



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto reprotóxico de una muestra ambiental
externa a “Cromatos de México” en *Drosophila
melanogaster*.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

Juan Alfredo Gabriel Vázquez



TUTORA:
Dra. Patricia Ramos Morales

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2019



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
Gabriel
Vázquez
Juan Alfredo
5547951413
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
30409268-6
2. Datos del tutor
Dra.
Ramos
Morales
Patricia
3. Datos de sinodal 1
Dra.
Ramos
Bello
Rosalía
4. Datos del sinodal 2
Dra.
Salcedo
Sacanelles
Rocio
5. Datos del sinodal 3
Dra.
Montero
Montoya
Regina Dorinda
6. Datos del sinodal 4
Biól.
Hernández
Bernal
Blanca Rosa
7. Datos del trabajo escrito
Efecto reprotóxico de una muestra
ambiental externa a "Cromatos de
México" en *Drosophila*
melanogaster.
75 pp.
2019

Agradecimientos

Agradezco a todo el personal del Laboratorio de Toxicología Genética y al Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias, UNAM por todas las aportaciones tanto materiales así como por todo el apoyo moral que recibí para la elaboración de esta tesis.

Muchas gracias a la Dra. Pati Ramos por el constante apoyo, empuje y comprensión de las dificultades que se presentaron para la conclusión de esta parte importante en mi vida profesional.

De igual forma agradezco a cada uno de los sinodales ya que permitieron el enriquecimiento del escrito y análisis de la tesis.

A amigos del laboratorio y compañeros de la carrera, muchas gracias porque a pesar de no coincidir por nuestras actividades, la convivencia continua siendo la misma solo que con unos años más.

En especial quiero agradecer a mis familiares, principalmente a mi mamá por siempre apoyarme en cada uno de los proyectos que se me han presentado a lo largo de los años y a mi pareja Kritzia por ser la persona en quien confío y obtengo la motivación, la guía, el apoyo y el amor para continuar en este camino de la vida y sabiendo que vale la pena seguir luchando.

RESUMEN

La Fábrica de Cromatos de México, Tultitlán Edo. México se clausuró en 1978 debido a los graves daños a la salud en los trabajadores y habitantes de la zona ocasionados por los residuos que contenían cromo VI. Tales desechos fueron confinados en una estructura de concreto inadecuada, posteriormente fueron transportados a un contenedor de residuos peligrosos en Nuevo León. Los residuos externos a la zona confinada son poco tóxicos, pero inducen pérdida de cromosomas sexuales en células germinales y mutación y recombinación somática en células de las alas de *Drosophila melanogaster*. El objetivo del presente trabajo fue determinar si el contenido de las muestras de suelo externo a Cromatos de México afecta la capacidad reproductiva en *Drosophila melanogaster* por lo que fue necesario recolectar 12 muestras de suelo superficial de Cromatos de México en un transecto de 144 m, posteriormente se mezclaron para homogenizar el contenido. La muestra de suelo homogénea a probar se hidrató hasta anegar por 3 h y el filtrado se consideró como la solución al 100%. Se prepararon 14 disoluciones sucesivas adicionales (tratamientos) utilizando agua destilada como disolvente y testigo negativo. Se colocaron larvas silvestres de 72 ± 4 horas en tubos homeopáticos de vidrio con 1g de medio instantáneo e hidratados con 4.5 ml para cada disolución. Se realizó un total de 8 repeticiones por cada concentración. Para evaluar el efecto reprotóxico se realizaron las siguientes cruza: hembras no tratadas vs machos tratados, hembras tratadas vs machos no tratados y hembras tratadas vs machos tratados. No se obtuvieron diferencias significativas en la sobrevivencia (IS) ni en la proporción sexual (P_{sx}). Se observaron respuestas no lineares en la sobrevivencia, Fertilidad (FE) y Progenie Promedio por Familia (PPF) lo que muestra un efecto de los componentes del suelo de Cromatos de México (principalmente el cromo VI) en *Drosophila melanogaster*. La PPF obtenida al tratar solo a los machos fue mayor en concentraciones bajas; en hembras tratadas resultaron valores menores al lote testigo presentando diferencias significativas en las concentraciones más altas; cuando ambos progenitores fueron tratados se recobró en general más progenie y solo se obtuvo diferencias significativas en una concentración (3.13). Los contenidos presentes en la muestra de suelo de Cromatos, tales como Cromo VI, pueden generar un efecto reprotóxico en las poblaciones humanas en las áreas cercanas por lo que es necesario dar continuidad al estudio del área y en las generaciones posteriores.

ÍNDICE

1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. Toxicidad y toxicología.....	1
1.2. Cromo.....	1
1.3. Usos del Cromo	2
1.4. Fuentes de Exposición del cromo	3
1.5. Estados de oxidación y especies acuosas del cromo	4
1.6. Absorción del cromo	5
1.7. Reducción del cromo VI	5
1.8. Importancia del cromo III en el metabolismo	6
1.9. Toxicidad del cromo y efectos en la reproducción y el desarrollo	7
1.9.1. Cromo 0	7
1.9.2. Cromo III	8
1.9.3. Cromo VI.....	8
1.10. Límites máximos permisibles de cromo VI.....	11
2. ZONA DE ESTUDIO: CROMATOS DE MÉXICO	12
2.1. Características específicas de la zona de estudio	12
2.2. Condiciones actuales de la zona	14
2.3. Características del suelo de Cromatos de México	15
3. MODELO BIOLÓGICO DE ESTUDIO: <i>Drosophila melanogaster</i>	16
3.1. Ciclo de vida	16
3.1.1. Huevo	17
3.1.2. Larva	17
3.1.3. Pupa.....	18
3.1.4. Adulto.....	19
3.2. Morfología del adulto	19
3.2.1. Tórax.....	19

3.2.2.	Abdomen	19
3.3.	Desarrollo embrionario de <i>D. melanogaster</i>	20
3.3.1.	Formación de ejes	20
3.3.2.	Gastrulación	20
3.4.	Morfología y desarrollo del testículo.....	21
3.5.	Espermatogénesis en <i>D. melanogaster</i>	22
3.6.	Importancia del espermatozoide en la actividad reproductiva de la hembra	23
3.7.	Determinación Sexual en <i>Drosophila</i>	24
3.8.	Proteínas de estrés	24
3.9.	Desintoxicación	25
3.10.	Disruptores endocrinos	26
4.	JUSTIFICACIÓN	27
5.	HIPÓTESIS	27
6.	OBJETIVOS	28
6.1.	Objetivo general.....	28
6.2.	Objetivos particulares.....	28
7.	MATERIALES Y MÉTODOS	29
7.1.	Obtención de la muestra de suelo de Cromatos de México	29
7.2.	Análisis de cromo total y cromo hexavalente.....	30
7.3.	Modelo biológico utilizado y cepa	30
7.4.	Procedimiento experimental	30
7.5.	Disoluciones y tratamiento	30
7.6.	Sobrevivencia e Índice de Supervivencia.....	31
7.7.	Proporción Sexual	31
7.8.	Tipos de cruces realizados para evaluar el efecto reprotóxico	31
7.9.	Fertilidad y Fertilidad corregida.....	32
7.10.	Progenie Promedio por Familia (PPF) y Progenie Promedio por Familia Corregida.....	32
7.11.	Estimación del Estado Físico y la Capacidad Reproductiva.....	32
7.12.	Análisis estadístico	32

8. RESULTADOS	34
8.1. Concentraciones de cromo en la muestra de suelo	34
8.2. Supervivencia (S).....	36
8.3. Proporción de sexos (PSx).....	37
8.4. Progenie resultante de las cruzas sometidas a tratamiento	38
8.5. Fertilidad Corregida	41
8.6. Progenie Promedio por Familia Corregida	42
8.7. Progenie resultante por familia	43
8.8. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras No Tratadas vs Machos Tratados	44
8.9. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras Tratadas vs Machos No Tratados	45
8.10. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras Tratadas vs Machos Tratados	46
8.11. Estimación del Estado Físico y la Capacidad Reproductiva.....	47
9. DISCUSIÓN	48
9.1. Efecto de los tratamientos en la Supervivencia	48
9.2. Proporción Sexual	49
9.3. Efecto del tratamiento en la progenie.....	49
9.4. Fertilidad y Progenie Promedio por Familia	50
10. CONCLUSIONES	54
11. ANEXOS	56
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y ELECTRÓNICAS	68

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Toxicidad y toxicología

La toxicidad es la propiedad de una o varias sustancias de provocar efectos adversos en la salud de los seres vivos o en los ecosistemas (NOM-052-SEMARNAT-2005).

La toxicología es la ciencia que estudia los mecanismos, síntomas, detección, tratamientos y medios para contrarrestar las alteraciones de los tóxicos, especialmente los que afectan a los seres humanos, además de estudiar los orígenes y usos que dependen en gran parte de sus cualidades nocivas. Un tóxico es cualquier agente químico, físico y aún biológico con capacidad de alterar los equilibrios dinámicos en los seres vivos que al penetrar o ser absorbido a una dosis suficientemente alta, o tras generarse internamente, puede causar un efecto nocivo. Cuando se genera externamente o no forma parte de la composición del organismo, se conoce como xenobiótico (Guitart, 2008; Lodola y Stadler, 2011; Repetto y Repetto, 2009).

1.2. Cromo

El cromo conforma el 0.01% de la corteza terrestre, ocupando el sexto lugar en abundancia. Este elemento forma parte de rocas, polvo y gas volcánico, además de ser un elemento esencial para los seres vivos. En forma natural se encuentra principalmente en el estado de valencia III, sin embargo, los estados de valencia 0 y VI son generados industrialmente (Agencia de Protección Ambiental, 2000; Cuamatzi y Melo, 2007). El mineral principal que contiene al cromo es la Cromita (FeCr_2O_4) que resulta de su combinación con hierro y oxígeno (Lepora, 2006).

El cromo fue descubierto en el mineral Crocoita por Johann Gottlieb Lehmann en 1761 (Fig. 1), sin embargo, fue hasta 1797 cuando Nicolas-Louis Vauquelin mostró que se trataba de un elemento metálico nuevo (Lepora, 2006). Su nombre proviene del griego "*chromos*" que significa "color" debido a los vivos colores que presentan los compuestos que lo contienen (Albert, 1997).

El cromo es un elemento de la primera serie de transición (VI-B), metal duro, blanco-plateado con un punto de fusión de 1890°C , una densidad de 7140 kg/m^3 y con número Cas: 7440-74-3. La solubilidad del cromo es de acuerdo a su estado de oxidación y en el compuesto que lo forme. En la mayoría de los compuestos de cromo III son insolubles en agua, por su parte el ácido crómico es ligeramente soluble. En algunos compuestos de cromo VI, tales como el ácido crómico son solubles en agua. El cromo 0 no es soluble en agua, es soluble en ácido clorhídrico y sulfúrico. Es reactivo a temperaturas altas

combinándose con oxígeno, halógenos y otros elementos no metálicos (Sharpe, 1996; Jiménez, 2002; Cespón, 2007).



Fig. 1. Cristales unidos de crocoita (Lepora, 2006).

1.3. Usos del Cromo

El cromo tiene diversos usos que van de acuerdo con las características de los distintos compuestos que forma, tales como el cromo VI y los dicromatos que se utilizan a nivel industrial como agentes antioxidantes para recubrir y proteger el acero en el cromado de piezas de automóvil y equipos eléctricos. Entre otras aplicaciones en las que se utiliza el cromo se encuentran: la conservación de la madera (dicromato de cobre), la fabricación de vidrios, la manufactura de colorantes y pigmentos (óxidos de cromo III y cromato de plomo), el proceso de curtido (hidroxisulfato de cromo), el estampado de telas, como fungicida, como fertilizante, en el combustible fósil, en barrenas para la extracción de petróleo, en aleaciones con cobre, titanio, niobio, cobalto y cobre, entre otros. La materia prima es la cromita (FeCr_2O_4) obtenida de las minas subterráneas o a cielo abierto, la cual se reduce con carbón en la producción de ferrocromo. Las partículas de polvo de cromo se dispersan por el aire y viajan grandes distancias para ser depositadas en el suelo y en cuerpos de agua donde una parte forma sedimentos y otra más es disuelta. Los principales productores de cromo a nivel mundial son Rusia, Sudáfrica, Albania y Zimbawe, mientras que en América Latina el principal productor es Brasil seguido de Cuba. Para el caso de México el cromo es importado de dichos países (Sharpe, 1996; Albert, 1997; Agencia de Protección Ambiental, 2000; Rico, 2001; Cespón 2007).

1.4. Fuentes de Exposición del cromo

De manera natural, las fuentes de cromo provienen del aire (por fenómenos como los incendios forestales), el agua potable y los alimentos (las cadenas tróficas), la descomposición de la materia orgánica, entre otras. Sin embargo, dichas concentraciones son bajas, a nivel atmosférico en zonas remotas el cromo se encuentra en un rango de 0.005 a 2.6 ng/m³, en zonas rurales la concentración es menor a los 10 ng/m³ y hasta 30 ng/m³ en zonas urbanas, empero algunas actividades antropogénicas han sobrepasado la concentración de 500 ng/m³. En cuanto al agua, se ha encontrado en concentraciones menores a 2 µg/L (2 ppb) cuando es potable y 5 µg/L en lagos, no obstante, los países industrializados como los Estados Unidos llegan a los 30 µg/L y específicamente en sitios de descargas de curtidoras alcanza los 40 mg/L (Albert, 1997; Santonen *et al.*, 2009).

Las mayores cantidades de cromo que entran al ambiente, en sus valencias III y VI, provienen principalmente de las actividades antropogénicas, principalmente actividades industriales como: producción de acero y químicos, quema de combustibles, en el recubrimiento de torres de enfriamiento, en el polvo de cemento, en rellenos sanitarios, en confinamientos industriales que resguardan desechos con cromo, en los efluentes de industrias de cromado, curtido y textiles; en menor medida existen otras fuentes como el desgaste de los convertidores catalíticos y de las balatas de los frenos de automóviles, así como el humo del tabaco. En general, el destino de los efluentes industriales con cromo son los cuerpos de agua, alcanzando mantos freáticos, ríos, lagos, lagunas y el océano. El estado de valencia con el que llegue el cromo depende de la presencia de materia orgánica con la que pueda reaccionar, así entre mayor cantidad de materia orgánica exista, más fácilmente podrá ser reducido de cromo VI a cromo III y entonces ser adsorbido por componentes del suelo como el hierro, óxidos de manganeso, minerales de arcilla y arena. En caso de no ser así, se formarán largos complejos polinucleares de cromo (Fig. 2), los cuales son cadenas moleculares con varios iones de cromo centrales que se unen por ligandos de otros iones como el hidróxido para formar puentes, volviendo al cromo sumamente insoluble. En consecuencia, estos complejos sedimentan en las profundidades de los cuerpos de agua (Albert, 1997; Gray y Gilbert, 2003; Santonen *et al.*, 2009).

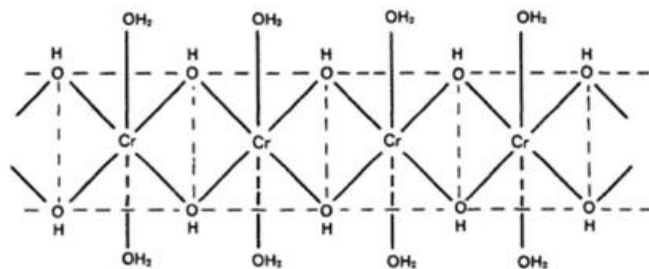


Fig. 2. Complejo polinuclear que contiene iones Cr III unido por puentes de iones de hidróxido (Gray y Gilbert, 2003).

1.5. Estados de oxidación y especies acuosas del cromo

El cromo forma parte de diversos compuestos de acuerdo con sus estados de oxidación entre los que se encuentran: las valencias -2 y 2 los cuales son los estados básicos o cromosos y son los menos importantes biológicamente; la valencia 0 (metálico) o estado inerte; la valencia III o anfótero (crómico) y el estado de valencia VI o ácido (cromato y dicromato). Los más utilizados son: el cromo III por su gran estabilidad, entre los que destacan el óxido crómico y el sulfato básico de cromo; el cromo VI por sus propiedades ácidas y oxidantes, entre los más importantes están el dicromato sódico, el dicromato potásico y el trióxido de cromo.

El cromo III es el estado termodinámicamente más estable (Cespón, 2007; Santonen *et al*, 2009). Las especies de cromo III presentes en soluciones acuosas también dependen del pH y de Eh. Para valores de pH menores a 3 se presenta como ion, mientras que en valores mayores a 3.5 da lugar a los hidróxidos como Cr^{3+} , CrOH^{2+} , $\text{Cr}(\text{OH})_3^0$ y $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$ (Palmer y Wittbrodt, 1991).

En solución acuosa el cromo VI puede estar como hidrocromato (HCrO_4^-), cromato (CrO_4^{2-}), y dicromato dependiendo del pH y Eh (Potencial Redox) (Fig. 3), de tal manera que en solución alcalina predomina el cromato mientras en solución ácida aumenta el hidrocromato (Agencia de Protección Ambiental, 2000).

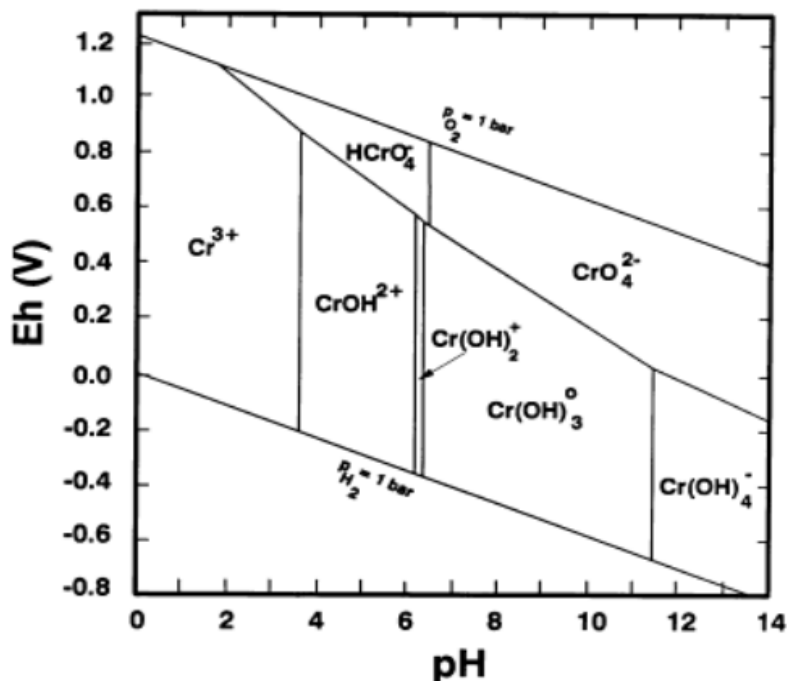


Fig. 3. Diagrama de pH-Eh para las especies acuosas de Cromo (Palmer y Wittbrodt, 1991).

1.6. Absorción del cromo

El cromo III sólo atraviesa a la membrana celular cuando forma complejos con ligandos hidrofóbicos o cuando es fagocitado (Agencia de Protección Ambiental, 2000).

En humanos, el cromo VI se absorbe con mayor eficiencia que el cromo III debido a que se presenta como un tetraedro (CrO_4^{2-}) siendo análogo del fosfato (PO_4^{2-}) y del sulfato (SO_4^{2-}), de tal manera que atraviesa la membrana celular mediante transporte activo impulsado por la bomba ATPasa y en cotransporte acompañado de 3H^+ , por ende, actúa como un inhibidor competitivo de tales transportadores (Borst-Pauwels, 1981, Banfalvi, 2011).

