thumbergi*) and crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in Lake Itzhi-tezhi and Lake Kariba, Zambia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 59: 291-300.
- Nikolsky G.V. 1963. The ecology of fishes. Academic Press. New York, EUA. 352 p.

- Nzengue Y., Candéias S., Sauvaigo S., Douki T., Favier A., Rachidi W. and Guiraud P. 2011. The toxicity redox mechanisms of cadmium alone or together with copper and zinc homeostasis alteration: Its redox biomarkers. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 25: 171-180.
- Park J.D., Liu Y. and C.D. Klaassen. 2001. Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals. *Toxicology*. 163: 93-100.
- Pathiratne A., Chandrasekera L.W.H.U. and K.A.S. Pathiratne. 2009. Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, an urban water body in Sri Lanka. *Environmental Monitoring and Assessment*. 156: 361-375.
- Peakall D. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology*. 3: 157-160.
- Peña-Llopis S., Ferrando M.D. and J.B. Peña. 2003. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by *N*-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*. 65: 337-360.
- Peña-Llopis S., Peña J.B., Sancho E., Fernández-Vega C. and M.D. Ferrando. 2001. Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. *Chemosphere*. 45: 671-681.
- Piner P. and N. Üner. 2013. Oxidative stress and apoptosis was induced by bio-insecticide spinosad in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 36: 956-963.
- Pisoschi A.M. and A. Pop. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97: 55-74.
- Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A., De Tata V. and A.F. Casini. 2003. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical Pharmacology*. 66: 1499-1503.
- Porter C.M. and D.M. Janz. 2003. Treated municipal sewage discharge affects multiple levels on biological organization in fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54: 109-206.
- Qadir A. and R.N. Malik. 2011. Heavy metals in eight edible fish species from two polluted tributaries (Aik and Palkhu) of the River Chenab, Pakistan. *Biological Trace Element Research*. 143: 1524-1540.
- Ramírez M. I. 1990. Evaluación del contenido mineral (Pb, Cr, Cd, Fe, Cu) del agua lodo y fauna (*Chirostoma jordani*) de la región lacustre de Xochimilco. Tesis de grado. Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F.
- Rana S.V.S., Allen T. and R. Singh. 2002. Inevitable glutathione, then and now. *Indian Journal of Experimental Biology*. 40: 706-716
- Ray P.D., Bo-Wen H. and Y. Tsuji. 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*. 24: 981-990.
- RCW - The Ramsar Convention on Wetlands. 2007. The list of wetlands of international importance. <<http://www.ramsar.org/sitelist.pdf>>
- Recuero E., Cruzado-Cortes J., Parra-Olea G. and K. Zamudio. 2010. Urban aquatic habitats and conservation of highly endangered species: the case of *Ambystoma mexicanum* (Caudata, Ambystomatidae). *Annales Zoologici Fennici*. 47: 223-238.

- Robles-Mendoza C., García-Basilio C., Cram-Heydrich S., Hernández-Quiroz M. and C. Vanegas-Pérez. 2009. Organophosphorus pesticides effect on early stages of the axolotl *Ambystoma mexicanum* (Amphibia: Caudata). *Chemosphere*. 74: 703-707.
- Rodríguez F. 2011. Inducción de Metalotioneínas como biomarcador de exposición *in situ* a metales en *Ambystoma mexicanum*. Tesis de grado. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 86 pp.
- Roesijadi G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. 22: 81-114.
- Roméo M., Cosson R.P., Gnassia M., Risso C., Stien X. and M. Lafaurie. 1997. Metallothionein determination in the liver of the sea bass *Dicentrarchus labrax* treated with copper and B(a) P. *Marine Environmental Research*. 3: 275-284.
- Ruas C.B.G., Carvalho C.d.S., Selistre H.S., Espíndola E.L.G. and Fernandes M.N. 2008. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71: 86-93.
- Ruttkey-Nedecky B., Nejdil L., Gumulec J., Zitka O., Masarik M., Eckschlager T., Stiborova M., Adam V. and R. Kizek. 2013. The role of metallothionein in oxidative stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 6044-6066.
- Ruvalcaba A. 2009. Modelación matemática del comportamiento hidrogeológico de la zona lacustre de Xochimilco, México. Tesis de grado. Maestría en Ciencias. Posgrado en Ciencias de la Tierra. Instituto de Geofísica. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 107 pp.
- SAGARPA-CONAPESCA-INCA RURAL. 2012. Comité sistema producto tilapia de México AC. Criterios técnicos y económicos para la producción sustentable de tilapia en México. Proyecto Integral para el desarrollo de capacidades en la población rural, orientado a la aplicación de buenas prácticas de producción de tilapia de los estados de Chiapas, México, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas. México. 181 pp.
- Sandoval J. 2003. Calidad microbiológica y fisicoquímica de los canales de Xochimilco. Tesis de grado. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. 64 pp.
- Scheuhammer A.M. and M.G. Cherian. 1986. Quantification of metallothioneins by a sylvler saturation method. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 82: 417-425.
- Schieber M. and N.S. Chandel. 2014. ROS Function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*. 24: R453-R462.
- SECITI-GDF, I. Ingeniería-UNAM. 2015. Censo de aguas negras y grises de los canales de Xochimilco. Informe. Secretaría de Ciencia, Tecnología e Investigación del Gobierno del Distrito Federal, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- SECITI-GDF, PUMA-UNAM. 2014. Análisis del estado de conservación ecológica del sistema lacustre chinampero de la superficie reconocida por la UNESCO como Sitio Patrimonio de la Humanidad en Xochimilco, Tlahuac y Milpa Alta. Informe Final. Secretaría de Ciencia, Tecnología e Investigación del Gobierno del Distrito Federal, Programa Universitario del Medio Ambiente, UNAM.