1.7. Reducción del cromo VI

En el ambiente, el cromo VI es reducido a cromo III por donadores de electrones inorgánicos como el Fe_2 y S_2 (Losi *et al*, 1994). La reducción ocurre rápidamente en condiciones anaerobias, siendo las profundidades de las aguas subterráneas los sitios más adecuados. Los compuestos resultantes son las especies acuosas de cromo III (Santonen *et al.*, 2009).

La reducción del cromo VI en los seres vivos se lleva a cabo por un metabolismo reductor intracelular (EPA, 2000). En el ambiente, los microorganismos reductores del cromo lo llevan a cabo por medio de reacciones enzimáticas o por la excreción de un compuesto reductor. Entre las bacterias reductoras de este elemento se encuentran los géneros:

Alcaligenes, Bacillus, Corynebacterium, Enterobacter, Escherichia, Micrococcus, Pseudomonas y *Vibrio* (Otiniano *et al*, 2007).

En los humanos, el cromo VI que es ingerido se reduce a su forma trivalente en los jugos gástricos (Anderson *et al*, 1983; DeFlora *et al*, 1987).

1.8. Importancia del cromo III en el metabolismo

En los seres humanos, el cromo III es requerido en cantidades mínimas ya que se encuentra asociado a procesos como: el metabolismo de la glucosa, proteínas y lípidos; en el entrecruzamiento (cross-linking) de ADN-ADN, en la interacción ADN-proteína y en la condensación del ADN (EPA, 2000; Banfalvi, 2011). Una vez asimilado, el cromo es captado por los huesos, pero también puede almacenarse en bazo, hígado y riñón (Cuamatzi y Melo, 2007). El cromo se elimina por vía renal (60%), por heces (vía biliar), cabello, uñas, leche y sudor (Cuberos *et al*, 2009). En la orina, se presenta el cromo III que forma un complejo con el glutatión. El límite semanal permitido de cromo en la orina para el personal expuesto es de 30 µg/g de creatinina (Albiano, 2016).

El cromo III forma parte del Factor de Tolerancia a la Glucosa (GTF por sus siglas en inglés *Glucosa Tolerance Factor*), un compuesto que incrementa la tolerancia a la glucosa al actuar como potenciador de la insulina.

El aumento de la concentración de insulina en la sangre permite su unión con el receptor presente en las células sensibles a la insulina, ocasionando la entrada del cromo III proveniente del torrente sanguíneo hacia su interior utilizando como transportador a la proteína transferrina. Una vez dentro de la célula, el cromo se une a la apocromodulina (oligopéptido de 1500 Da constituido por glicina, cisteína, glutamato y aspartato) convirtiéndose en cromodulina, la cual se une al receptor de insulina y activa la región tirosina cinasa con lo que se genera una cascada de cinasas que modifica la captura de glucosa y el metabolismo de los lípidos, favoreciendo el crecimiento. Una vez disminuida la concentración de insulina, la cromodulina es liberada del receptor por lo que se revierten los efectos (Fig. 4) (Vincent, 2000).

Debido a la importancia del cromo III en el metabolismo, se recomienda la ingesta de 50 a 200 µg/día obtenida de alimentos como las frutas y verduras frescas, carne y cereales (DeFlora, 1988; Agencia de Protección Ambiental, 2000; Santonen *et al.*, 2009). La deficiencia de este elemento provoca alteraciones en el metabolismo de la glucosa y la insulina, lo que conlleva a enfermedades como la diabetes mellitus, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Gómez y Magaña, 2003).

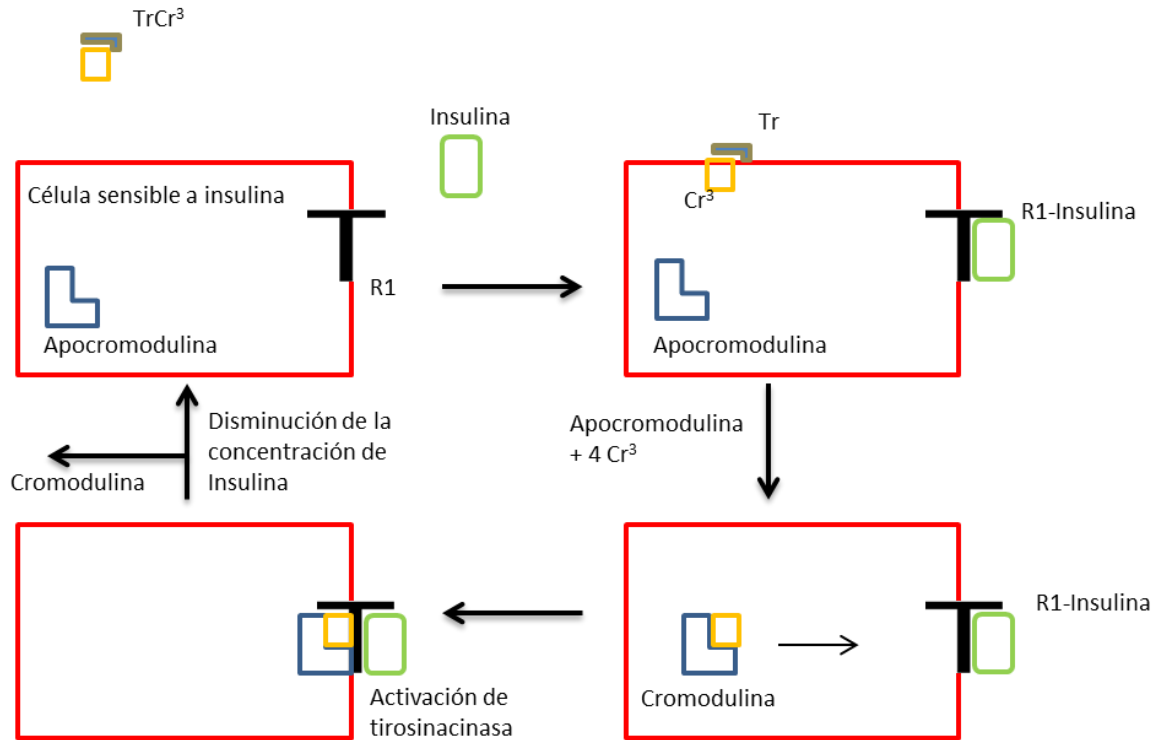


Fig. 4. Activación de la región tirosina-cinasa del receptor de insulina (RI) por acción de la cromodulina debido a un aumento en la concentración de insulina (I). RI se activa por la unión de Insulina ocasionando la entrada del cromo proveniente de la sangre siendo transportado por Transferrina (Tr-Cr). El cromo se une a la apocromodulina convirtiéndose en cromodulina la cual es activada por lo que se une a RI activando la región tirosina-cinasa. Al disminuir la concentración de insulina en la sangre se libera la cromodulina (modificado de Gómez y Magaña, 2003).

En *D. melanogaster*, un gen nombrado “CHICO” codifica para un sustrato receptor de la insulina y funciona como el factor de crecimiento tipo Insulina. Se ha encontrado que al presentarse mutaciones en dicho gen se induce longevidad en los organismos (Martínez *et al.*, 2018).

1.9. Toxicidad del cromo y efectos en la reproducción y el desarrollo

1.9.1. Cromo 0

El tratamiento de cromo 0 por distintas vías de administración (intratraqueal, intramuscular, intrafemoral, intrapleural, intraperitoneal e intravenosa) en ratones y ratas no han sido los adecuados para evidenciar que sea considerado carcinógeno para animales (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, 1997).

1.9.2. Cromo III

La toxicidad del cromo III es mínima, se caracteriza por su baja solubilidad y su alta tendencia a ser adsorbido por carbón orgánico cuando está disuelto (Banfalvi, 2011). Sin embargo, se ha registrado en animales y en modelos *in vitro* que el exceso de cromo III puede ocasionar su acumulación en los tejidos y a su vez causar daño al ADN (Stearns, *et al.*, 1995).

El cromo III es clasificado dentro del grupo D, considerado como no carcinógeno para humanos (Agencia de Protección Ambiental, 2000). Experimentos con acetato crómico, óxido de cromo, cloruro crómico y mineral de cromita no muestran evidencia de actividad carcinogénica en ratones y ratas. Asimismo, la exposición a bajas concentraciones no ocasiona irritación (Agencia Internacional para la Investigación del cáncer, 1997). Pruebas de exposición aguda en animales han mostrado que el cromo III produce toxicidad moderada (Agencia de Protección Ambiental, 2000).

En *Drosophila melanogaster*, el cromo III no aumentó la frecuencia de manchas mutantes en la prueba de las alas (Amrani *et al.*, 1999).

No existe información sobre los efectos del cromo III en el desarrollo o en la reproducción. Sólo se sugiere que la exposición de mamíferos a altos niveles de cromo III pueden repercutir en la reproducción (Agencia de Protección Ambiental, 2000).

1.9.3. Cromo VI

La presencia del cromo VI en el suelo altera a las comunidades microbianas, afectando por tanto sus reacciones enzimáticas y la degradación de la materia orgánica (Zhou *et al.*, 2002; Shi *et al.*, 2002).

Es mutagénico en bacterias (Losi *et al.*, 1994). En animales de laboratorio como el ratón (*Mus musculus*), afecta el sistema respiratorio y reduce la capacidad de combatir enfermedades (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2016).

En humanos se ha reportado que respirar cantidades mayores a $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de cromo VI puede producir estornudos, comezón, irritación, hemorragias, úlceras y perforaciones en el tabique nasal; así como bronquitis, disminución de la función pulmonar, neumonía, asma y efectos neurológicos. El contacto del cromo VI sobre la piel puede provocar quemaduras, úlceras, erupciones y dermatitis. La ingesta de altos niveles de este tipo de cromo puede producir malestar y úlceras estomacales, vómito, hemorragias, convulsiones, daño en hígado, riñón y sistema inmune, ocasionando incluso la muerte (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2016; Agencia de Protección Ambiental, 2000).

El cromo VI está clasificado dentro del Grupo A como carcinógeno para humanos por inhalación. Se clasifica en el grupo I de la IARC ya que es considerado cancerígeno para humanos. Esta clasificación se realizó debido a la gran cantidad de evidencia obtenida en estudios epidemiológicos con trabajadores de las industrias de producción de cromo en países como Estados Unidos, Alemania, Italia y Japón (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, 1997; Agencia de Protección Ambiental, 2000). La exposición prolongada al cromo se asocia con el cáncer de pulmón en personas expuestas a niveles de 100 a 1000 veces más de lo recomendado. En trabajadores expuestos al cromo VI, se encontró mayor frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y de aneuploidías (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, 1997).

El potencial carcinogénico del cromo VI se ha relacionado también con el estrés oxidante producido durante su reducción a cromo III. Las especies reactivas de oxígeno (EROs) afectan al material genético dejando lesiones como rompimientos de la cadena de ADN, aductos Cr-ADN, entrecruzamiento ADN-ADN y ADN-proteína, formación de sitios álcali lábiles (sensibles a la acción de agentes alcalinos) así como alteran los procesos de reparación del ADN, lo que conlleva a errores durante la replicación, transcripción y traducción del material genético. La reducción intracelular del cromo VI a cromo III se lleva a cabo por antioxidantes enzimáticos y de pequeña masa molecular como Glutathione, ascorbato, vitamina E, cisteína y NADPH, entre otras, que forman complejos de cromo VI/V y radicales orgánicos como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido $O_2^{\cdot-}$ y el radical hidroxilo $\cdot OH$, los cuales son sumamente agresivos para el ADN. Ya dentro de la célula, el cromo III resultante puede quedar ligado a macromoléculas como ADN o a micromoléculas como el glutatión y la cisteína (Fig. 5). Las especies reactivas de oxígeno afectan a los lípidos al inducir su peroxidación, alterar las vías de señalización celular y la homeostasis del calcio (Connett y Wetterhahn, 1985; Hamilton y Wetterhahn, 1989; Banfalvi, 2011).

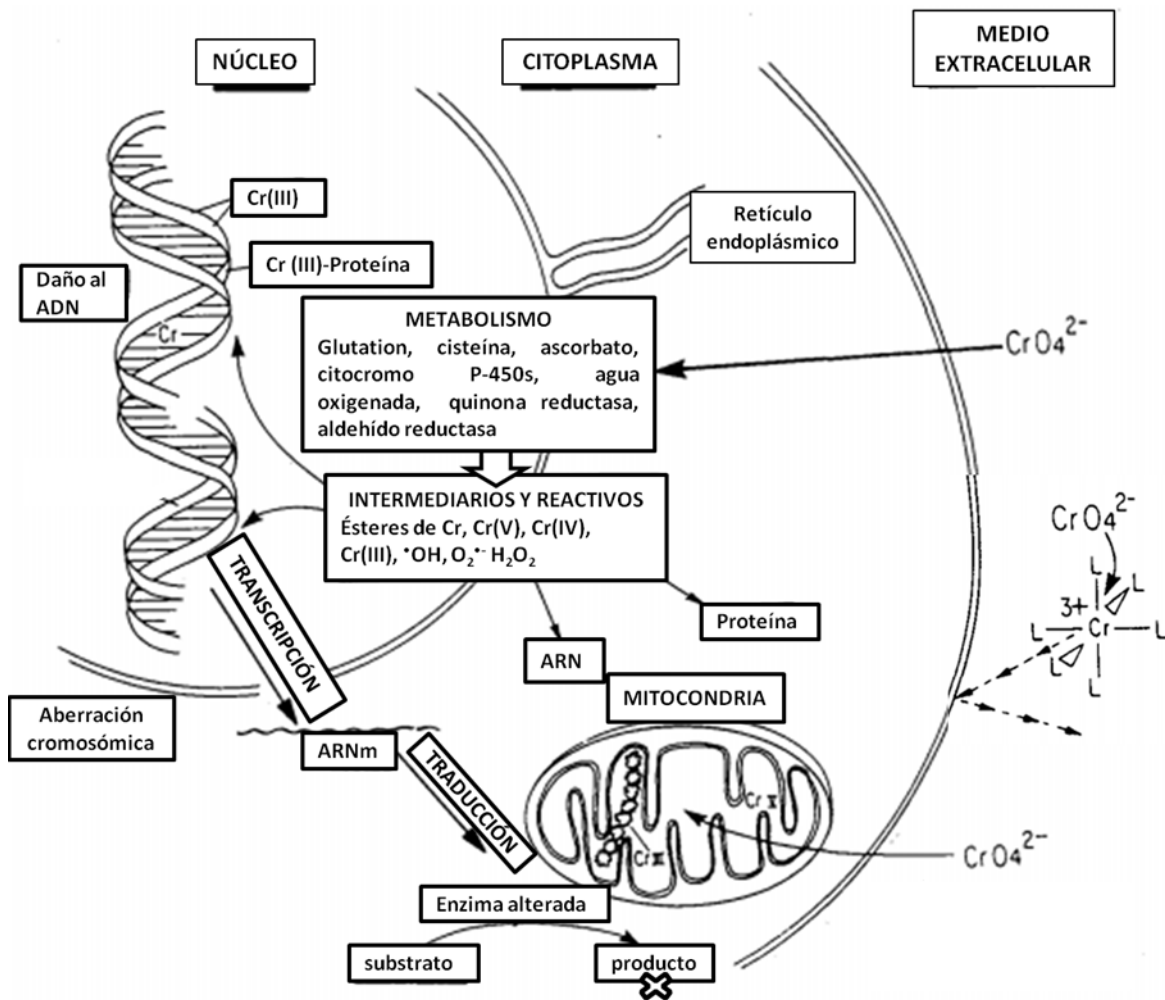


Fig. 5. Toxicidad del Cromo VI en mamíferos: captación, reducción y daño celular (modificado de Sala *et al.*, 1995).

El cromo VI afecta la integridad de las membranas celulares e inhibe la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias (Codd *et al*, 2001; Francisco *et al*, 2010).

Al suministrar cromo VI por vía oral a animales (mamíferos), se registró disminución en el número de espermatozoides, degeneración de la capa celular externa de los túbulos seminíferos, menor número de camada y anomalías en el desarrollo de la progenie y en humanos, también provoca complicaciones durante el embarazo y el parto. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 1998; Agencia de Protección Ambiental, 2000).

1.10. Límites máximos permisibles de cromo VI

NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004

Las concentraciones de remediación de suelos contaminados con cromo hexavalente que se encuentran en la categoría de áreas contaminadas con una extensión mayor a los 1000m² de suelo no debe superar los 510 mg/kg de cromo hexavalente para suelos de uso industrial y 280 mg/kg para uso agrícola, residencial y comercial.

En países como Polonia y Holanda se tienen un límite máximo permisible de 100 mg/kg de cromo en suelos agrícolas, en Alemania el límite es de 200 mg/kg, en Gran Bretaña el límite es de 50 mg/kg, mientras que en Canadá es de 75 mg/kg (Belmonte *et al.*, 2010).

En México, el límite de cromo total permitido en el agua potable es de 0.05mg/L (NOM-127-SSA1-1994).

La ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades, 2016) establece un nivel máximo permisible de 100 µg/L de Cr III y Cr VI en el agua potable.

De acuerdo con la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos), el límite de cromo total presente en el agua potable es 0.1mg/L de agua (Agencia de Protección Ambiental, 2000; Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades, 2016).

En el aire se describe para partículas de cromo VI una concentración de referencia por inhalación de 1×10^{-4} mg/m³ para medir los efectos potenciales (Agencia de Protección Ambiental, 2012).

La dosis de referencia en la exposición oral para el cromo VI es de 3×10^{-3} mg/kg/día. Para el Cromo III se tiene como Dosis de Referencia de ingesta 1.5 mg/kg/día (Agencia de Protección Ambiental, 1999).

Para los límites de los compuestos de cromo VI se tienen normas específicas para la industria en general, el empleo de astilleros, para terminales marítimas y en la industria de la construcción definiendo límites de 5×10^{-3} mg/m³ y 2.5×10^{-3} mg/m³ (Administración de Salud y Seguridad Ocupacional, 2006). La OSHA (Occupational Safety and Health Administration) establece que los límites de exposición permisibles en el aire del trabajo son de 0.005 mg/m³ para cromo VI, 0.5 mg/ m³ para cromo III y 1.0 mg/ m³ para cromo 0 durante una jornada diaria de 8 horas (Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades, 2016).

2. ZONA DE ESTUDIO: CROMATOS DE MÉXICO

2.1. Características específicas de la zona de estudio

La empresa Cromatos de México SA de CV (Cromatos) se estableció en 1958 en la calle de Francisco I. Madero de la colonia Lechería, Tultitlán, Estado de México. El predio de Cromatos contaba con un área de 4.5 hectáreas = 45 000 m². Dicha empresa se dedicaba a la producción de compuestos de cromo a cielo abierto. Contaba con una producción diaria de 21 toneladas distribuidas en los siguientes compuestos: 12 toneladas de cromato sódico, 1 tonelada de cromato de potasio, 2 toneladas de sulfato de sodio y 6 toneladas de hidróxido de aluminio. Cromatos de México estuvo activa durante 20 años generando alrededor de 75 mil toneladas de residuos de cromo que se descargaban en el suelo y en el aire, incluso tales residuos se utilizaron para relleno de las calles aledañas. A principios de la década de 1970 la población denunció ante las autoridades los efectos negativos en la salud de los habitantes y en el ambiente, ocasionado por los desechos de la fábrica, exigiendo por tanto su cierre junto con el de la Escuela Primaria Reforma ubicada a un costado de la empresa. Entre los efectos presentes en la salud de los habitantes se encuentran enfermedades respiratorias, perforación del tabique nasal, daño en la piel y aumento en el número de casos de cáncer. La fábrica fue clausurada en 1978 por los Servicios Coordinados de Salud (Gutiérrez et al., 1985; González y Rodríguez, 1989; Castro, 2006; Cruz-González, 2009; Velasco-Trejo y Ramírez, 2009).