- SEDEMA. 2006-2012. Xochimilco. Secretaría del Medio Ambiente. Gobierno del Distrito Federal. México D.F. México. 74 pp.
- Sfakianakis D.G., Renieri E., Kentouri M. and A.M. Tsatsakis. 2015. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. *Environmental Research*. 137: 246-255.
- Solís C., Sandoval J., Pérez-Vega H. and M. Mazari-Hiriart. 2006. Irrigation water quality in southern Mexico city base don bacterial and heavy metal analyses. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. B249: 592-595.
- Stevenson R.D. and W. Woods. 2006. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integrative and Comparative Biology*. Vol. 46.6: 1169-1190.
- Stohs S.J. and D. Bagchi. 1994. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*. 18: 321-336.
- Subotić S., Spasić S., Višnjić-Jeftić Z., Hegediš A., Krpo-Ćetković J., Mićković B., Skorić S., and Lenhardt M. 2013. Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 98: 196-202.
- Taweel A., Shuhaimi-Othman M. and A.K. Ahmad. 2013. Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Langat River and Engineering Lake in Bangai, Malaysia, and avaluation of the health risk from tilapia consumption. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 93: 45-51.
- Tenório-Daussat C.L., Martinho M.C., Zioli R.L., Hausser-Davis R.A., Schaumlöffel D. and T.D. Saint´Pierre. 2014. Evaluation and standardization of different purification procedures for fish bile and liver metallothionein quantification by spectrophotometry and SDS-PAGE analyses. *Talanta*. 120: 491-497.
- Toft G., Baatrup E. and L.J. Guillette. 2004. Altered social behavior and sexual characteristics in mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) living downstream of a paper mill. *Aquatic Toxicology*. 70: 213-222.
- Toft G., Edwards T.M., Baatrup E. and L.J. Guillette. 2003. Disturbed sexual characteristics in male mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) from a lake contaminated with endocrine disruptors. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 111. 5: 695-701.
- Tricklebank K., Kingsford M. and H. Rose. 2002. Organochloride pesticide and hexachlorobenzene along central coast of New South Wales: multiscale distributions using *Parma microlepsis* as an indicator. *Environmental Pollution*. 116: 319-335.
- UNESCO, 2003. World´s cultural heritage. Mexican cities. Fondo Editorial de la Plástica Mexicana. UNESCO, México, DF.
- Valiente E.L. 2006. Efecto de las especies introducidas en Xochimilco para la rehabilitación del hábitat del ajolote (*AMBYSTOMA MEXICANUM*). Tesis de grado. Maestría en Ciencias Biológicas. Posgrado en Ciencias Biológicas. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 94 pp.
- Valko M., Morris H. and M.T. Cronin. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*. 12: 1161-1208.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. and M. Mazur. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interactions*. 160: 1-40.

- van der Oost R., Beyer J. and N. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13: 57-149.
- Vanegas C., Zúñiga S., Ponce de León C., Cram S., Hernández M., Rosas I. (Eds). 2015. Manual de "Procedimientos para la evaluación de efectos toxicológicos: métodos bioquímicos para la evaluación de la exposición y efecto de contaminantes. Serie 1". PAPIME– DGAPA (PE206210). ISBN No. 978-607-02-6391-0.
- Vasconcelos R.P., Reis-Santos P., Fonseca V., Ruano M., Tanner S., Costa M.J. and H.N. Cabral. 2009. Juvenile fish condition in estuarine nurseries along the Portuguese coast. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 82: 128-138.
- Wiersma G, ed. 2004. *Environmental Monitoring*. CRC Press LLC. United States of America. 767 pp.
- Yilmaz A.B., Sangun M.K., Yaglioglu D. and C. Turan. 2010. Metals (major, essential to non-essential) composition of the different tissues of three demersal fish species from Iskenderun Bay, Turkey. *Food Chemistry*. 123: 410-415.
- Zambrano L., Contreras V., Mazari-Hiriart M. and Zarco-Arista A. 2009. Spatial heterogeneity of water quality in a highly degraded tropical freshwater ecosystem. *Environmental Management*. 43: 249-263.
- Zambrano L., Reynoso V.H. and G. Herrera. 2003. Abundancia y estructura poblacional del axolotl (*Ambystoma mexicanum*) en los sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. AS004. México D.F.
- Zeng J., Yang L., Wang X., Wang W-X. and Q.L. Wu. 2012. Metal accumulation in fish from different zones of a large, shallow freshwater lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 86: 116-124.
- Zhang J.F., Liu H., Sun Y.Y., Wang X.R., Wu J.C. and Y.Q. Xue. 2005. Responses of the antioxidant defenses of the *Goldfish Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 19: 185-190.

11. ANEXOS

11.1. Determinación de la concentración hepática de Metalotioneínas en *O. niloticus*

11.1.1. Curva patrón de Ag ($\mu\text{g Ag/ml}$)

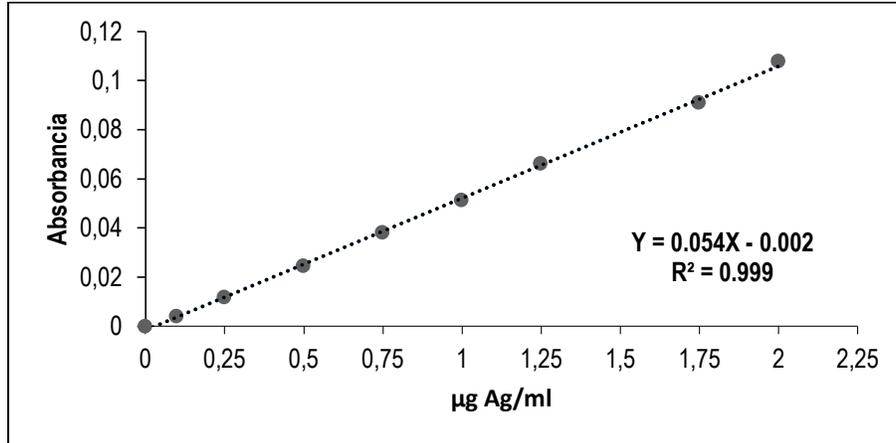


Fig. 1. Curva patrón de Ag ($\mu\text{g/ml}$) utilizada para determinar las concentraciones del metal enlazado a las metalotioneínas hepáticas en *O. niloticus*, provenientes de los sitios de estudio.