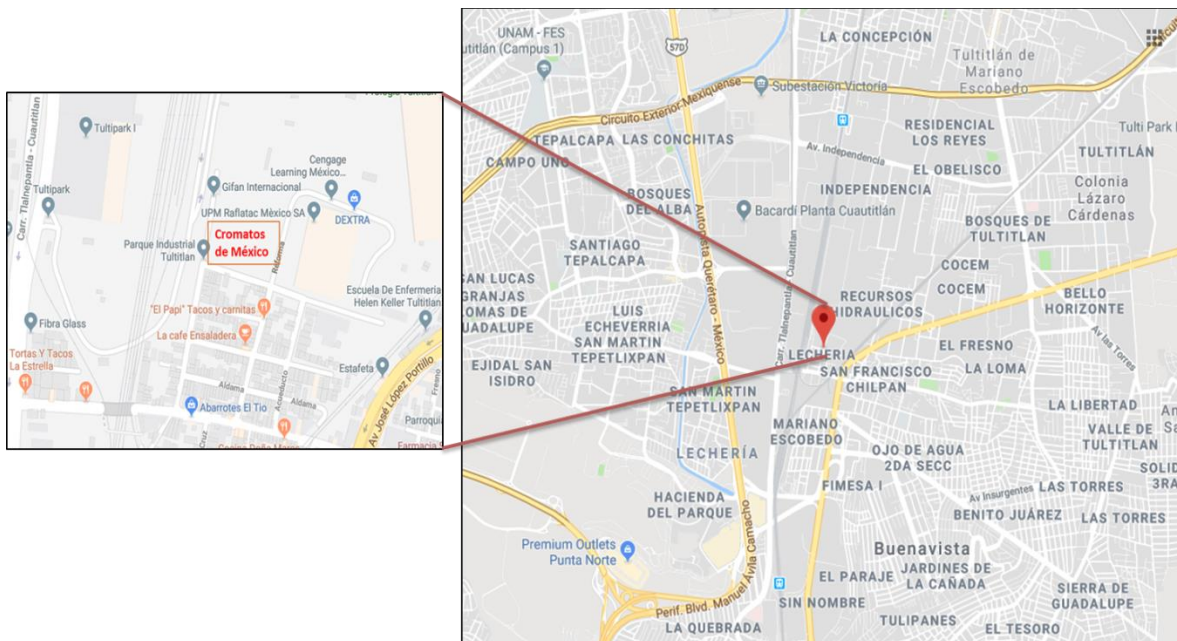


Fig. 6 Mapa de ubicación del terreno de Cromatos de México en la colonia Lechería, Tultitlán, Estado de México.

En 1983 se construyó un cementerio industrial que albergó entre 75 y 120 mil toneladas de residuos de la fábrica Cromatos. Dicho confinamiento de 30,000 m³ contaba con paredes de concreto reforzado de 25 cm de espesor cubierto por una capa de tepetate y asfalto, sin embargo, no tenía protección en la parte inferior. Poco tiempo después de la construcción, el confinamiento comenzó a presentar fisuras, las cuales se intentaron reparar sin obtener éxito (Gutierrez *et al.*, 1985; Tristán, 1984).

En el 2000 se declaró el terreno de Cromatos como Zona de Contingencia Ambiental. En 2005 la SEMARNAT lo designa como el tercer sitio de mayor contaminación química nacional. Del 2004 al 2007 el Gobierno Federal junto con la Agencia Alemana de Cooperación la “Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit” (GTZ) caracterizó el sitio para determinar el grado de afectación del ambiente. Posteriormente la GTZ y SEMARNAT buscaron alternativas de remediación de suelos y acuíferos. La SEMARNAT aprobó la instalación de una planta piloto dentro del ex predio de Cromatos de México utilizando Sulfuro de Sodio como agente reductor (Velasco y Ramírez, 2009).

Varias Secretarías del gobierno Federal en conjunto con la GTZ proponen en 2007 un saneamiento el cual consiste en la remoción de los residuos generados por la extinta empresa Cromatos de México (Fig. 6) con destino a un confinamiento de mina en Nuevo León sin que haya una orden de resguardo del área (Semarnat, 2004; Castro, 2009).



Fig. 6. Terreno de la ex fábrica de Cromatos de México. A y B: periferia del terreno cubierta solo por maya de acero; C: suelo con color amarillo debido a la presencia del Cromo; D: extracción de los residuos; E: perspectiva de la profundidad de la extracción de los residuos y el tipo de transporte utilizado; F: escuela Reforma separada por una barda del terreno de Cromatos.

2.2. Condiciones actuales de la zona

Actualmente la colonia Lechería tiene una población aproximada de 2000 habitantes, cuenta con 400 casas con 200 establecimientos comerciales. La edad promedio de los habitantes es de 29 años cuya principal actividad económica es el trabajo en las industrias de la zona.

En la última inspección del terreno donde se ubicaba la fábrica de Cromatos de México, realizada el 11 de marzo de 2017, éste se encuentra delimitado a su alrededor por una barda y letreros que prohíben el acceso a dicho predio, además de contar con una caseta de vigilancia. No obstante, aún se encuentra un pasillo con libre acceso que lleva a la antigua escuela Reforma. Se encuentran actualmente las ruinas de la escuela primaria, así como el pasillo de tierra con el característico color amarillento debido a la presencia de cromo, por lo que las condiciones actuales continúan representando un riesgo ambiental latente.



Fig. 7. Condiciones del terreno de Cromatos y la escuela Reforma (Alfredo Gabriel, 2017). Se observa que está prohibido el paso al terreno de lo que fue la empresa Cromatos de México y se encuentra bardeado, sin embargo aún se encuentran los salones de la escuela Reforma.

2.3. Características del suelo de Cromatos de México

El terreno donde se encontraba la empresa Cromatos de México forma parte de la cuenca de México, la cual es una cuenca endorreica asentada sobre una planicie aluvial.

Antes de la formación de la cuenca de México, la zona formaba parte del mar somero, después formó una planicie costera, posteriormente fue una zona de subducción que pasaría a formar una cuenca lacustre.

La cuenca de México se limita en el norte por las Sierra de Pachuca y Tezontlalpan y en el sur por la Sierra de Chichinautzin.

El suelo de la zona se formó por la actividad tectónica y volcánica, por lo que se compone de sedimentos arcillosos lagunares con intercalaciones de arenas y gravas arrastradas por la actividad fluvial, asimismo se presentan cenizas, tobas, materiales piroclásticos y lava (González y Rodríguez, 1989).

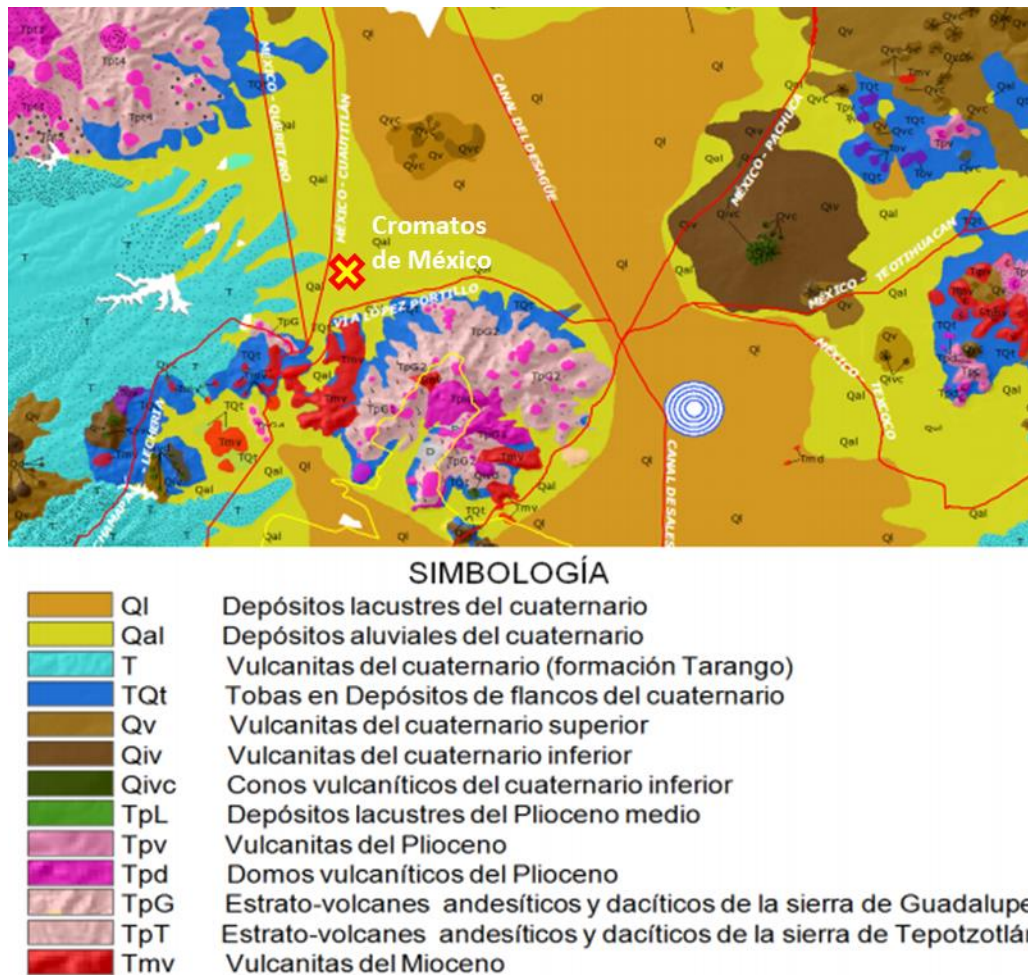


Fig. 8. Geología de la zona del terreno de Cromatos de México (Juárez y Auvinet, 2011).

3. MODELO BIOLÓGICO DE ESTUDIO: *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster o también nombrada “la mosca de la fruta” o “mosca del vinagre” pertenece al orden *Diptera*. Esta mosca es originaria de la zona tropical del oeste de África, aunque el género *Drosophila* es cosmopolita. Fue descrita primeramente por Meigen en 1830, pero fue hasta la primera década del siglo XX cuando Thomas Hunt Morgan utilizó a la mosca para estudiar los principios de la herencia, aportando evidencias experimentales para la teoría cromosómica. En 1901, W E Castle desarrolló muchas de las técnicas que se utilizan actualmente, sin embargo, el grupo de Morgan fue el que lo utilizó en investigación. Entre las características que la hacen un organismo modelo se encuentran el ser fácil de cultivar, ser prolífica (400 a 500 huevos en 10 días), ser resistente y tolerante a diversas condiciones, tener un bajo número cromosómico ($2n=8$) y la fácil observación de sus cromosomas gigantes (politénicos) en las larvas, además de facilitar la aplicación de técnicas de manipulación genética y reconocimiento de mutantes. En el año 2000 se secuenció el genoma completo de *D. melanogaster* (175 millones de pares de bases) (Adams *et al.*, 2000), y en 2005 el de *D. pseudoobscura* (Richards *et al.*, 2005).

D. melanogaster se utiliza como modelo experimental en mutagénesis ya que tiene la capacidad a nivel metabólico de activar o inactivar promutágenos y sus metabolitos. Asimismo, posee complejos enzimáticos con funciones muy similares a las presentes en la fracción S9 del hígado de mamíferos. Por tanto, a nivel del material hereditario, los cambios genéticos inducidos son similares. El porcentaje de genes en común con el ser humano es aproximadamente del 60% (Ramos *et al.*, 1993; Vincent, 2000; Gilbert, 2005; Pierce, 2009).

3.1. Ciclo de vida

El tiempo de desarrollo de la mosca *D. melanogaster* es variable, sin embargo, en los laboratorios al mantener una temperatura entre los 18 y 25°C la duración del ciclo de vida es de 10 a 12 días. Las etapas de desarrollo son: desarrollo embrionario que tiene duración de 1 día y se realiza dentro del huevo; etapa larvaria, la cual presenta tres estadios con duración de 24 horas por estadio; etapa de pupa en la que ocurre la metamorfosis completa (holometábola) para convertirse en imago o adulto (Fig. 9) (Vincent, 2000; Wolpert *et al.*, 2010).

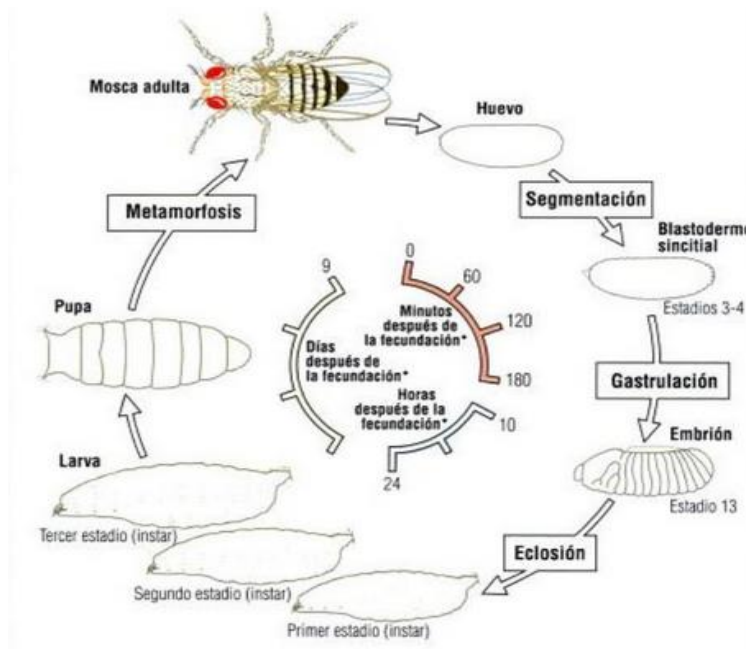


Fig. 9. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* a 25° C (Wolpert *et al.*, 2010).

3.1.1. Huevo

El huevo de *D. melanogaster* es de color blanco con una longitud aproximada de 420 μm , presenta un par de filamentos en la región anterodorsal que evitan que el huevo se hunda en el medio semilíquido donde es depositado. Presenta un micrópilo el cual es una abertura ubicada en el extremo anterior del óvulo y es por donde penetra el espermatozoide. El óvulo se desarrolla en el ovario femenino y se encuentra rodeado por células nodrizas y foliculares las que, a través de puentes citoplasmáticos proporcionan sustancias como nutrientes, proteínas y mRNA (Ramos *et al.*, 1993, Campbell y Reece, 2007; Curtis *et al.*, 2008).

3.1.2. Larva

La larva emerge del huevo después de 24 horas de la fertilización, presenta color blanco y varios segmentos aparentes visibles, tres de la cabeza, tres del tórax y ocho del abdomen. Su mandíbula es retráctil y de color negro. El cuerpo está cubierto por dos capas, la endocutícula y la exocutícula. Al término de cada estadio, la larva muda de cutícula para quedar cubierta con una de mayor tamaño (Ramos *et al.*, 1993; Slack, 2013).

La larva posee dos tipos celulares somáticos: las células larvarias y las células imagales.

Las células larvarias conforman el cuerpo de la larva. En ciertos tejidos secretores como los túbulos de Malpighi, recto, intestino y glándulas salivales se pueden encontrar cromosomas gigantes formados mediante el proceso de endomitosis en el cual los homólogos se aparean y el DNA se duplica, pero no se segregan, las cromátidas recién formadas se mantienen juntas lo que gradualmente provoca el engrosamiento de los cromosomas por lo que se aprecian de gran tamaño; una vez diferenciadas, estas células pierden la capacidad para realizar mitosis. El nivel de poliploidía varía, ya que se pueden encontrar desde 64 copias en los tubos de Malpighi hasta 1024 en las células de las glándulas salivales. Los centrómeros de cada uno de los cromosomas se asocian formando el cromocentro. Así, en cada célula los cromosomas engrosados forman una estructura característica con 5 brazos: X(1), 2L (brazo izquierdo del cromosoma 2) 2R (brazo derecho del cromosoma 2), 3L, 3R y el cromosoma 4, que es puntual, se encuentra en el centro de la estructura (Ramos *et al.*, 1993)

Las células imagales se encuentran en los denominados discos imagales, los cuales son sacos compuestos de láminas de epitelio, que durante la etapa larvaria aún se mantienen indiferenciadas, sin embargo, están determinadas genéticamente, aumentan en número por mitosis y se diferencian durante la metamorfosis (Curtis *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 1993).

El sexo de las larvas de *D. melanogaster* puede distinguirse poco después de la eclosión. Las gónadas son transparentes y se localizan en el tercio posterior de la cavidad del cuerpo de la larva, están rodeadas de grasa y conectadas por ramas traqueales muy delgadas. Se distingue el ovario por presentar un menor tamaño, una forma esférica y por encontrarse cubierto de tejido graso. El testículo es más grande, se observa transparente por estar unido a menor cantidad de grasa corporal. Durante la etapa de pupa, las gónadas continúan creciendo y diferenciándose sin interrupción (Kerkis, 1930; Demerec, 1994).

3.1.3. Pupa

Al final del tercer estadio larvario, la larva se retira a un lugar con menor humedad y secreta un nuevo tipo de cutícula externa para encapsularse y quedar inmóvil, es entonces cuando se convierte en pupa. Dentro del pupario la mayoría de las células larvarias son degradadas para dar paso a la formación de los tejidos y órganos que constituirán al individuo adulto, la hormona ecdisona es la que desencadena tales cambios. Los discos imagales aumentan de tamaño casi mil veces y cambian de forma plegándose y extendiéndose, es el momento cuando las células alcanzan su diferenciación. Se lleva a cabo la histogénesis en donde a partir de cada uno de los discos imagales se originan

estructuras del imago: ojos, patas, antenas, alas, aparato bucal, aparato genital (Curtis *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 1993).

3.1.4. Adulto

Una vez concluida la metamorfosis, el imago surge del pupario por el extremo anterior. Este organismo no está totalmente maduro ya que es alargado, despigmentado y tiene las alas plegadas por lo que les inyecta linfa, lo que provoca su extensión. Una vez que extiende y seca las alas, el adulto puede alimentarse y copular (Ramos *et al.*, 1993).

3.2. Morfología del adulto

El cuerpo de la mosca adulta mide entre 2 y 3 mm de longitud y se compone de tres partes básicas: la cabeza, el tórax y el abdomen (Campbell y Reece, 2007; Wolpert *et al.*, 2010).

La cabeza es móvil y se compone de los siguientes sensores y órganos para cada función: los ojos compuestos y los ocelos para la visión, antena y palpo maxilar para el olfato, la proboscis (compuesta por *clipeus*, *labrum*, *maxila* y *labium*) para el gusto, la antena para la audición y cerdas sensoriales para el tacto (Chyb y Gompel, 2013).

3.2.1. Tórax

El tórax a su vez se divide en tres segmentos: el protórax situado en la parte anterior donde se presenta un par de patas, que en el caso del macho presenta los peines sexuales; el mesotórax que es la parte media y lleva un par de patas y un par de alas; el metatórax en la parte posterior que lleva un par de patas y los halterios (alas modificadas en órganos de equilibrio). En la parte dorsal se encuentra el *notum*, que se divide en *escutum* y *escutelo*. Las paredes de los segmentos presentan una placa dorsal (terguito), una placa lateral (pleurito) y una placa ventral (esternito). A lo largo del tórax también se presentan sedas (Chyb y Gompel, 2013; Ramos *et al.*, 1993).