11.1.2. Curva Patrón de Metalotioneínas ($\mu\text{g MT/ml}$)

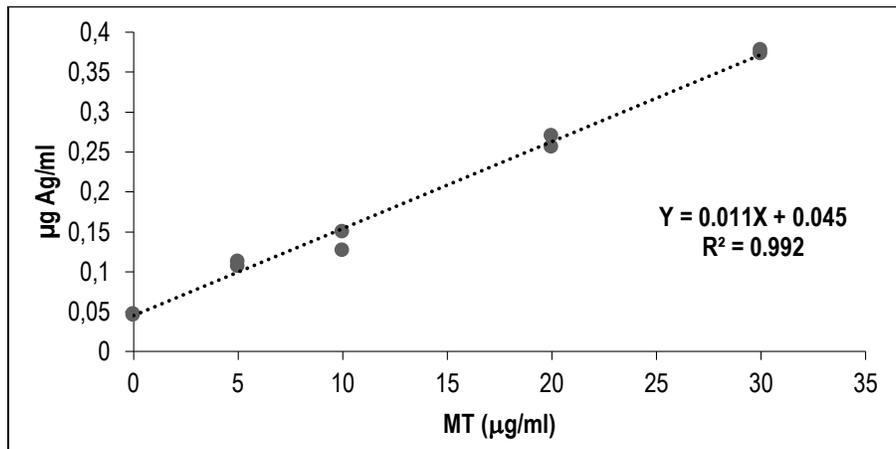


Fig. 2a. Curva patrón de Metalotioneínas ($\mu\text{g MT/ml}$ vs $\mu\text{g Ag/ml}$) utilizada para el análisis hepático de los ejemplares provenientes del Bordo.

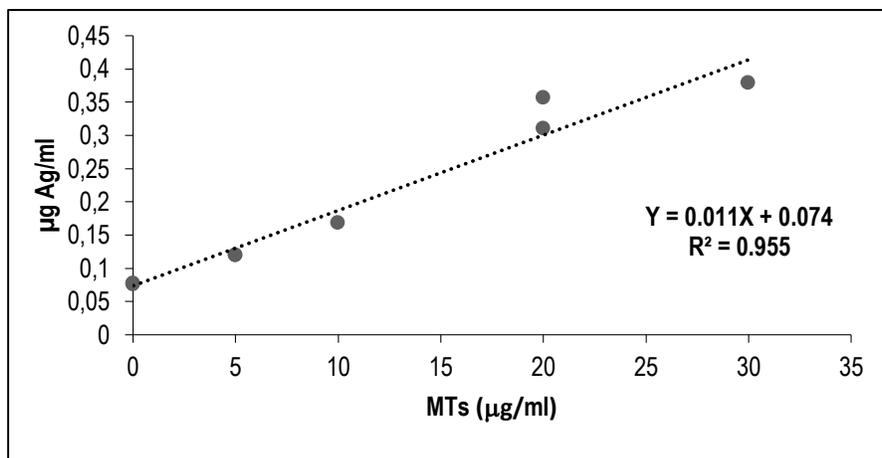


Fig. 2b. Curva patrón de Metalotioneínas ($\mu\text{g MT/ml}$ vs $\mu\text{g Ag/ml}$) utilizada para el análisis hepático de los ejemplares provenientes de Apampilco.

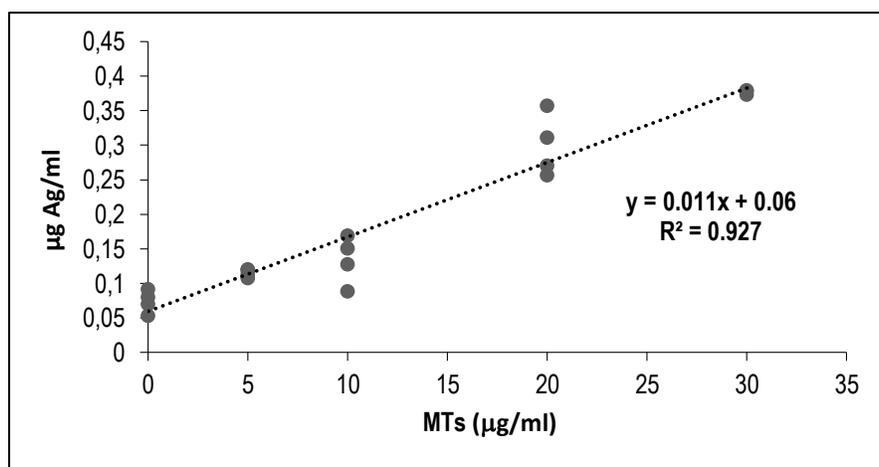


Fig. 2c. Curva patrón integrada de Metalotioneínas ($\mu\text{g MT/ml}$ vs $\mu\text{g Ag/ml}$) utilizada para el análisis hepático de los ejemplares provenientes de Apatlaco, La Draga, San Diego y L. Asunción.

11.2. Análisis de Componentes Principales (ACP)

Tabla 1. Contribución de los “eigenvalores” de los factores que agrupan las variables analizadas. Se incluyen los “eigenvalores” de la matriz de correlación y los estadígrafos relacionados.