3.2.2. Abdomen

El abdomen se divide en segmentos visibles que dependen del sexo, la hembra presenta 7 u 8 segmentos, mientras que el macho de 5 a 6 segmentos ya que se encuentran fusionados y melanizados. En las hembras, la placa anal y la placa genital con un ovopositor se encuentran en posición lateroterminal, mientras que en los machos se presenta el pene, el arco genital y la placa anal en posición ventral (Ramos *et al.*, 1993).

3.3. Desarrollo embrionario de *D. melanogaster*

En la reproducción de *D. melanogaster*, tras la fecundación y la unión de los pronúcleos, el núcleo diploide presenta divisiones mitóticas rápidas, una cada nueve minutos, sin embargo, sólo se presentan las fases celulares S y M, sin haber citocinesis, por lo que la cantidad de citoplasma no aumenta. Tales divisiones generan una célula multinucleada llamada sincicio en la que los materiales citoplasmáticos se difunden por todo el embrión. Después de nueve divisiones los núcleos se desplazan a la periferia para formar el blastodermo temprano o blastodermo sincicial en donde nuevamente se dividen. En la región posterior llegan cinco núcleos que formarán las células polares y a su vez originarán a las células germinales. Después de 13 divisiones la membrana se invagina y rodea a los núcleos para formar alrededor de 6 000 células que conforman al blastodermo celular o tardío (Gilbert, 2005; Pierce, 2009; Wolpert *et al.*, 2010).

3.3.1. Formación de ejes

La posición del huevo dentro del ovario de la madre establece los ejes anteroposterior y dorsoventral. Tales ejes se establecen mediante genes de polaridad del huevo los cuales son de herencia materna y actúan mediante los gradientes de concentración de los morfógenos (proteínas que afectan el destino ontogenético de la región afectada) (Pierce, 2009). Para la determinación del eje anteroposterior se encuentran los genes *bicoid* sintetizando una mayor cantidad de proteína *Bicoid* en la parte anterior. Para el eje dorsoventral se encuentran 12 genes siendo el más importante el gen *dorsal*, que al sintetizarse en proteína se distribuye uniformemente en un inicio y después se ubica en el lado dorsal (Pierce, 2009).

3.3.2. Gastrulación

La gastrulación inicia a las 3 h de la fecundación e inicia con la invaginación del futuro mesodermo (cerca de 1 000 células) formando el surco ventral en la región media que se convertirá en un tubo ventral internalizado, posteriormente se aplanan y migran debajo del ectodermo. El sistema nervioso se forma a partir de células originarias del blastodermo ventral situándose entre el ectodermo ventral y el mesodermo. El endodermo se origina de la invaginación de los extremos anteroposterior del surco ventral para formar el surco cefálico (Gilbert, 2005; Wolpert *et al.*, 2010).

El ectodermo y el mesodermo migran para formar la banda germinal que dará origen al tronco del embrión. El surco cefálico formará la cabeza, mientras que la banda germinal originará el tórax y el abdomen. Otros eventos importantes que inician en esta etapa son la segmentación, la organogénesis y la segregación de los discos imagales que originarán todas las partes del adulto (Fig. 9) (Gilbert, 2005).

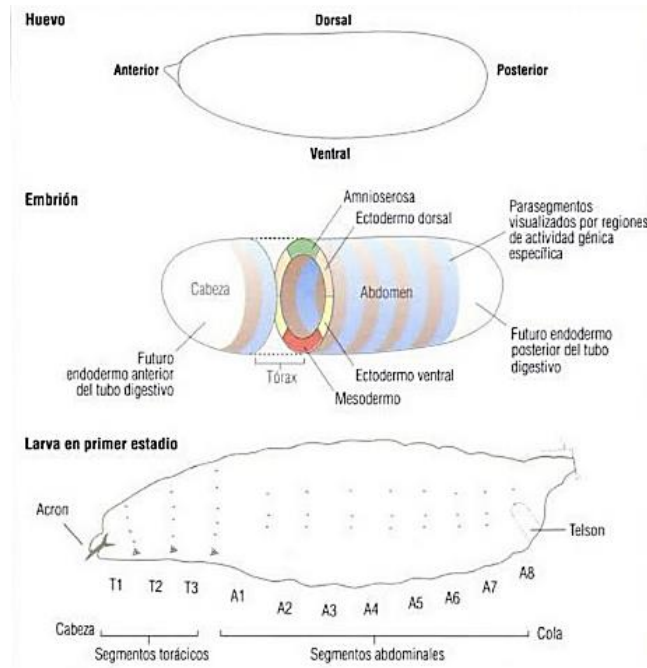


Fig. 9. El plan corporal de *D. melanogaster* ya se encuentra diferenciado en el embrión. Los colores muestran las regiones del embrión y las estructuras del adulto que formarán (Wolpert *et al.*, 2010).

3.4. Morfología y desarrollo del testículo

El testículo de *D. melanogaster* es un saco que presenta lumen, contiene células germinales empaquetadas, elementos celulares somáticos, desechos celulares y fluidos dependientes de la edad del individuo.

En la larva ocurre una polarización del testículo en donde se resguarda a los tres tipos celulares que intervendrán en el desarrollo de los espermatozoides los cuales son: células apicales, células terminales y células intersticiales. Las células terminales transforman el epitelio terminal de los testículos adultos.

En la pupación, después de 11 h, el testículo crece de manera lineal vinculándose con los gonoductos y adquiere una forma elipsoidal. Una vez formados los testículos completamente, contienen espermatozoides maduros a diferencia de los ovarios que se encuentran en estado juvenil los cuales crecerán en la etapa adulta.

En el adulto, el testículo es enroscado, tubular y abierto a la vesícula seminal, además se encuentra recubierto por dos capas de epitelios de entre 1.5-2 μ de grosor, donde la capa externa se compone de células escamosas con abultados núcleos y cuyo citoplasma contiene el pigmento que colorea la pared del testículo. La capa interna es poco visible y

contiene núcleos dispersos, sin embargo, ésta proporciona la forma de elipse (Demerec, 1994).

3.5. Espermatogénesis en *D. melanogaster*

Al ser un insecto, *D. melanogaster* presenta espermatogénesis longitudinal. Este proceso ocurre en la etapa de larva, se realiza en la pupa y continúa en la etapa adulta. El tiempo requerido es de 10 días y se inicia cada 10 horas. Las condiciones hormonales que controlan la espermatogénesis varían en cada etapa (Cuervo, 2009; Demerec, 1994; Gilbert, 2005; Schowalter, 2009).

La espermatogénesis inicia con la formación del espermatogonio, conformado por células germinales primordiales, que son las precursoras de los gametos y provienen de las células polares que migraron durante el desarrollo embrionario hacia las gónadas a través de distintas formas: translocación pasiva, repulsión del endodermo y atracción hacia las gónadas (Demerec, 1994; Gilbert, 2005).

Las células germinales o espermatogonias están en constante división. Estas células se encuentran en la región cefálica del testículo junto a un tipo de células somáticas nombradas células apicales. El desarrollo de las células que originarán a los espermatozoides se lleva a cabo de manera organizada en compartimentos o cistos, separados por septos los cuales son láminas de protoplasma originadas por las células intersticiales de origen somático (Cuervo, 2009; Demerec, 1994).

En la larva de primer estadio sólo se encuentran espermatogonias que van acompañadas de dos células, a partir de éstas se generan 16 células por mitosis y cada una aumenta su tamaño hasta 25 veces por lo que es nombrada espermatocito primario y está presente hasta el segundo estadio larvario. En el testículo de la larva ocurre un arresto de la espermatogénesis. El espermatocito primario pasa por la meiosis I, resultando dos espermatocitos secundarios ($n, 2c$) por cada una, este evento ocurre en la pupa y en el adulto. Posteriormente pasan por la meiosis II, de donde se obtienen las espermátidas (n, c). Tales células pasan por un proceso de maduración denominado espermiogénesis. Debido a la organización en cistos, las células germinales se encuentran separadas por generaciones por lo que se presentan progresivos estados de maduración. En la membrana interna se producen los espermatocitos y las espermátidas, mientras que en el lumen y en las regiones en espiral del testículo se lleva a cabo la maduración de los espermatozoides que una vez concluida pasarán hacia la parte posterior de la vesícula seminal. Las células nutritivas, análogas a las células de Sertoli, se ubican en el segundo medio del testículo y se dispersan a lo largo de la pared, en ellas las espermátidas avanzan en grandes grupos y realizan su maduración (Demerec, 1994; Dye, 2012).

Durante la espermiogénesis es esencial la reorganización de la cromatina. Este proceso conlleva en el caso de mamíferos el reemplazamiento de histonas por proteínas de transición y a su vez por las protaminas para alcanzar el estado de condensación adecuado. En el caso de *Drosophila* se han encontrado secuencias de genes muy similares (hasta 94% de similitud) a las secuencias de los genes que codifican para las protaminas y proteínas de transición. La transcripción de dichos genes se lleva a cabo en el espermatocito primario. Una mutación en algún gen que intervenga en este proceso puede provocar arresto en el desarrollo de la espermiogénesis o esterilidad. El gen materno *sesame* interviene en la remoción de las protaminas durante la fertilización por lo que una mutación en dicho gen materno ocasiona infertilidad (Jayaramaiah y Renkawitz-Pohl, 2005).

3.6. Importancia del espermatozoide en la actividad reproductiva de la hembra

En la selección sexual los individuos más competitivos son los más exitosos. Existen dos tipos de selección sexual: precopulatoria en donde la competencia es por conseguir una pareja con la finalidad de copular; postcopulatoria cuando las hembras son promiscuas y pueden almacenar a los espermatozoides de distintos machos, de tal manera que la competencia es entre los espermatozoides por fecundar al óvulo (Hurtado, 2014).

Drosophila guarda espermatozoides en un órgano tubular llamado receptáculo seminal y en órganos esféricos llamados espermatecas (Pitnick *et al.*, 1999). La reducción de la cantidad de espermatozoides almacenados depende de la tasa de ovulación y la cantidad de espermatozoides liberados por cada ovulación (Hurtado, 2014).

Las proteínas presentes en el líquido seminal son generadas en las glándulas accesorias del tracto reproductor masculino y producen cambios fisiológicos en las hembras como la estimulación en la producción de huevos, reducción de la receptividad para apareamiento y liberación de espermatozoides del receptáculo (Ravi-Ram y Wolfner, 2007). Se ha reconocido que las proteínas que participan en estas modificaciones son las Acps (Accessory gland proteins). Existen Acps responsables de las respuestas a corto plazo en la hembra, como es el caso de la Ovulina la cual es responsable del aumento de la producción de huevos. La presencia del espermatozoides y otras Acps generan respuestas a largo plazo como por ejemplo el almacenamiento y eficiente uso de los espermatozoides para la fertilización de los huevos (Hurtado, 2014; Ravi-Ram y Wolfner, 2007).

3.7. Determinación Sexual en *Drosophila*

La determinación del sexo es el programa de desarrollo que conlleva al embrión a la vía masculina o femenina, mientras que la diferenciación sexual es la expresión de los genes de determinación del sexo que forman las estructuras sexuales para hembras y machos. La determinación del sexo fue establecida por Bridges en 1921, como la relación entre el número de cromosomas X y el número de conjuntos de autosomas. Las relaciones X/A de proporción 1 (2X;2A) se desarrollan como hembras, las proporciones 0,5 (X;2A) como machos y la proporción 0,67 son intersexos. Los machos XO son estériles ya que el cromosoma Y tiene genes que participan en la formación de espermatozoides.

El gen *Sex lethal* (*Sxl*) controla la determinación sexual en *Drosophila melanogaster*, regula las vías de desarrollo sexual somático y solo se activa en las hembras resultando la proteína *Sxl* Temprana (Sanchez, 2008), la cual induce la expresión del gen *transformer* (*tra*). La proteína TRA, junto con la proteína TRA2 (codificada por *transformer2*, *tra2*) forman un dímero que modifica el reconocimiento de exones en el RNA del gen.

En *Drosophila*, cada célula expresa su genotipo de manera independiente. Se ha comprobado que el sexo de las células somáticas puede modificar la determinación sexual de las células germinales. Cuando se colocan células germinales femeninas en un ambiente masculino, se generan células masculinas (esperma) en poca cantidad, por el contrario, al colocar células germinales de macho en ambiente somático femenino es insuficiente para formar células femeninas debido a la ausencia de un cromosoma (compensación de dosis) (Andrews y Oliver 2001).

Durante el desarrollo embrionario existen errores cuantitativos donde se eliminan cromosomas lo que resulta en un organismo con partes del cuerpo de macho y de hembra, o mosaicos donde se presenta una mezcla de tejidos de ambos sexos (Sanchez, 2008).

3.8. Proteínas de estrés

El estrés es un estado de desequilibrio fisiológico (perturbación de la homeostasis) provocado por un agente estresante que pone en marcha las respuestas de estrés. Existen clasificaciones de estrés, entre las cuales se denota el estrés agudo o letal cuya duración es corta y por otra parte el estrés crónico o subletal, cuyo tiempo de exposición es mayor pero su intensidad es baja. Asimismo, el efecto que producen es distinto por lo que Breazile (1988) menciona tres grados de estrés: eustrés, el cual produce una respuesta benéfica para el individuo, pero al intensificarse puede causar daños; el neutrales estrés, como su nombre lo indica, genera respuestas neutras; el disestrés, el cual puede ocasionar alteraciones en la homeostásis o en el comportamiento. Este último tipo es el que puede afectar a los órganos, tejidos o sistemas.

Cambios en las condiciones ambientales pueden alterar la fisiología y por ende producir estrés. En la industria piscícola se ha encontrado que la manipulación, la selección, transporte y vacunación afectan negativamente el crecimiento y la reproducción de los peces. La respuesta inmediata al estrés es la activación de los sistemas nervioso y endocrino cuya consecuencia es la liberación hormonal, primero de las catecolaminas y posteriormente del cortisol. Estas hormonas afectan a sistemas como el circulatorio o el respiratorio, sin embargo, incrementa los niveles de glucosa para una posible demanda energética. La intensidad y el tiempo de exposición al agente estresante repercutirán en el individuo, cuyos efectos se verán reflejados en la disminución de funciones básicas como el crecimiento y la madurez sexual (efecto del cortisol), incluso puede ocasionar la muerte. Se ha reportado que el cortisol, ocasionado por el estrés, afecta los gametos al reducir el tamaño de los ovocitos, disminuir la cantidad de esperma y se asocia con baja calidad de las larvas, lo que conlleva a que no lleguen a la etapa adulta (Weber, 2007).

En respuesta al estrés originado por distintos factores ambientales, las células presentan mecanismos de respuesta, que tienen la finalidad de evitar un posible daño o repararlo. A nivel genético, las células modifican la expresión de genes que sintetizan proteínas de estrés las cuales se clasifican en tres grupos: proteínas de choque térmico (HsPs), proteínas reguladas por glucosa (GRPs) así como las proteínas hemo-oxigenasas y metalotioneínas que son inducidas bajo ciertas condiciones físicas y químicas. La hemo-oxigenasa protege del daño ocasionado por peroxiradicales al participar en la desintoxicación, se induce por metales y sustancias que producen daño oxidativo como la radiación UV, arsenito de sodio y H₂O₂ (Blasco, 1999).

Las metalotioneínas ejercen una función de desintoxicación de metales pesados, captura y eliminación de radicales libres e intervienen en la modulación y expresión genética. En el genoma de *Drosophila melanogaster* se encuentran cuatro genes de metalotioneínas: MtnA, MtnB, MtnC y MtnD. El factor de transcripción MTF-1 detecta los metales pesados como el cromo, por lo que induce la transcripción de tales genes para prevenir la intoxicación y mantener la homeostasis. La forma en que actúan las MTS es mediante la unión y secuestro de los iones metálicos (Atrian *et al*, 2006).

3.9. Desintoxicación

En los humanos el hígado realiza un proceso de desintoxicación para neutralizar sustancias tóxicas producidas en el ambiente o dentro del organismo. En los insectos, ocurren reacciones a nivel celular que metabolizan y eliminan el tóxico. Este proceso se lleva a cabo en dos fases. La fase I implica reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis volviendo a la sustancia a un estado más activo químicamente y en ocasiones más tóxico generando sustancias que afectan al material genético tales como radicales libres. En esta

fase interviene un sistema de enzimas denominada citocromo p450. Las moléculas de la segunda fase, tales como el glutatión o el ácido glucurónico, se conjugan con las moléculas del tóxico o con moléculas activadas en la fase 1. Esta fase está mediada por transferasas. Existen otras vías en la fase dos tales como la sulfatación, metilación y acetilación. Las enzimas de la fase II intervienen en la reducción de los radicales libres para proteger los tejidos del daño oxidativo. En los insectos se presenta la familia de las glutatión-S-transferasas principalmente la Delta y Epsilon (Roy *et al*, 2005).

3.10. Disruptores endocrinos

Los disruptores endocrinos son sustancias o mezcla de sustancias del ambiente que provocan alteraciones en el equilibrio del cuerpo, específicamente en el sistema endocrino ya que pueden mimetizar, antagonizar los efectos, actuar como receptores de las hormonas, modificar las vías de señalización celular, alterar la producción, degradación y transporte de las hormonas en diferentes especies. Estos pueden ingresar al cuerpo por contacto, respiración, ingesta de alimentos y agua. Presentan efectos adversos sobre la salud del individuo, en su descendencia o en la población. En tratamientos experimentales se relaciona la presencia de disruptores endocrinos con las respuestas no monótonas o lineales las cuales cambian de positivas a negativas y viceversa, con la subsecuente activación de genes y vías metabólicas distintas ocasionadas por los químicos a dosis bajas (Colomina, 2007; Fagin, 2012).

4. JUSTIFICACIÓN

A pesar de la creación de un confinamiento destinado para los residuos generados por la extinta fábrica de Cromatos de México, así como su posterior traslado, actualmente continúa observándose el polvo amarillo, cuyo color es característico de suelos con presencia de cromo en sus distintos estados de oxidación (III a VI). Se ha encontrado presencia de cromo hexavalente en los mantos freáticos de la zona de la cuales las industrias extraen agua mediante pozos. En el agua potable el contenido de cromo no rebasa los límites máximos permitidos por la Norma Oficial Mexicana ya que proviene del sistema Cutzamala siendo ajeno a los mantos freáticos de la zona (Cruz, 2009).

Debido a las diferentes fuentes de exposición al cromo hexavalente, los habitantes y el ambiente se encuentran expuestos a un grave riesgo toxicológico, lo que hace necesario el estudio consecuente sobre sus efectos en las poblaciones, con el fin de enriquecer la información para orientar acerca de los posibles daños en tiempo presente y a futuro.

En estudios anteriores (Ledezma, 2006) se encontró que los lixiviados de la zona de Cromatos de México pueden dañar a las células reproductoras de los organismos expuestos, y también se mostró que los residuos presentaron actividad mutagénica en células somáticas (Muñoz, 2007), por lo que es importante estudiar con mayor profundidad el efecto reprotóxico hacia la progenie.

5. HIPÓTESIS

Los componentes de la muestra de suelo de Cromatos de México interfieren en la actividad reproductiva de los individuos expuestos.

Si se expone a *D. melanogaster* con los componentes de la muestra de suelo de Cromatos de México, principalmente el cromo hexavalente, entonces se afectará la actividad reproductiva de los organismos.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto tóxico de una muestra ambiental externa a Cromatos de México en la actividad reproductiva de *Drosophila melanogaster*.

6.2. Objetivos particulares

- Determinar el efecto de la exposición subcrónica de *Drosophila melanogaster* ante diferentes concentraciones de la muestra de suelo, utilizando como indicadores a la Supervivencia (S) y la Proporción Sexual (PSx) de las moscas recobradas.
- Establecer el impacto de la exposición de la hembra, el macho y/o ambos en la descendencia.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Obtención de la muestra de suelo de Cromatos de México

Los puntos de muestreo de suelo se ubicaron en el pasillo exterior de Cromatos de México el cual lleva hacia la escuela Reforma. Se recolectaron 12 muestras de la superficie del suelo con una distancia promedio de 11.78 m, abarcando una longitud total de 141.41 m lineales (Fig. 10). Se colocó una capa de suelo por cada muestra, una encima de la anterior.

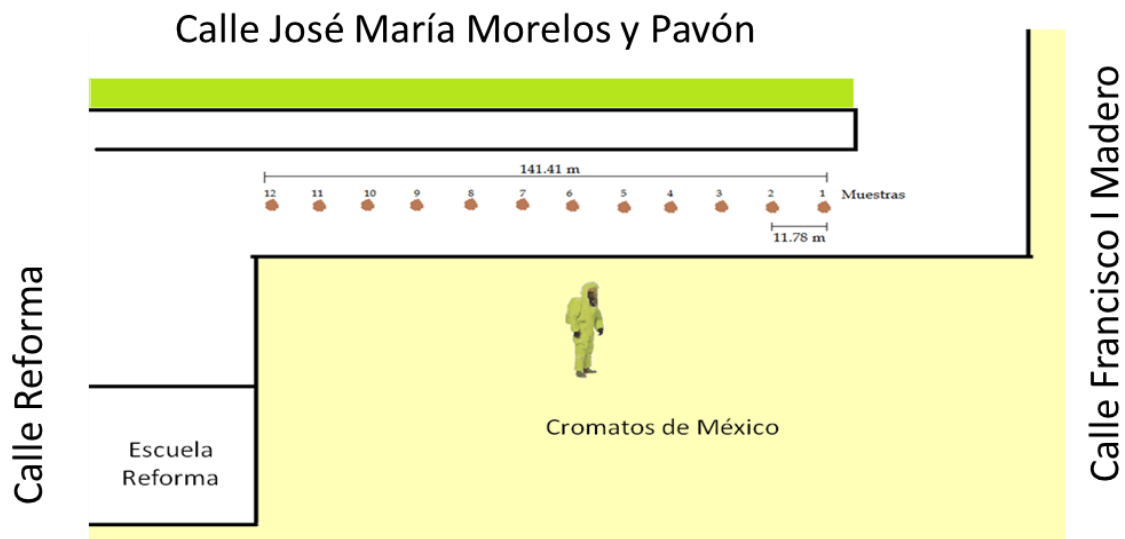


Fig. 10. Esquema del sitio de Cromatos de donde se obtuvieron las muestras de suelo.

Una vez colocadas las capas de suelo en una bolsa de plástico se extrajeron 7 submuestras de manera vertical utilizando un tubo de pvc de 2 pulgadas de diámetro y 30 centímetros de longitud, con lo cual se obtuvo una columna que incluyera a todas las capas de suelo (Fig. 11) la cual se utilizó para realizar las diluciones y el análisis de cromo total.

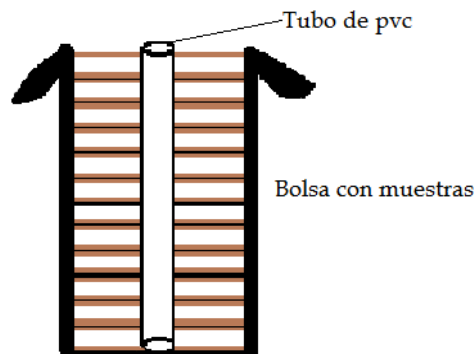


Fig. 11. Esquema de extracción de las muestras donde se muestra que el tubo de pvc atraviesa por cada capa de tierra.

7.2. Análisis de cromo total y cromo hexavalente

Para analizar la cantidad de cromo total y cromo hexavalente se enviaron muestras de todas las capas de suelo de Cromatos de México al laboratorio de “Estudios y Análisis Ambientales SA. de C.V.” con domicilio en calle Valenciana No. 37, Col. Valle Gómez, Venustiano Carranza, Cd. de México.

7.3. Modelo biológico utilizado y cepa

Se utilizó la cepa silvestre Canton-s (C-S) de *Drosophila melanogaster* para la obtención de la Sobrevivencia, la Proporción Sexual de los organismos expuesto y para obtener su progenie. El material y los organismos fueron proporcionados por el Banco de Moscas de la facultad de Ciencias, UNAM.

7.4. Procedimiento experimental

Se obtuvo un cultivo maduro de la cepa silvestre de *Drosophila melanogaster*, la cual se transfirió a un frasco con medio fresco manteniéndose por un periodo de 8 horas con la finalidad de que las hembras ovopositaran. A los 3 días se extrajeron las larvas de 72 ± 4 h por el método de Nöthiger (1970) el cual se basa en el uso de un gradiente de densidad de una mezcla de sacarosa al 20% para separar las larvas del medio.

7.5. Disoluciones y tratamiento

Las muestras de suelo obtenidas con el tubo de pvc se dejaron remojar en agua destilada durante 4 h para posteriormente filtrarlas hasta obtener un volumen de 100 ml. Para realizar la filtración se utilizó papel filtro de velocidad lenta con poro de 2 a 4 μm y 160 mm de espesor.

El filtrado de 100 ml se le consideró como una concentración al 100 %, a partir de la cual se fueron realizando diluciones sucesivas (1:1) hasta obtener 14 diluciones, es decir hasta tener una concentración de 0.0122 %. Se utilizó agua destilada como disolvente y como testigo negativo.

Se colocaron un promedio de 75 larvas en tubos homeopáticos de vidrio esterilizados y conteniendo 1g de medio instantáneo (Carolina Biological Supply) hidratado con 4.5 ml de la disolución de la muestra de suelo. Las larvas permanecieron en el medio durante 48 h o hasta la pupación por tratarse de una exposición subcrónica de 72 h x 48 h. Para cada concentración se realizaron un total de 8 repeticiones.

Los adultos emergidos fueron cuantificados y separados por sexo para obtener la Sobrevivencia y la Proporción Sexual.

7.6. Sobrevivencia e Índice de Sobrevivencia

En *Drosophila melanogaster* se utiliza a la Sobrevivencia (S) promedio como indicador de toxicidad de los tratamientos de muestras ambientales. El índice de Sobrevivencia compara el número de individuos recobrados en las diferentes concentraciones con respecto a los recobrados en el lote testigo. Valores significativamente menores al promedio del testigo indican que el tratamiento interfiere con la sobrevivencia de los individuos (Arellano, 2002).

En este trabajo se comparó la sobrevivencia obtenida en cada repetición al someter a *D. melanogaster* a las diferentes diluciones de la muestra de suelo. Para el análisis de sobrevivencia se integraron los resultados obtenidos en las repeticiones para obtener un promedio por cada concentración. La gráfica se realizó en una escala logarítmica para una mejor observación de los resultados.

7.7. Proporción Sexual

La Proporción de Sexos (PSx) permite identificar si los tratamientos aplicados a los individuos de *D. melanogaster* afectan a un sexo en particular. La Proporción Sexual (PSx) se calculó mediante el cociente de la suma de todos los individuos de un sexo recobrados en un tubo entre el total de individuos de ambos sexos por tubo. Finalmente se realizó el promedio de la PSx de los resultados por cada concentración de todas las repeticiones. . La gráfica se realizó en una escala logarítmica para una mejor observación de los resultados.

7.8. Tipos de cruzas realizados para evaluar el efecto reprotóxico

Para conocer si las diluciones empleadas durante la cruce de hembras y machos expuestos tienen un efecto tóxico en la reproducción, se realizaron las siguientes cruzas:

- Hembra no tratada vs Macho tratado (NT x T)
- Hembra tratada vs Macho no tratado (T x NT)
- Hembra tratada vs Macho tratado (T x T)

En cada tipo de cruce se mantuvo una relación de sexos de 1:1 y se siguió a 20 familias para cada concentración y por cada tipo de cruce. Es decir, para las 15 concentraciones de la cruce de NT x T se obtuvieron un total de 300 repeticiones, asimismo para cada una de las otras cruces, haciendo un total de 900 repeticiones.

7.9. Fertilidad y Fertilidad corregida

La Fertilidad se calculó realizando el cociente del número de familias que presentó descendencia entre el número total de familias sometidas a tratamiento, en esta caso fueron 20 familias por concentración y para cada tipo de cruce.

Para calcular la Fertilidad Corregida se dividió la fertilidad obtenida en cada concentración (incluso el testigo [0%]) entre la de su testigo correspondiente, de esta manera la fertilidad del testigo de las cruces NTxT, TxNT, TxT = 1. Este valor permite comparar el efecto del tratamiento a los progenitores según el esquema de cruce realizado.

7.10. Progenie Promedio por Familia (PPF) y Progenie Promedio por Familia Corregida

La Progenie Promedio por Familia se calculó mediante el cociente del número de progenie total de una concentración entre el número de familias que tuvieron descendencia en esa misma concentración. Esto se realizó para cada tipo de cruce.

La Progenie Promedio por Familia Corregida se calculó mediante los cocientes de la PPF de cada concentración entre la de su testigo correspondiente por cada tipo de cruce.

7.11. Estimación del Estado Físico y la Capacidad Reproductiva

La estimación del Estado Físico y la Capacidad Reproductiva de moscas expuestas a cromo durante el desarrollo larvario se calculó multiplicando para cada tipo de cruce los valores del Índice de Supervivencia, Fertilidad y Progenie por familia corregida, obteniendo un valor por cada concentración de la muestra y para cada tipo de cruce. Mediante este análisis, se conjuntan los efectos en la supervivencia y reproducción (fertilidad y progenie) por cada tipo de cruce, haciendo más evidente las diferentes repuestas de las moscas sometidas a los tratamientos.

7.12. Análisis estadístico

Para el análisis de la Supervivencia se realizó la prueba de ANOVA de un factor para determinar el efecto de las concentraciones.

Para la Proporción sexual se realizó un ANOVA de dos factores tomando en cuenta el sexo y la concentración. Posteriormente se realizó la prueba de ANOVA de una vía para cada concentración tomando en cuenta el tipo de sexo.

Para determinar el efecto de la concentración en la Fertilidad se utilizó z para proporciones con $\alpha=0.05$.

Para el análisis de Fecundidad promedio de los individuos tratados con las disoluciones de la muestra de suelo, se realizó la prueba ANOVA de un factor tomando en cuenta sólo las concentraciones, por lo que se hizo una para cada tipo de cruce. Asimismo, se aplicó la

prueba tomando como factor el tipo de cruce. Para el análisis conjunto del tipo de cruce y la concentración se realizó una prueba de ANOVA de dos factores. Finalmente se realizó la prueba de Tukey tomando como factor solo las cruces con el fin de identificar específicamente donde existían diferencias significativas. Todos los ensayos se realizaron a dos colas y con un nivel de significancia $\alpha=0.05$.

Para realizar la Estimación del Estado Físico y la Capacidad reproductiva de las moscas expuestas a las disoluciones de la muestra de suelo se tomaron en cuenta los valores obtenidos de los demás indicadores. Se realizó la multiplicación de los valores de la Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregida. Con este análisis se conjuntan los efectos de todos los indicadores por cada tipo de cruce y para cada concentración con la finalidad de hacer evidente las diferentes respuestas de los tratamientos en *D. melanogaster*.

8. RESULTADOS

8.1. Concentraciones de cromo en la muestra de suelo

El resultado del análisis realizado por el laboratorio de “Estudios y Análisis Ambientales S.A. de C.V.” encontró un contenido promedio de 238 mg/Kg de cromo total en la muestra ambiental (suelo de Cromatos de México), del que aproximadamente el 21 % es de cromo VI.

La concentración de cromo hexavalente presente en la muestra de suelo de Cromatos de México no rebasó los límites máximos permisibles establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos y por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 de México. Tampoco superó los límites establecidos por algunos países de la unión europea como Polonia pero se encuentra muy cercana al límite establecido en Gran Bretaña (límite máximo de 50 mg/kg) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cantidad de Cromo hexavalente presente en la muestra ambiental de Cromatos de México (Estudios y Análisis Ambientales S.A. de C.V.)

Tipo de cromo	Suelo de Cromatos de México (promedio \pm EE)	Concentración permitida por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004
Cromo Total	238 \pm 11 mg/kg	280 mg/kg
Cromo Hexavalente	49.65 \pm 9.85 mg/kg	280 mg/kg

El cuadro 2 muestra las partes por millón (ppm o mg/L) de cromo contenido en cada dilución (%), la sobrevivencia y proporción sexual de los organismos expuestos a las diluciones de la muestra de suelo de Cromatos de México.

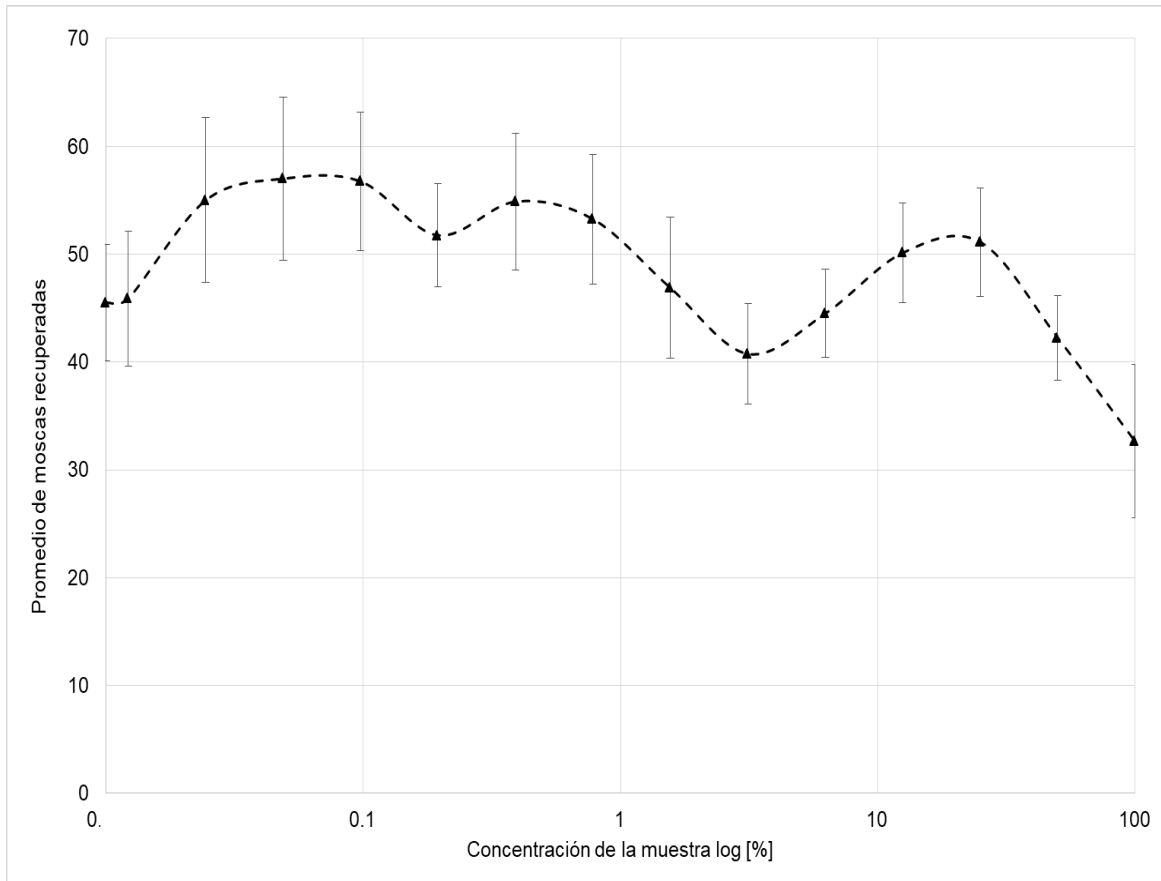
Cuadro 2. Supervivencia y Proporción Sexual de moscas expuestas a las diluciones del suelo de Cromatos de México (promedio \pm ee).

Disolución [%]	Concentración de cromo VI (ppm)	N	moscas por tubo	Proporción Sexual	
				Hembras	Machos
Testigo	0.000	364	45.50 \pm 5.43	0.54 \pm 0.01	0.46 \pm 0.01
1.22E-02	0.006	367	45.88 \pm 6.28	0.50 \pm 0.05	0.50 \pm 0.05
2.44E-02	0.012	440	55.00 \pm 7.65	0.51 \pm 0.01	0.49 \pm 0.01
4.88E-02	0.024	456	57.00 \pm 7.55	0.55 \pm 0.03	0.45 \pm 0.03
9.76E-02	0.048	454	56.75 \pm 6.40	0.53 \pm 0.03	0.47 \pm 0.03
1.95E-01	0.097	414	51.75 \pm 4.78	0.56 \pm 0.03	0.45 \pm 0.03
3.91E-01	0.194	439	54.88 \pm 6.36	0.51 \pm 0.03	0.50 \pm 0.03
7.81E-01	0.388	426	53.25 \pm 6.00	0.50 \pm 0.03	0.50 \pm 0.03
1.56E+00	0.776	375	46.88 \pm 6.53	0.53 \pm 0.03	0.47 \pm 0.03
3.13E+00	1.552	326	40.75 \pm 4.63	0.51 \pm 0.05	0.49 \pm 0.05
6.25E+00	3.103	356	44.50 \pm 4.08	0.50 \pm 0.02	0.50 \pm 0.02
1.25E+01	6.206	401	50.13 \pm 4.61	0.53 \pm 0.04	0.48 \pm 0.04
2.50E+01	12.413	409	51.13 \pm 5.04	0.50 \pm 0.02	0.50 \pm 0.02
5.00E+01	24.825	338	42.25 \pm 3.92	0.49 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02
1.00E+02	49.650	261	32.63 \pm 7.12	0.47 \pm 0.05	0.53 \pm 0.05

N: número de adultos recuperados por cada disolución.