Eigenvalores de la correlación de matrices				
Factor	Eigenvalor	% varianza total	Eigenvalor acumulado	% Acumulado
1	3.56	32.39	3.56	32.39
2	2.70	24.52	6.26	56.91
3	1.57	14.26	7.83	71.17
4	1.44	13.05	9.26	84.21
5	0.96	8.72	10.22	92.93
6	0.41	3.75	10.64	96.68
7	0.33	2.98	10.96	99.66
8	0.04	0.34	11	100
9	0	0	11	100
10	0	0	11	100

Tabla 2. Contribución de cada variable analizada de acuerdo a cada factor. Se resalta en amarillo las variables de mayor contribución en cada factor.

Contribución de variables, basadas sobre las correlaciones										
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8	Factor 9	Factor 10
MTgPH	0.004	0.205	0.054	0.016	0.049	0.667	0.003	0.001	0.000	0.000
GT	0.116	0.064	0.206	0.055	0.009	0.002	0.005	0.001	0.000	0.000
GSSG	0.040	0.188	0.088	0.130	0.007	0.008	0.000	0.424	0.000	0.000
GSH	0.097	0.005	0.158	0.252	0.029	0.000	0.007	0.109	0.000	0.000
GSH/GSSG	0.002	0.180	0.013	0.312	0.019	0.003	0.009	0.462	0.000	0.000
IF	0.021	0.064	0.063	0.005	0.562	0.155	0.130	0.000	0.000	0.000
IH	0.003	0.162	0.086	0.140	0.008	0.151	0.448	0.001	0.000	0.000
MTIMT	0.237	0.011	0.067	0.010	0.005	0.000	0.004	0.000	0.188	0.478
MPIMT	0.006	0.101	0.124	0.064	0.302	0.014	0.388	0.001	0.000	0.001
MPIEO	0.238	0.009	0.073	0.008	0.003	0.000	0.002	0.000	0.147	0.521
MTIEO	0.237	0.011	0.068	0.010	0.005	0.000	0.004	0.000	0.665	0.001

Tabla 3. Matriz de correlaciones de las variables analizadas.

Correlaciones											
	MTgPH	GT	GSSG	GSH	GSH/GSSG	IF	IH	MTIMT	MPIMT	MPIEO	MTIEO
MTgPH	1.00	0.11	0.26	-0.01	-0.32	0.44	0.54*	-0.15	-0.38	-0.13	-0.14
GT	0.11	1.00	0.63*	0.89*	-0.22	-0.12	0.11	0.31	-0.11	0.31	0.31
GSSG	0.26	0.63*	1.00	0.21	-0.87*	0.07	0.12	0.15	-0.18	0.15	0.15
GSH	-0.01	0.89*	0.21	1.00	0.22	-0.19	0.07	0.30	-0.03	0.30	0.30
GSH/GSSG	-0.32	-0.22	-0.87*	0.22	1.00	-0.18	-0.14	0.02	0.17	0.01	0.02
IF	0.44	-0.12	0.07	-0.19	-0.18	1.00	0.30	-0.17	0.01	-0.17	-0.17
IH	0.54*	0.11	0.12	0.07	-0.14	0.30	1.00	-0.14	-0.56*	-0.12	-0.14
MTIMT	-0.15	0.31	0.15	0.30	0.02	-0.17	-0.14	1.00	-0.10	1.00*	1.00*
MPIMT	-0.38	-0.11	-0.18	-0.03	0.17	0.01	-0.56*	-0.10	1.00	-0.13	-0.10
MPIEO	-0.13	0.31	0.15	0.30	0.01	-0.17	-0.12	1.00*	-0.13	1.00	1.00*
MTIEO	-0.14	0.30	0.15	0.30	0.02	-0.17	-0.14	1.00*	-0.10	1.00*	1.00

* p < 0.05

11.3. Tablas comparativas

Tabla 1. Tabla comparativa de la concentración hepática de metales en diferentes especies de peces dulceacuícolas.