8.2. Supervivencia (S)

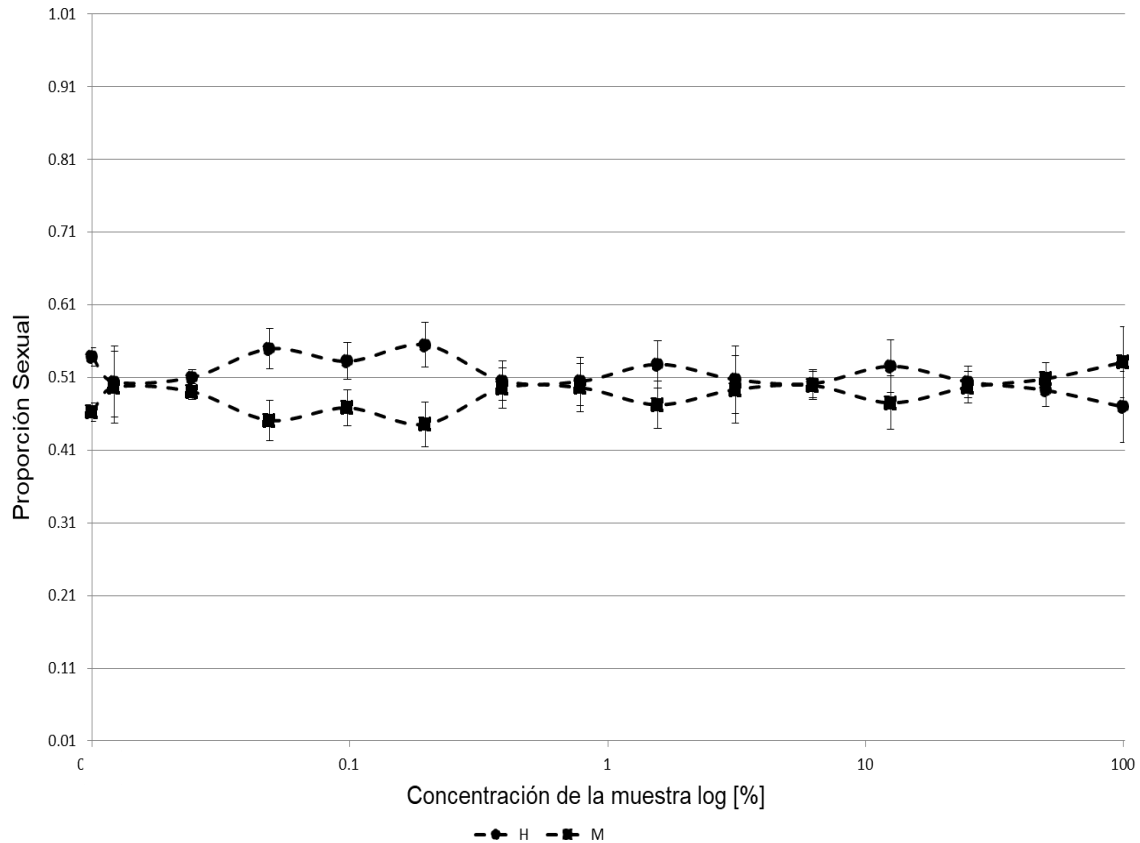
No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia de los individuos recuperados de los distintos lotes con respecto al control (ANOVA de una vía en GraphPad Prism 7, 2017). Sin embargo, como se muestra en la gráfica 1, se observó un aparente aumento de la supervivencia en las concentraciones bajas y disminución de la supervivencia en las concentraciones altas, con respecto al testigo (3.13E+00, 5.00E+01 y 1.00E+02).



Gráfica 1. Supervivencia (Promedio ± ee) de las moscas expuestas a la muestra de suelo Cromatos de México durante el desarrollo larvario.

8.3. Proporción de sexos (PSx)

No se encontraron diferencias significativas en la PSx de los individuos recobrados (ANOVA de una vía en GraphPad Prism 7, 2017). Aunque se registran fluctuaciones en la proporción de hembras y machos, el tratamiento afectó de manera similar a ambos sexos (Gráfica 2). Sin embargo, se observa que en la mayoría de las concentraciones la proporción de machos es menor que la de hembras (como en el lote testigo), excepto en las concentraciones más altas.



Gráfica 2. Proporción Sexual (Promedio \pm ee) de las moscas expuestas a la muestra de suelo de Cromatos de México.

8.4. Progenie resultante de las cruzas sometidas a tratamiento

Los cuadros 3, 4 y 5 muestran los resultados obtenidos al analizar la Fertilidad (FE), Progenie Promedio por Familia (PPF) y Proporción Sexual (PSx) para cada concentración y tipo de cruce:

Cuadro 3. Progenie de machos expuestos (NT x T) a la muestra de suelo de Cromatos de México (FE, PPF y PSx \pm ee).

[%]	n	N	Fertilidad	Progenie promedio por familia	Proporción Sexual	
					hembras	machos
Testigo	17	511	0.85	30.06 \pm 3.13	0.54 \pm 0.02	0.46 \pm 0.02
1.22E-02	19	847	0.95	44.58 \pm 8.82	0.47 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02
2.44E-02	17	603	0.85	35.47 \pm 5.41	0.54 \pm 0.03	0.46 \pm 0.03
4.88E-02	17	621	0.85	36.53 \pm 5.29	0.51 \pm 0.02	0.49 \pm 0.02
9.76E-02	16	564	0.80	35.25 \pm 7.08	0.56 \pm 0.02	0.44 \pm 0.02
1.95E-01	18	645	0.90	35.83 \pm 6.85	0.49 \pm 0.02	0.50 \pm 0.02
3.91E-01	14	476	0.70	34.00 \pm 6.72	0.49 \pm 0.03	0.51 \pm 0.03
7.81E-01	19	619	0.95	32.58 \pm 3.84	0.49 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02
1.56E+00	17	606	0.85	35.65 \pm 5.92	0.53 \pm 0.03	0.48 \pm 0.03
3.13E+00	15	344	0.75	22.93 \pm 3.66	0.53 \pm 0.02	0.47 \pm 0.02
6.25E+00	19	583	0.95	30.68 \pm 5.70	0.52 \pm 0.03	0.49 \pm 0.03
1.25E+01	19	413	0.95	21.74 \pm 2.82	0.51 \pm 0.04	0.49 \pm 0.04
2.50E+01	17	424	0.85	24.94 \pm 3.87	0.47 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02
5.00E+01	18	385	0.90	21.39 \pm 2.81	0.48 \pm 0.03	0.53 \pm 0.03
1.00E+02	17	445	0.85	26.18 \pm 3.94	0.48 \pm 0.03	0.52 \pm 0.03

N, progenie total; n, número de familias independientes

En la FE de NT x T no se confirmaron diferencias significativas (Prueba de Z para dos proporciones independientes), sin embargo, se observó disminución en las concentraciones 3.91E-01 y 3.13E+00. La PPF fue ligeramente mayor en la concentración 1.22E-02 y menor en 1.25E+01 y 5.00E+01, aunque no se encontraron diferencias significativas (ANOVA de una vía en GraphPad Prism 7, 2017) en comparación con el lote testigo. En la PSx se recobró menor proporción de hembras en las concentraciones más altas, sin existir diferencias significativas.

Cuadro 4. Progenie de hembras expuestas (T x NT) a la muestra de suelo de Cromatos de México (FE, PPF y PSx ± ee).

[%]	N	N	Fertilidad	Progenie promedio por familia	Proporción Sexual	
					hembras	machos
Testigo	18	1449	0.90	80.50 ± 5.97	0.51 ± 0.02	0.49 ± 0.02
1.22E-02	18	1295	0.90	71.94 ± 4.62	0.51 ± 0.01	0.49 ± 0.01
2.44E-02	13	903	0.65	69.46 ± 5.19	0.49 ± 0.02	0.51 ± 0.02
4.88E-02	14	923	0.70	65.93 ± 6.10	0.48 ± 0.01	0.52 ± 0.01
9.76E-02	17	1158	0.85	68.12 ± 4.99	0.51 ± 0.01	0.49 ± 0.01
1.95E-01	12	816	0.60	68.00 ± 4.49	0.47 ± 0.01	0.54 ± 0.01
3.91E-01	14	906	0.70	64.71 ± 7.88	0.45 ± 0.02	0.55 ± 0.02
7.81E-01	14	832	0.70	59.43 ± 7.91	0.53 ± 0.04	0.47 ± 0.04
1.56E+00	15	986	0.75	65.73 ± 3.34	0.44 ± 0.01	0.56 ± 0.01
3.13E+00	20	1425	1.00	71.25 ± 7.89	0.48 ± 0.01	0.52 ± 0.01
6.25E+00	15	834	0.75	55.60 ± 7.60	0.51 ± 0.01	0.49 ± 0.01
1.25E+01	15	785	0.75	52.33 ⁺ ± 7.30	0.57 ± 0.02	0.43 ± 0.02
2.50E+01	16	673	0.80	42.06 ⁺ ± 6.33	0.51 ± 0.03	0.49 ± 0.03
5.00E+01	18	919	0.90	51.06 ⁺ ± 6.20	0.52 ± 0.02	0.48 ± 0.02
1.00E+02	13	580	0.65	44.62 ⁺ ± 6.89	0.49 ± 0.02	0.51 ± 0.02

N, progenie total; n, número de familias independientes; ⁺, p <0.05 ANOVA de una vía.

Cuando las hembras fueron expuestas (T x NT) los menores valores de FE se recobraron en las concentraciones 1.95E-01, 2.44E-02 y 1.00E+02. En el resto de las concentraciones, la FE fue similar al testigo. No se encontraron diferencias significativas en la FE con respecto al lote testigo (Prueba de Z para dos proporciones independientes).

La PPF fue menor en las concentraciones altas (1.25E+01 a 1.00E+02). Existen diferencias significativas en la PPF entre el lote testigo y las concentraciones 1.25E+01, 2.50E+01, 5.00E+01 y 1.00E+02. En la PSx no se obtuvieron diferencias significativas, sin embargo, se recobraron menos hembras en concentraciones intermedias (3.91E-01 y 1.56E+00) y menos machos en la concentración de 1.25E+01, comparadas con el lote testigo.

Tabla 4. Progenie de moscas expuestas (T x T) a la muestra de Cromatos FE, PPF y PSx \pm ee).

[%]	n	N	Fertilidad	Progenie promedio por familia	Proporción Sexual	
					hembras	machos
Testigo	18	383	0.90	21.28 \pm 2.34	0.49 \pm 0.03	0.51 \pm 0.03
1.22E-02	19	580	0.95	30.53 \pm 4.01	0.50 \pm 0.03	0.50 \pm 0.03
2.44E-02	18	753	0.90	41.83 \pm 4.33	0.48 \pm 0.02	0.52 \pm 0.02
4.88E-02	20	1057	1.00	52.85 \pm 5.18	0.51 \pm 0.02	0.49 \pm 0.02
9.76E-02	20	1053	1.00	52.65 \pm 9.16	0.49 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02
1.95E-01	18	479	0.90	26.61 \pm 3.41	0.49 \pm 0.03	0.51 \pm 0.03
3.91E-01	19	931	0.95	49.00 \pm 6.53	0.50 \pm 0.02	0.50 \pm 0.02
7.81E-01	20	1010	1.00	50.50 \pm 6.77	0.47 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02
1.56E+00	20	725	1.00	36.25 \pm 6.00	0.50 \pm 0.02	0.50 \pm 0.02
3.13E+00	15	920	0.75	61.33 \pm 9.78 ⁺	0.49 \pm 0.02	0.51 \pm 0.02
6.25E+00	20	722	1.00	36.10 \pm 4.07	0.51 \pm 0.02	0.49 \pm 0.02
1.25E+01	18	697	0.90	38.72 \pm 5.56	0.51 \pm 0.02	0.49 \pm 0.02
2.50E+01	16	687	0.80	42.94 \pm 7.46	0.53 \pm 0.01	0.47 \pm 0.01
5.00E+01	14	356	0.70	25.43 \pm 4.95	0.56 \pm 0.05	0.44 \pm 0.05
1.00E+02	15	290	0.75	19.33 \pm 3.87	0.46 \pm 0.06	0.51 \pm 0.06

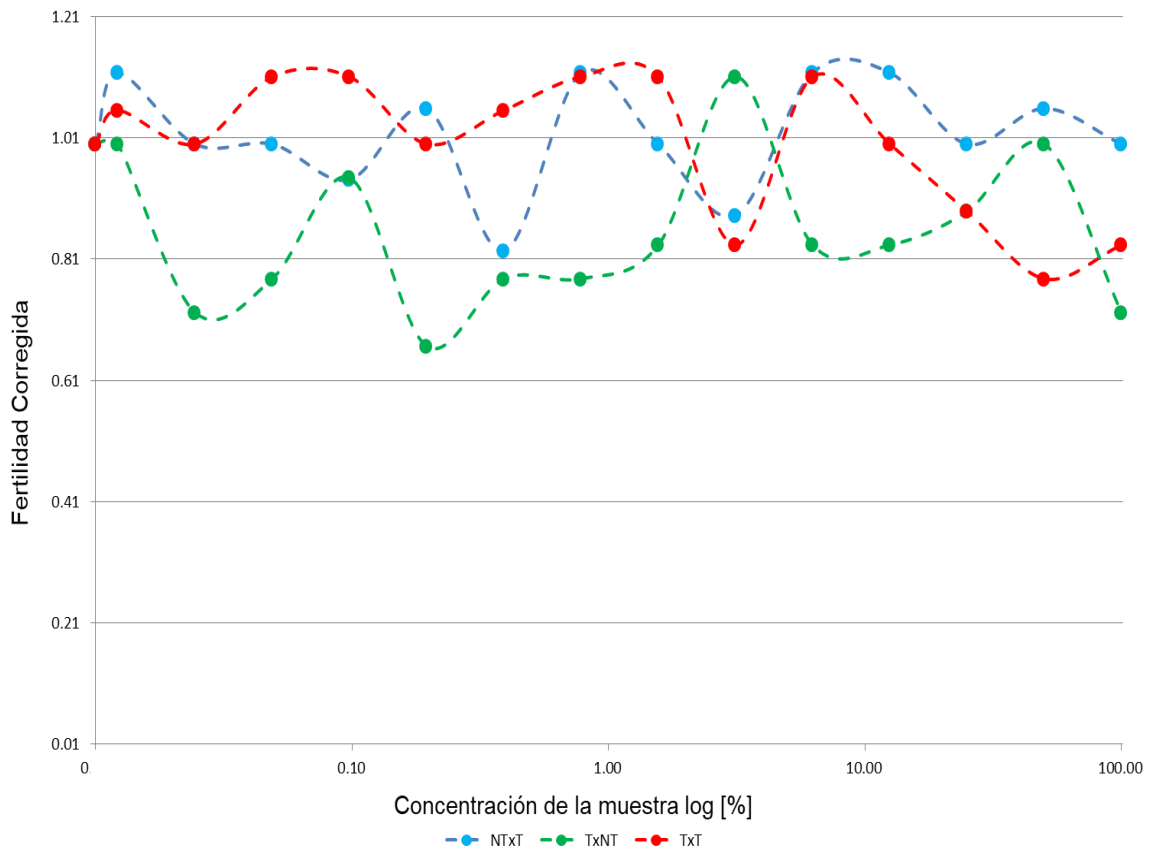
N, progenie total; n, número de familias independientes; ⁺, $p < 0.05$ ANOVA de una vía.

En la cruce T x T, la FE es menor en las concentraciones 3.13E+00, 5.00E+01 y 1.00E+02, sin embargo no se encuentran diferencias significativas (Prueba de Z para dos proporciones independientes). La PPF presentó diferencias significativas en la concentración 3.13E+00 ($p < 0.05$), comparado con el lote testigo (ANOVA de una vía en GraphPad Prism 7, 2017). En la PSx, se recobraron más hembras en las concentraciones 2.50E+01 y 5.00E+01, pero las diferencias no fueron significativas.

8.5. Fertilidad Corregida

A continuación se presenta el resultado de la Fertilidad Corregida (Gráfica 3):

- NT x T: la FE sólo fue menor cuando los machos fueron tratados con $3.91E-01$ y $3.13E+00\%$ de la muestra durante el desarrollo larvario.
- T x NT: en general, la FE resultó más afectada cuando es tratada solo la hembra. En 9 concentraciones la fertilidad fue menor comparada con el testigo correspondiente.
- T x T: la FE corregida fue menor cuando son expuestos ambos progenitores a las concentraciones $3.13E+00$, $2.50E+01$, $5.00E+$ y $1.00E+02\%$.

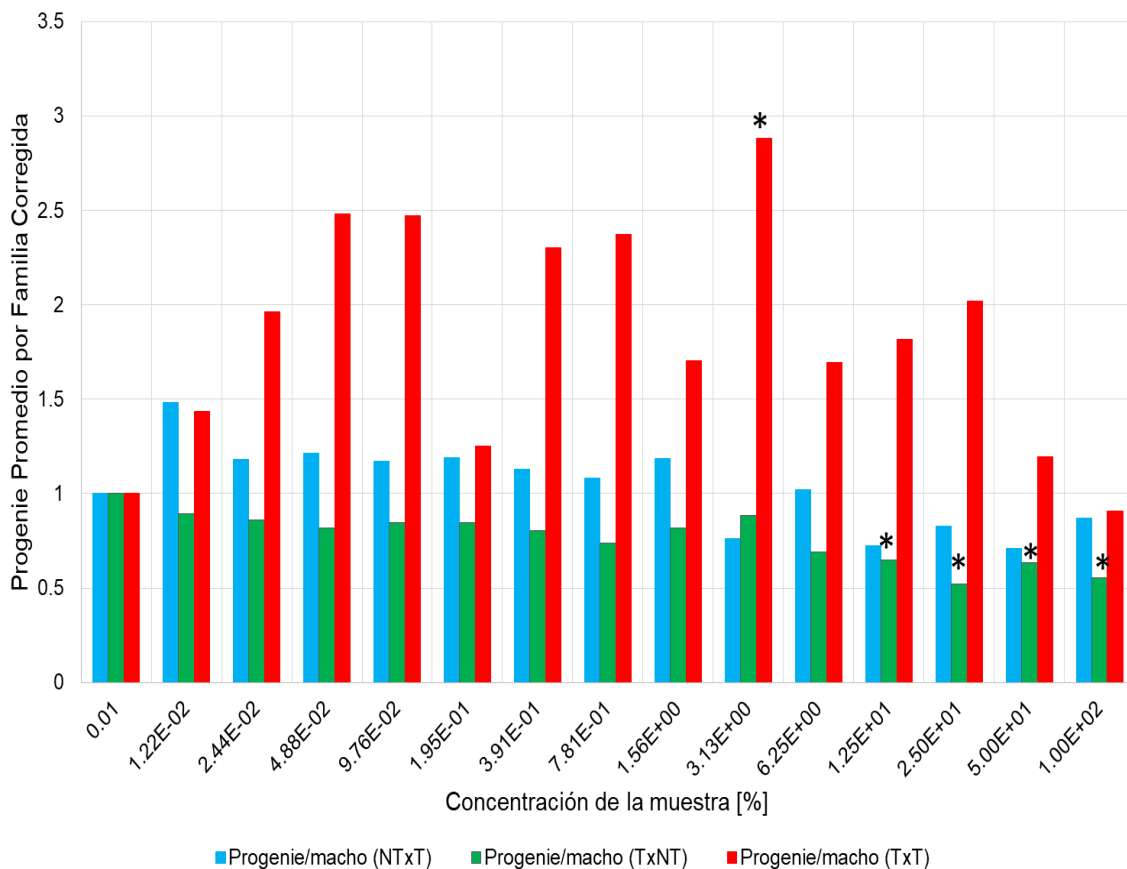


Gráfica 3. Fertilidad corregida de moscas expuestas a la muestra ambiental durante el desarrollo larvario: TxT, TxNT y NTxT.

8.6. Progenie Promedio por Familia Corregida

En la gráfica 4 se compara la Progenie Promedio por Familia corregida de los tres tipos de cruzas:

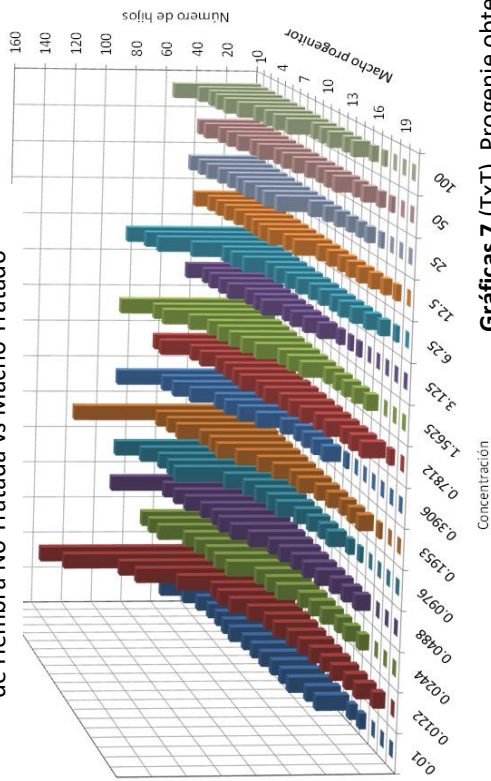
- NT x T: En la concentración más baja probada, el promedio de la PPF fue mayor al del testigo, en el resto de las concentraciones, fue similar, excepto en las concentraciones 3.13E+00, 1.25E+01 y 5.00E+01% de la muestra ambiental en las que se obtuvieron menos moscas sin ser significativamente diferentes.
- T x NT: La PPF fue menor en todas las series experimentales cuando la hembra fue tratada con la mezcla ambiental durante el desarrollo larvario. En las concentraciones más altas existen diferencias significativas (1.25E+01, 2.50E+01, 5.00E+01 y 1.00E+02).
- T x T: La PPF fue mayor en 11 de las concentraciones probadas, pero solo se confirmaron diferencias significativas en 3.13E+00%.



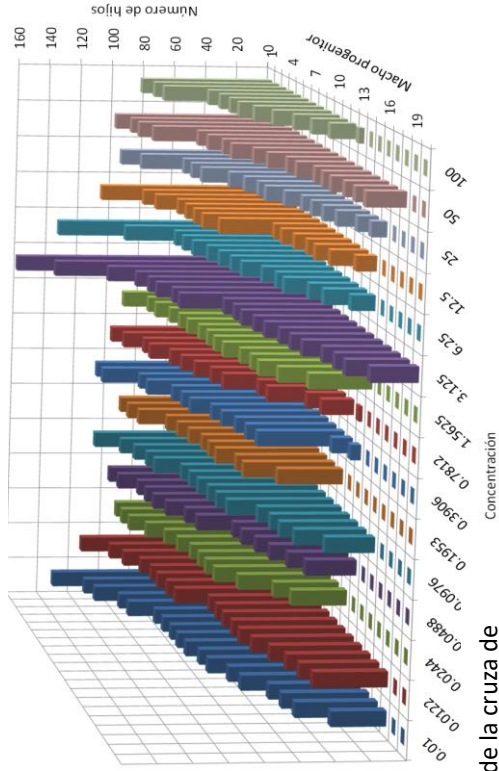
Gráfica 4. Progenie promedio por familia de moscas expuestas a la muestra de suelo durante el desarrollo larvario: TxT, TxNT y NTxT. * Presentaron diferencias significativas (ANOVA de una vía, $p < 0.05$).

8.7. Progenie resultante por familia

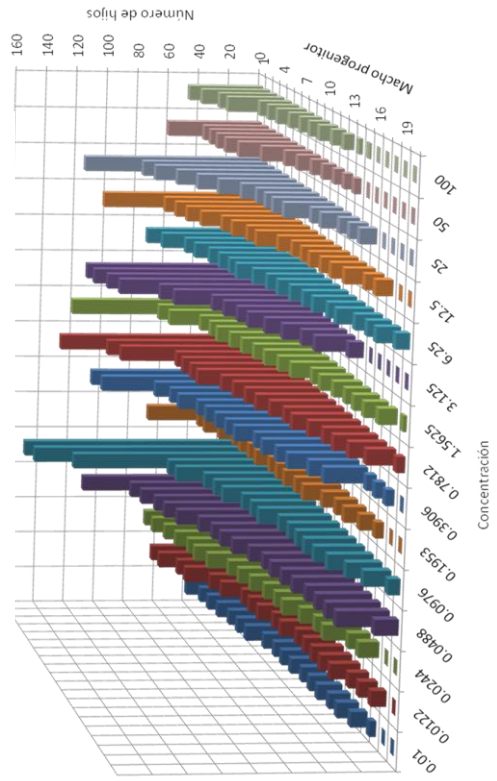
Gráficas 5 (NTxT). Progenie obtenida de la cruce de Hembra No Tratada vs Macho Tratado



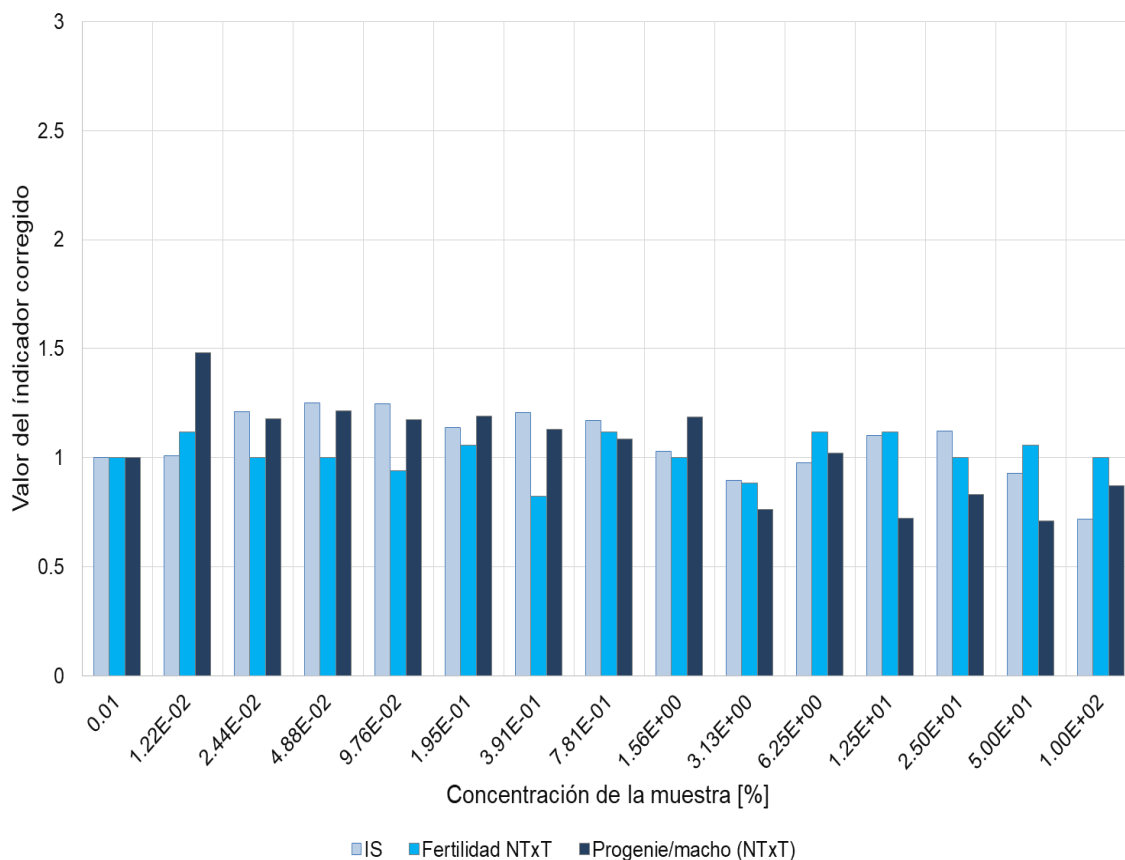
Gráficas 6 (TxNT). Progenie obtenida de la cruce de Hembra Tratada vs Macho No Tratado



Gráficas 7 (TxT). Progenie obtenida de la cruce de Hembra Tratada vs Macho Tratado

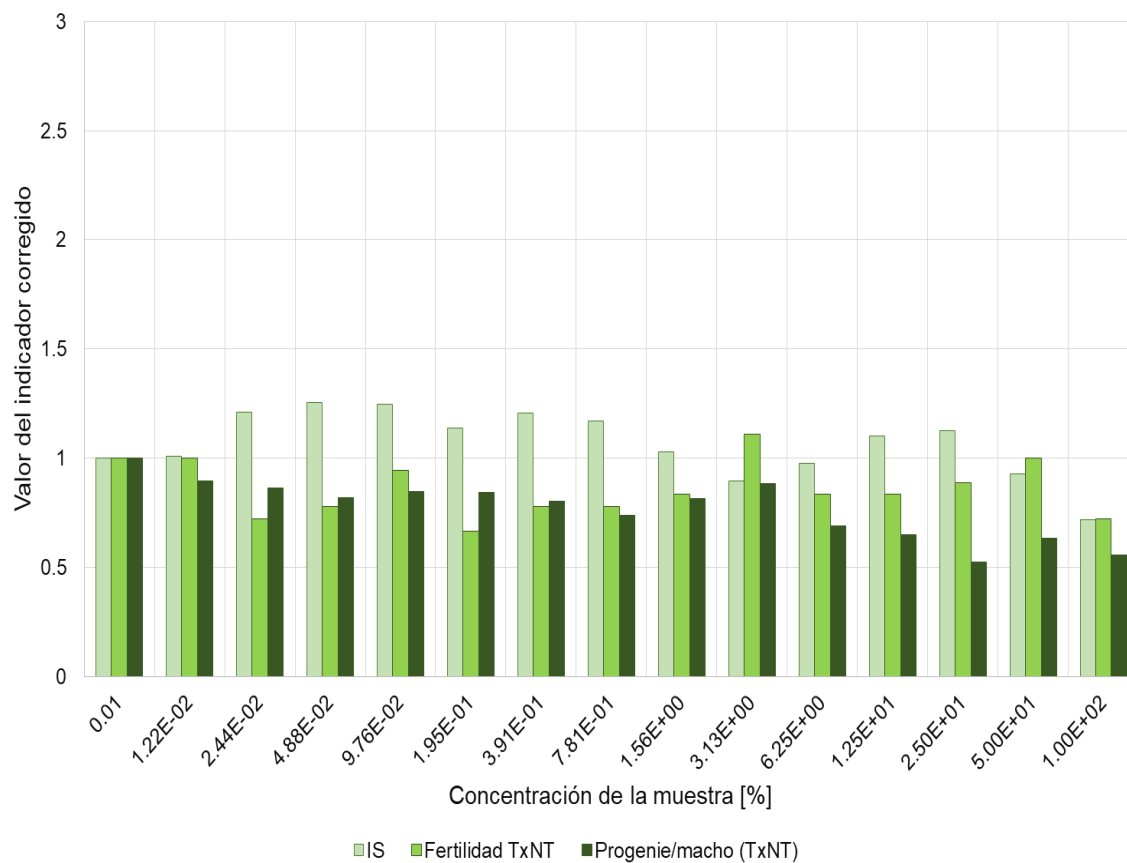


8.8. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras No Tratadas vs Machos Tratados



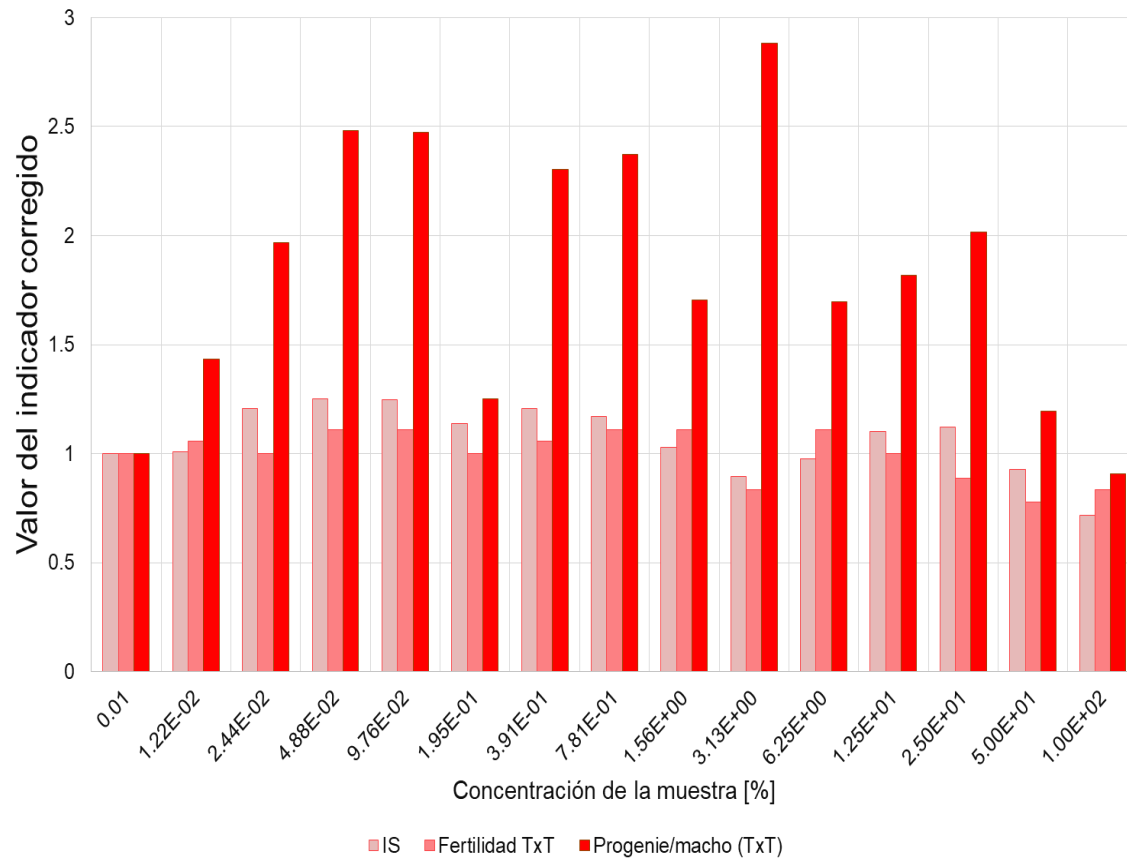
Gráfica 8. Índice de Supervivencia, Fertilidad y Progenie por Familia corregidas para la cruce de hembras no tratadas x machos expuestos a la muestra de suelo durante el desarrollo larvario (NTxT).

8.9. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras Tratadas vs Machos No Tratados



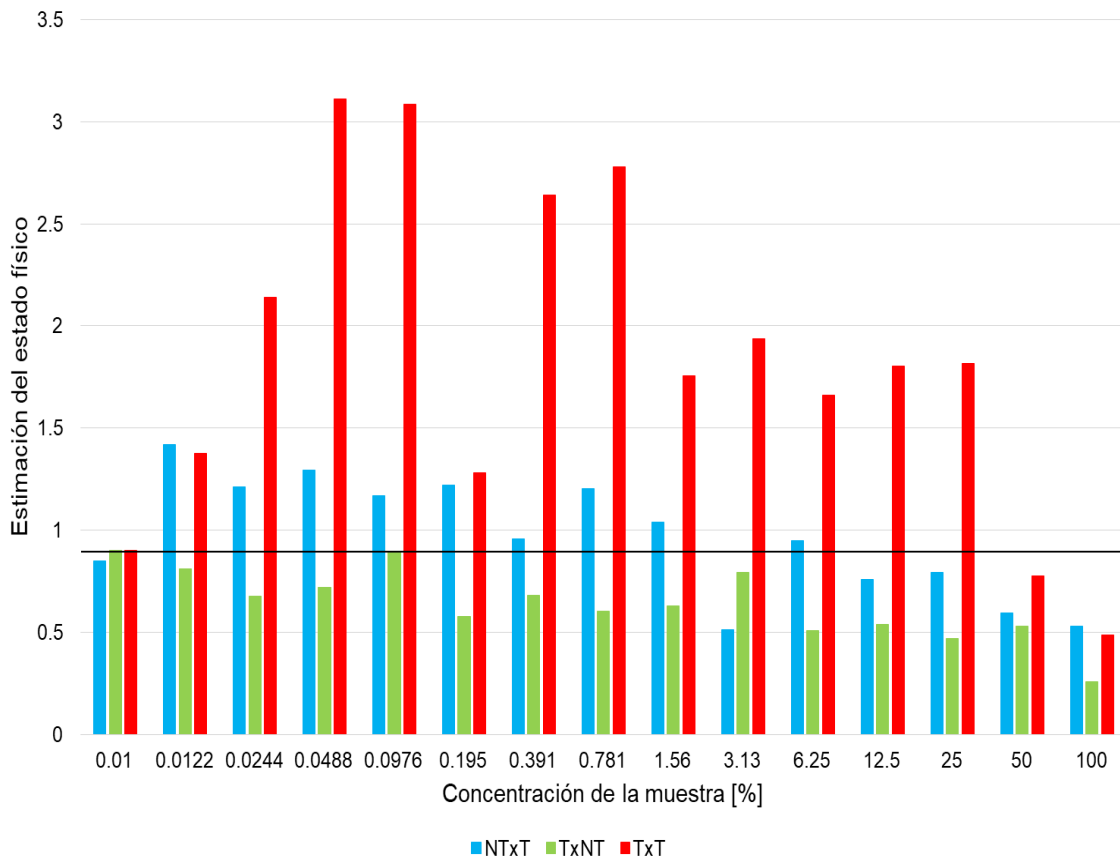
Gráfica 9. Índice de Supervivencia, Fertilidad y Progenie por familia corregidas para la cruce de hembras expuestas a la muestra de suelo durante el desarrollo larvario x machos no tratados (TxNT).

8.10. Supervivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia corregidas de la cruce de Hembras Tratadas vs Machos Tratados



Gráfica 10. Índice de Supervivencia, Fertilidad y Progenie por familia corregidas para la cruce de hembras y machos expuestos a la muestra ambiental durante el desarrollo larvario (TxT).

8.11. Estimación del Estado Físico y la Capacidad Reproductiva



Gráfica 11. Estimación del estado físico y la capacidad reproductiva de moscas expuestas a cromosomas durante el desarrollo larvario.

El análisis de la Estimación del Estado Físico de las moscas nos reflejó que la cruce donde se trataba solo a la hembra fue la que obtuvo resultados menor en general menor que el lote testigo, cuando se trató al macho los resultados fueron más cercanos al control y cuando se trataron a ambos progenitores se obtuvo valores mucho mayores que el lote testigo, sin embargo todos tendían a disminuir en las concentraciones altas.

9. DISCUSIÓN

La muestra de suelo que se utilizó en el presente trabajo se tomó tres décadas después de la clausura de la fábrica y solo de la parte superficial del suelo del pasillo externo al terreno de Cromatos. A pesar de las acciones realizadas por las autoridades gubernamentales tales como la realización del confinamiento y el retiro de los residuos, el análisis obtuvo concentraciones de cromo hexavalente cercanas al límite permitido en otros países como Gran Bretaña. Los límites máximos permisibles establecidos en México son basados en estudios de otros países, sin embargo estos pueden tener valores muy diferentes como el caso de Alemania (200 mg/kg) y Gran Bretaña (50 mg/kg) por lo que se debe considerar las condiciones de la zona, el efecto en sus habitantes, así como sus actividades y costumbres para valorar realmente los riesgos en la población.

En el caso de la colonia Lechería, las casas y comercios se encuentran enfrente del terreno de Cromatos y solo los separa una barda la cual no es suficiente para contener los residuos con cromo hexavalente. Los vientos continúan arrastrando el suelo de las partes que aún están expuestas a la superficie por lo que la gente se encuentra susceptible a una exposición cutánea, respiratoria y digestiva. Las filtraciones y capilaridad del agua con componentes del suelo también contienen los residuos de cromo llegando a estar en contacto directo con las personas. Todas las condiciones actuales de la zona, nos indican que la población en general se encuentra aún expuesta al cromo hexavalente y por ende se encuentra en riesgo, sin embargo ante las autoridades las actividades para contrarrestar este problema ya están concluidas.