Especie	Tipo de estudio	Exposición/ metal	Concentración hepática	Efectos	Autor
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Laboratorio Expuestos a Níquel	5.0 mg/L	40 µmol/Kg PH	Estrés oxidante. Incremento CAT	Blewett y Wood, 2015
		10 mg/L	110 µmol/Kg PH		
		20 mg/L	430 µmol/Kg PH		
<i>Labeo rohita</i>	Laboratorio Expuestos a 48.3 ppm de K ₂ Cr ₂ O ₇ (8.16 ppm Cu) por 15 d	96 h	4.56 µg/g PH	Incremento en IH Reducción en IC Incremento SOD, CAT y GR	Kumari et al., 2014
		15 d	100.80 µg/g PH		
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Expuestos 14 d	0 µM Cu	169.2 µg/g PS	Incremento GSH por efecto Cd, Zn y Cu Inducción MTs sólo por exposición al Cd	Atli y Canli, 2008
		0 µM Zn	138.8 µg/g PS		
		0 µM Cd	<0.001 µg/g PS		
		0 µM Pb	<0.02 µg/g PS		
		5.0 µM Cu	224.2 µg/g PS		
		5.0 µM Zn	204.5 µg/g PS		
		5.0 µM Cd	27.7 µg/g PS		
		5.0 µM Pb	<0.02 µg/g PS		
		10 µM Cu	233.6 µg/g PS		
		10 µM Zn	170.5 µg/g PS		
		10 µM Cd	64.8 µg/g PS		
		10 µM Pb	14.3 µg/g PS		
		20 µM Cu	295.3 µg/g PS		
		20 µM Zn	253.8 µg/g PS		
20 µM Cd	81.9 µg/g PS				
20 µM Pb	10.2 µg/g PS				
<i>Oreochromis mossambicus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades agrícolas, urbanas e industriales	Cd	0.6-2.6 µg/g PH	Mayor inducción de MTs en los sitios más contaminados. Correlación entre acumulación hepática de metales y MTs.	Naji et al., 2014
		Zn	16-52 µg/g PH		
		Cu	0.5-17 µg/g PH		
		Hg	2-67 ng/g PH		
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades urbanas e	Cu	671.2-809.3 µg/g PS		Taweel et al., 2013
		Cd	0.16-1.71 µg/g PS		
		Zn	61.6-79.1 µg/g PS		

	industriales	Pb	1.1-5.4 µg/g PS		
		Ni	17.8-22.6 µg/g PS		
<i>Channa punctata</i> (Cp), <i>Mystus cavasius</i> (Mc), <i>Wallago attu</i> (Wa)	In situ Impacto de actividades urbanas e industriales	Pb	Cp (9.31-16.92) µg/g PH Mc (6.10-10.87) µg/g PH Wa (16-18.73) µg/g PH	En <i>C. punctata</i> y <i>M. cavasius</i> alteraciones tisulares externas en aletas En <i>W. attu</i> cambios en coloración piel dependiendo el grado de contaminación del sitio.	Qadir y Malik, 2011
		Cd	Cp (3.50-4.69) µg/g PH Mc (5.43-13.17) µg/g PH Wa (3.63-5.58) µg/g PH		
		Cr	Cp (5.24-9.69) µg/g PH Mc (4.69-13.59) µg/g PH Wa (13.69-25.71) µg/g PH		
		Cu	Cp (4.01-5.95) µg/g PH Mc (3.83-6.25) µg/g PH Wa (0.94-2.67) µg/g PH		
<i>Carassius carassius</i>	In situ Impacto de actividades forestales y urbanas	Sitio 1, Cu	2.5-8.5 µg/g PH	Incremento de MTs y GSH en hígado Diferencia entre sitios en la actividad de EROD, GST, Vtg-LP y ChE	Falfushynska et al., 2010
		Sitio 1, Zn	17-60 µg/g PH		
		Sitio 1, Cd	0.8-1.3 µg/g PH		
		Sitio 2, Cu	5.5-9.0 µg/g PH		
		Sitio 2, Zn	31-67 µg/g PH		
<i>Oreochromis niloticus</i>	In situ Impacto de actividades agrícolas y urbanas	Fe	335.27 - 1296.32 µg/g PH	La razón GSH/GSSG sugiere que todos los organismos están sujetos a un severo estrés oxidante No hubo una correlación entre la bioacumulación de metales y la expresión de biomarcadores de exposición y efecto de metales. Variabilidad en las concentraciones de MTs.	Presente estudio
		Cu	4.45 - 34.39 µg/g PH		
		Zn	14.92-20.92 µg/g PH		
		Cr	0.05-0.42 µg/g PH		
		Cd	0.01-0.02 µg/g PH		
		Pb	0.11-0.23 µg/g PH		
As	0.05-0.07 µg/g PH				

Tabla 2. Tabla comparativa de niveles hepáticos del sistema glutatión (GSH-T, GSH, GSSG, GSH/GSSG) en diferentes especies de peces dulceacuícolas.

Especie	Tipo de estudio	Exposición/ metal	Concentración hepática				Autor
			GSH-T	GSH	GSSG	GSH/ GSSG	
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Expuestas a 1.0 µg/mL de Cu, Cd, Cr, Pb, Zn durante 1, 7 y 14 d	Control	1.4-2.2 µmol/mg PST/min	0.6-0.8 µmol/mg PST/min	0.7-1.3 µmol/mg PST/min	1.0	Eroglu et al., 2014
		Cu	2.3 µmol/mg PST/min	1.4 µmol/mg PST/min	1.1 µmol/mg PST/min	1.0	
		Cd	0.3-3.0 µmol/mg PST/min	0.5-2.5 µmol/mg PST/min	0.5-0.8 µmol/mg PST/min	0.5-1.5	
		Cr	0.7-1.8 µmol/mg PST/min	1.0-1.5 µmol/mg PST/min	0.8 µmol/mg PST/min	1.0-19	
		Pb	0.6-1.9 µmol/mg PST/min	0.9-1.4 µmol/mg PST/min	0.4-1.1 µmol/mg PST/min	0.8	
		Zn	1.5-1.7 µmol/mg PST/min	1.0-1.2 µmol/mg PST/min	0.7-1.0 µmol/mg PST/min	1.0	
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Expuestas a 10 µM de Cu (CuCl ₂ •2H ₂ O) y Cr (K ₂ Cr ₂ O ₇) durante 6 d	Control		0.14 µmol/ mg PST			Kanak et al., 2014
		Cu		0.16 µmol/mg PST			
		Cr		0.15 µmol/mg PST			
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Expuestas a 5.0 y 10 µM de Cu, Zn, Cd, Pb por 14 d	0		4.7 nmol/mg PST			Atli y Canli, 2008
		5.0 µM Cu		5.8 nmol/mg PST			
		5.0 µM Zn		6.5 nmol/mg PST			
		5.0 µM Cd		5.9 nmol/mg PST			
		5.0 µM Pb		6.0 nmol/mg PST			
		10 µM Cu		6.0 nmol/mg PST			
		10 µM Zn		5.8 nmol/mg PST			
		10 µM Cd		5.5 nmol/mg PST			
		10 µM Pb		5.7 nmol/mg PST			
		20 µM Cu		5.3 nmol/mg PST			
		20 µM Zn		6.3 nmol/mg PST			
		20 µM Cd		6.5 nmol/mg PST			

		20 µM Pb		5.4 nmol/mg PST			
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Exposición de 60 y 90 d de aguas de lagunas de planta de tratamiento: laguna anaeróbica (LAn) y aeróbica (LAe)	Control	1.2 µmol/g PH	1.7 µmol/g PH	0.05 µmol/g PH		Lima et al, 2006
		60 d LAn	2.1 µmol/g PH	1.8 µmol/g PH	0.35 µmol/g PH		
		90 d LAn	2.9 µmol/g PH	2.0 µmol/g PH	0.80 µmol/g PH		
		Control	1.2 µmol/g PH	1.7 µmol/g PH	0.05 µmol/g PH		
		60 d LAe	3.0 µmol/g PH	2.2 µmol/g PH	0.80 µmol/g PH		
		90 d LAe	2.7 µmol/g PH	2.3 µmol/g PH	0.40 µmol/g PH		
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Transplante durante 7 d Impacto de actividades industriales y agrícolas	Referencia (no transplantados)	3.5 µmol/g PH		13 nmol/g PH	340	Franco et al., 2010
		Sitio 1	2.7 µmol/g PH		20 nmol/g PH	150	
		Sitio 2	1.7 µmol/g PH		8.0 nmol/g PH	200	
<i>Carassius carassius</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades forestales y urbanas	Sitio 1		5.0-12 µmol/g PH	0.25-0.5 µmol/g PH		Falfushynska et al., 2010
		Sitio 2		10-13 µmol/g PH	0.25-2.0 µmol/g PH		
<i>Cyprinus carpio</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades rurales, industriales y urbanas	Sitio Rural		1.0-2.4 µmol/g PH	1.4-1.8 µmol/g PH		Falfushynska y Stolyar, 2009
		Sitio Industrial		2.5-3.5 µmol/g PH	3.2-4.3 µmol/g PH		
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades agrícolas y urbanas	Bordo	2.22 µmol/g PH	1.68 µmol/g PH	0.54 µmol/g PH	3.35	Presente estudio
		Apampilco	2.45 µmol/g PH	1.88 µmol/g PH	0.57 µmol/g PH	3.48	
		Apatlaco	2.36 µmol/g PH	1.86 µmol/g PH	0.50 µmol/g PH	4.34	
		La Draga	2.0 µmol/g PH	1.43 µmol/g PH	0.57 µmol/g PH	2.70	
		San Diego	2.02 µmol/g PH	1.66 µmol/g PH	0.36 µmol/g PH	4.90	
		L. Asunción	2.26 µmol/g PH	1.86 µmol/g PH	0.41 µmol/g PH	4.85	

Tabla 3. Tabla comparativa de la concentración hepática de metalotioneínas en diferentes especies de peces dulceacuícolas.

Especie	Tipo de estudio	Exposición/ metal	Concentración hepática	Autor
<i>Oreochromis niloticus</i>	Laboratorio Expuestas a Cu, Zn, Cd, Pb por 14 d	0	3.0 µg MT/mg PST	Atli y Canli, 2008
		5.0 µM Cu	5.5 µg MT/mg PST	
		5.0 µM Zn	1.0 µg MT/mg PST	
		5.0 µM Cd	4.3 µg MT/mg PST	
		5.0 µM Pb	3.2 µg MT/mg PST	
		10 µM Cu	4.7 µg MT/mg PST	
		10 µM Zn	1.5 µg MT/mg PST	
		10 µM Cd	4.3 µg MT/mg PST	
		10 µM Pb	2.8 µg MT/mg PST	
		20 µM Cu	2.5 µg MT/mg PST	
		20 µM Zn	3.0 µg MT/mg PST	
		20 µM Cd	5.0 µg MT/mg PST	
		20 µM Pb	3.3 µg MT/mg PST	
<i>Oreochromis mossambicus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades agrícolas, urbanas, industriales	Sitio referencia (área rural)	79.5 µg MT/g PH	Naji et al., 2014
		Sitio 1	130 µg MT/g PH	
		Sitio 2	201 µg MT/g PH	
		Sitio 3	213 µg MT/g PH	
		Sitio 4	229 µg MT/g PH	
		Sitio 5	274 µg MT/g PH	
<i>Carassius carassius</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades forestales y urbanas	Sitio 1	30-390 nmol MT/g PH	Falfushynska et al., 2010
		Sitio 2	50-490 nmol MT/g PH	
<i>Cyprinus carpio</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades rurales, industriales y urbanas	Sitio Rural	35-80 µgMT/g PH	Falfushynska y Stolyar, 2009
		Sitio Industrial	35-440 µgMT/g PH	
<i>Geophagus brasiliensis</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades urbanas, industriales y agrícolas	Sitio 1	47 µgMT/g PH	Linde-Arias et al., 2008
		Sitio 2	50 µgMT/g PH	
		Sitio 3	37 µgMT/g PH	

		Sitio 4	32 µgMT/g PH	
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades industriales, urbanas y agrícolas	Periodo secas		Pathiratne et al., 2009.
		Control (laboratorio)	50 µgMT/g PH	
		Sitio 1	130 µgMT/g PH	
		Sitio 2	100 µgMT/g PH	
		Sitio 3	120 µgMT/g PH	
		Periodo lluvias		
		Control (laboratorio)	40 µgMT/g PH	
		Sitio de referencia	40-50 µgMT/g PH	
		Sitio 1	100-110 µgMT/g PH	
		Sitio 2	80 µgMT/g PH	
		Sitio 3	90 µgMT/g PH	
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades urbanas, industriales y agrícolas	Sitio 1	140 µgMT/g PH	Linde-Arias et al., 2008
		Sitio 2	175 µgMT/g PH	
		Sitio 3	110 µgMT/g PH	
		Sitio 4	100 µgMT/g PH	
<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>In situ</i> Impacto de actividades agrícolas y urbanas	Bordo	29 µgMT/g PH	Presente estudio
		Apampilco	31.84 µgMT/g PH	
		Apatlaco	57.05 µgMT/g PH	
		La Draga	21.73 µgMT/g PH	
		San Diego	5.16 µgMT/g PH	
		L. Asunción	12.40 µgMT/g PH	