9.1. Efecto de los tratamientos en la Supervivencia

Las fluctuaciones en la supervivencia de los organismos expuestos la muestra de suelo, nos indica que *Drosophila melanogaster* detecta la presencia de los componentes de dicha muestra reflejándose en respuestas no lineales. El resultado nos permite observar un mayor efecto en la supervivencia conforme se aumenta la concentración, ya que se observa una tendencia a la disminución. Si se extrapola para el caso de la población que fue expuesta directamente a los residuos con cromo hexavalente a mayores concentraciones y durante tiempos más prolongados nos da una alerta de los daños que presentó la población expuesta y sus progenitores lo cual se reflejó en un incremento en las enfermedades respiratorias, cáncer y daños en la piel. A pesar de que actualmente no se exceden los límites máximos permisibles, el tiempo de exposición es muy alto ya que diario las personas conviven y trabajan en la zona.

Los tratamientos experimentales pudieron generar estrés en los individuos ya que ocasionó fluctuaciones en la sobrevivencia de los organismos expuestos. De acuerdo a Breazile (1988) se le llama disestrés ya que alteró la homeostasis de los organismos.

La presencia del cromo hexavalente en la muestra de suelo pudo generar una respuesta de desintoxicación. En el caso de *D. melanogaster* expresa genes como los de las metalotioneínas para llevar a cabo dicho proceso. Esto conlleva a un estado metabólico distinto que se puede observar en las variaciones de la sobrevivencia (Ramos, 1994). Durante este proceso de desintoxicación del cromo hexavalente contenido en la muestra de suelo, se pudo presentar un posible daño al material genético ya que es un mutágeno comprobado el cual lo podemos observar al analizar los resultados de los indicadores utilizados.

9.2. Proporción Sexual

El efecto de las diferentes concentraciones de la muestra de suelo afectó por igual a hembras y machos ya que no se observa una distinción entre cada sexo. Para todos los tratamientos se observó que existía un aumento o disminución de los resultados en los indicadores utilizados (Sobrevivencia, Fertilidad y Progenie Promedio por Familia) pero la proporción se mantenía constante, por lo que se descartó que algún sexo sea más susceptible a sufrir daños por el contenido de la muestra.

9.3. Efecto del tratamiento en la progenie

Se ha comprobado en diferentes especies tales como ratas y ratones, que los factores ambientales pueden inducir alteraciones epigenéticas en las células germinales si son expuestos en ventanas críticas del desarrollo y que pueden ser heredadas (herencia epigenética transgeneracional), es decir, si se expone al organismo a factores ambientales durante puntos importantes del desarrollo, tales como la determinación sexual o gametogénesis, el efecto o daño continúa en las siguientes generaciones sin estar expuesto al factor ambiental (Hanson y Skinner, 2016). En el caso de los trabajadores y pobladores de la zona contaminada por los residuos de la empresa de Cromatos, pudieron presentar daños en sus células germinales y heredarlas. Actualmente estaríamos en la tercera generación por lo que valdría la pena realizar investigaciones de la salud tales como síndromes, malformaciones, abortos y demás aspectos reproductivos de los habitantes que hoy residen en la zona, así como de personas que crecieron y se fueron de la zona ya que pudieron presentar un daño en sus células germinales y tener problemas de fertilidad o efectos en su descendencia.

La exposición de los progenitores durante la etapa de larva a la muestra de suelo con cromo VI, pudo alterar procesos reproductivos, los cuales se reflejaron en alteraciones en

la fertilidad y la progenie dependiendo de las concentraciones y el tipo de parental expuesto.

9.4. Fertilidad y Progenie Promedio por Familia

La Fertilidad y la Progenie Promedio por Familia fueron indicadores muy importantes para conocer si existen alteraciones o efectos de los tratamientos en la reproducción de las moscas. Para las distintas cruza utilizadas en este trabajo se observaron fluctuaciones dependiendo del tipo de cruza y la concentración de la muestra de suelo, haciendo evidente el efecto en la reproducción cuando se trata a uno o a los dos progenitores.

La Fertilidad y la Progenie Promedio por Familia resultaron más afectadas cuando se trataba únicamente a la hembra. La muestra de suelo de Cromatos de México afectó la progenie cuando se trató a las hembras en las concentraciones mayores ($1.25E+01$, $2.50E+01$, $5.00E+01$ y $1.00E+02$). La hembra fue tratada en fase larvaria, el huevo completó su formación en contacto con el tóxico por lo que el daño es mayor que cuando se trata solo a los machos debido a que el huevo contiene las proteínas de las que se nutrirá el embrión en las primeras etapas y la maquinaria utilizada para su desarrollo (herencia materna), por lo que las repercusiones en el huevo se hacen evidentes. Un óvulo dañado no puede ser reemplazado tan fácilmente como en el caso de los espermatozoides. Cuando existen daños en el huevo o en el espermatozoide presentes en la hembra después del apareamiento, la maquinaria del huevo detectará los errores en el ADN, sin embargo, si esta maquinaria está dañada o alterada no podrá corregirlo (Marchetti *et al*, 2015) y por tanto habrá menos fertilidad y progenie por familia. Los óvulos expuestos a la muestra en la etapa larvaria se encontraban inmaduros por lo que en su desarrollo ya habían sido afectados, dejando como consecuencia mayor número de óvulos inviables reflejándose en menor Fertilidad y Progenie, y se amplificó el efecto conforme aumentó la concentración.

Cuando se trató únicamente al macho las células posiblemente afectadas son los espermatozoides primarios ($2n$, $2c$) los cuales se encuentran a partir del segundo estadio larvario y que en el estado de pupa pasarán por la meiosis I para producir los espermatozoides secundarios (Gilbert, 2005; Schowalter, 2009). El espermatozoide aporta menor cantidad de organelos para el desarrollo del embrión, aunado a ello, si el tóxico afecta a un espermatozoide de tal manera que lo deje inviable, éste puede ser reemplazado por otro viable. Cuando el espermatozoide sufre daño en el ADN como mutaciones o aberraciones cromosómicas y no son reparados en el macho, estas lesiones llegarán al cigoto donde podrían ser reparadas utilizando la maquinaria de la célula femenina, por lo que no se genera infertilidad y se desarrolla la progenie, pero también cabe la posibilidad de que se generen aberraciones cromosómicas estructurales como

consecuencia del proceso de reparación (Marchetti *et al*, 2015). El espermatozoide afectado puede ser reparado, pero también otros factores asociados pueden incidir en el funcionamiento de las hembras. En las concentraciones más bajas los espermatozoides pudieron causar alteraciones en la hembra obteniendo una mayor progenie. Se ha determinado que proteínas presentes en el líquido seminal (Acp's) estimulan la maduración de huevos (Ravi-Ram y Wolfner, 2007), por lo que la presencia de los componentes de la muestra de suelo, tales como el cromo VI, pueden ocasionar alteraciones en dicha estimulación en la hembra obteniendo una mayor o menor maduración de huevos. En anteriores trabajos se ha encontrado este efecto en *Drosophila sp* (Ledezma, 2006).

Cuando se trataron a ambos progenitores, se tuvo un efecto en las gónadas de ambos progenitores, por lo que se suma el impacto en el macho y en la hembra que a bajas concentraciones no generan letalidad, pero presentan cierto estrés que puede activar genes o mecanismos de desintoxicación generando una respuesta metabólica que contrarresta daños que normalmente no lo harían, tales efectos se ven reflejados en modificaciones en la fertilidad y progenie, que en este caso son mayores que el lote testigo.

Las proteínas presentes en el líquido seminal (Acp) producen cambios fisiológicos en las hembras (Ravi-Ram y Wolfner, 2007), en este caso dichas proteínas han sido producidas bajo el estrés de los químicos de la muestra ambiental (cromo hexavalente) sumado al estrés de la hembra. *Drosophila melanogaster* guarda esperma en el receptáculo seminal y en las espermatecas (Pitnick *et al.*, 1999). La reducción de la cantidad de esperma almacenado depende de la tasa de ovulación y la cantidad de esperma liberado por cada ovulación (Hurtado, 2014). El esperma proveniente del progenitor expuesto al tratamiento es almacenado en dichos órganos de la hembra que también fue tratada con la muestra ambiental, la suma de las distintas alteraciones se refleja en mayor producción de progenie por familia.

En la Fertilidad y la Progenie por familia resultantes de la cruce de ambos progenitores tratados pareciera que la muestra ambiental favorece la reproducción ya que en ambos indicadores a bajas concentraciones las respuestas son mayores que el testigo, sin embargo, también tienden a ser menores en las concentraciones altas.

Si obtuvimos efectos en la progenie al tratar a las moscas con concentraciones actuales y se tienen reportado en trabajos anteriores que existe actividad clastogénica en células germinales de la mosca *Drosophila* cuando es tratada con concentraciones bajas de cromo VI (0.07 ppm) (Ledezma, 2006), nos denota la importancia del seguimiento del estudio del área para ver el riesgo constante al que están sometidos los habitantes de la zona

circundante de Cromatos de México, poniendo mayor énfasis en las mujeres ya que en ellas se podría reflejar en mayor magnitud tales efectos como por ejemplo el aspecto reproductivo.

La concentración $3.13E+00$ es un punto intermedio que resulta con distintas alteraciones ya que se observa el cambio de respuesta entre concentraciones menores y mayores. Esta concentración presentó el promedio de número de hijos por familia más alto (Tabla 3) y tuvo diferencias significativas en la progenie promedio por familia con respecto al testigo. Esta concentración nos muestra respuestas no monótonas o lineales donde se observa el decaimiento con la concentración ya que es una concentración media, además nos puede indicar que la exposición a dosis bajas o medias es suficiente para alterar las funciones en los individuos apagando o encendiendo genes o rutas metabólicas que tienen como consecuencias efectos en la reproducción.

En el análisis del Estado Físico de las moscas se observan las diferentes respuestas de las distintas cruza las cuales no son reflejadas en su totalidad en las pruebas estadísticas, lo que conlleva a la necesidad de nuevas herramientas y métodos estadísticos más sensibles que permitan identificar tales diferencias.

De acuerdo a las características del cromo hexavalente tales como ser mutagénico, clastogénico y carcinogénico en distintas especies de bacterias y mamíferos, así como el efecto en la reproducción reportado en ratones y en el presente trabajo, se hace una invitación a reforzar los estudios para conocer si es capaz de alterar el equilibrio fisiológico hormonal de los organismos y verificar que esta sustancia es un disruptor endócrino.

En la figura 12 se muestran las posibles vías de afectación involucradas en el evento genético terminal analizado, en este caso, el efecto reprotóxico del cromo contenido en la muestra ambiental externa a Cromatos de México.

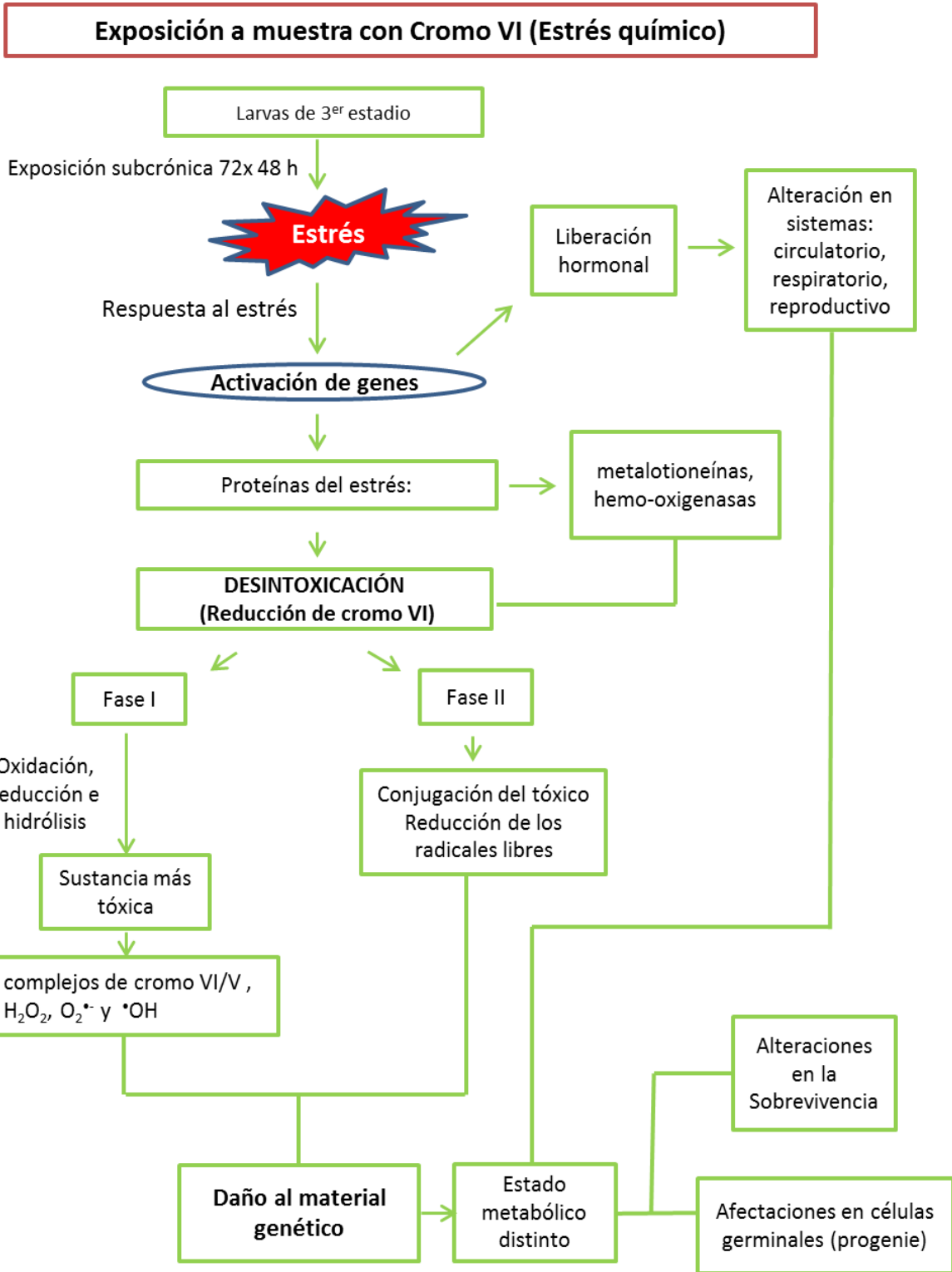


Fig. 12. Esquema de las posibles vías de afectación involucradas en el evento genético terminal analizado (el efecto reprotóxico del cromo contenido en la muestra ambiental externa a Cromatos de México).

10. CONCLUSIONES

- La cantidad de Cromo hexavalente no rebasa los límites máximos permisibles para suelo permitido por la EPA, no obstante, se registraron efectos biológicos en las concentraciones probadas.
- El modelo biológico de *Drosophila melanogaster* detecta la presencia de los componentes tóxicos (cromo hexavalente) de la muestra de suelo generando respuestas no lineales en los indicadores utilizados en este trabajo
- El contenido del suelo de Cromatos no afecta de manera significativa la sobrevivencia de *Drosophila melanogaster*.
- El contenido del suelo de Cromatos afecta por igual a hembras y machos.
- El suelo de Cromatos genera un efecto negativo en la actividad reproductiva de *D. melanogaster* el cual se manifiesta en alteraciones en la Fertilidad y Progenie por familia.
- Existen fluctuaciones en los valores de respuesta de la Fertilidad y Progenie Promedio por familia, sin embargo se observó una tendencia hacia un efecto negativo conforme se aumenta la concentración.
- Existen concentraciones intermedias que pueden alterar la homeostasis de los organismos, como la concentración $3.13E+00$ la cual presentó un efecto significativo en la progenie.
- La muestra de suelo afectó significativamente la progenie cuando se trató únicamente a las hembras con las concentraciones más altas.
- Cuando se trataron a ambos progenitores se observó un aumento en la Fertilidad y la Progenie Promedio por familia en concentraciones intermedias.

- La presencia de cromo hexavalente en toda la zona sigue siendo un riesgo para la población ya que la cantidad de residuos generada por la fábrica abarca el terreno de Cromatos, los mantos freáticos y los suelos de las calles de la zona para los cuales no se han tomado acciones que prevengan la exposición de los habitantes. Solo se han realizado acciones para descontaminar el terreno de la fábrica, sin embargo la escuela cerrada y pasillos continúan expuestos al ambiente, a esto se suma la cercanía de las casas y comercios que se encuentran a unos metros del sitio.
- El suelo presente en los terrenos de Cromatos de México y alrededores a éste puede provocar un efecto tóxico en las poblaciones humanas, específicamente en el aspecto reproductivo por lo que es necesario dar continuidad al estudio del área después del traslado de los materiales confinados, así como el efecto en las generaciones sucesivas de los habitantes actuales y los que ya no residen en la zona.
- Es necesario la implementación de métodos y herramientas estadísticas más sensibles para detectar las diferencias en las respuestas de los modelos biológicos.

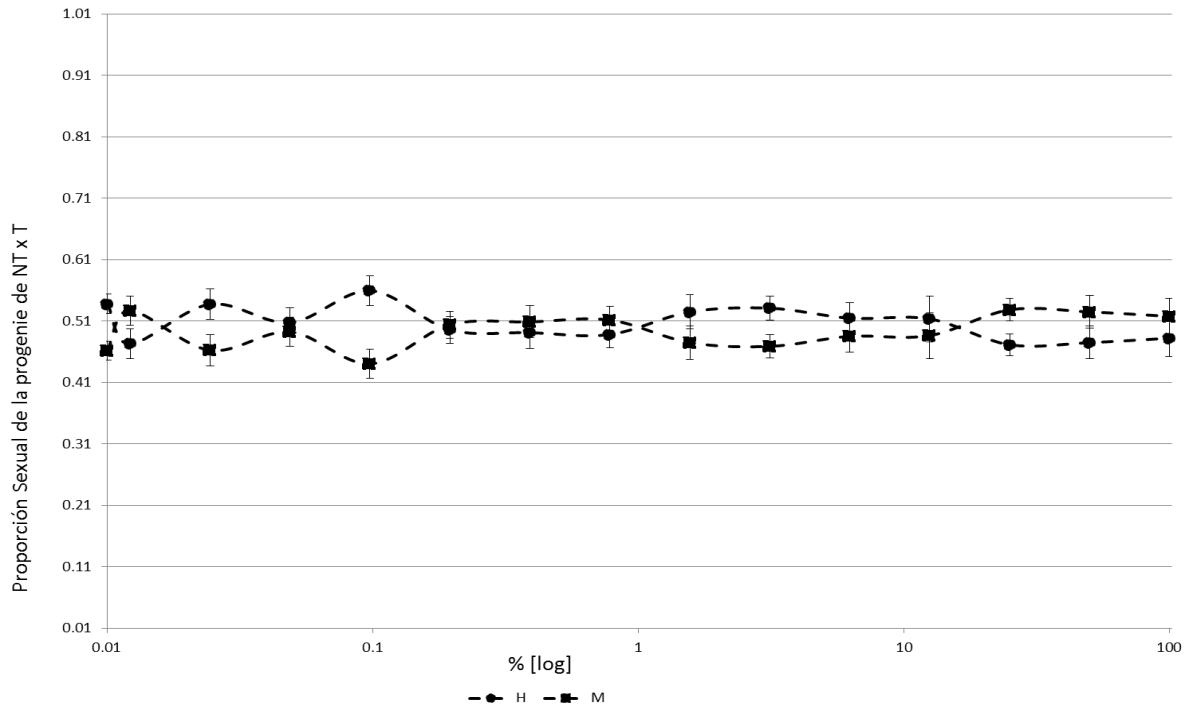
11. ANEXOS

Anexo 1. Indicadores corregidos

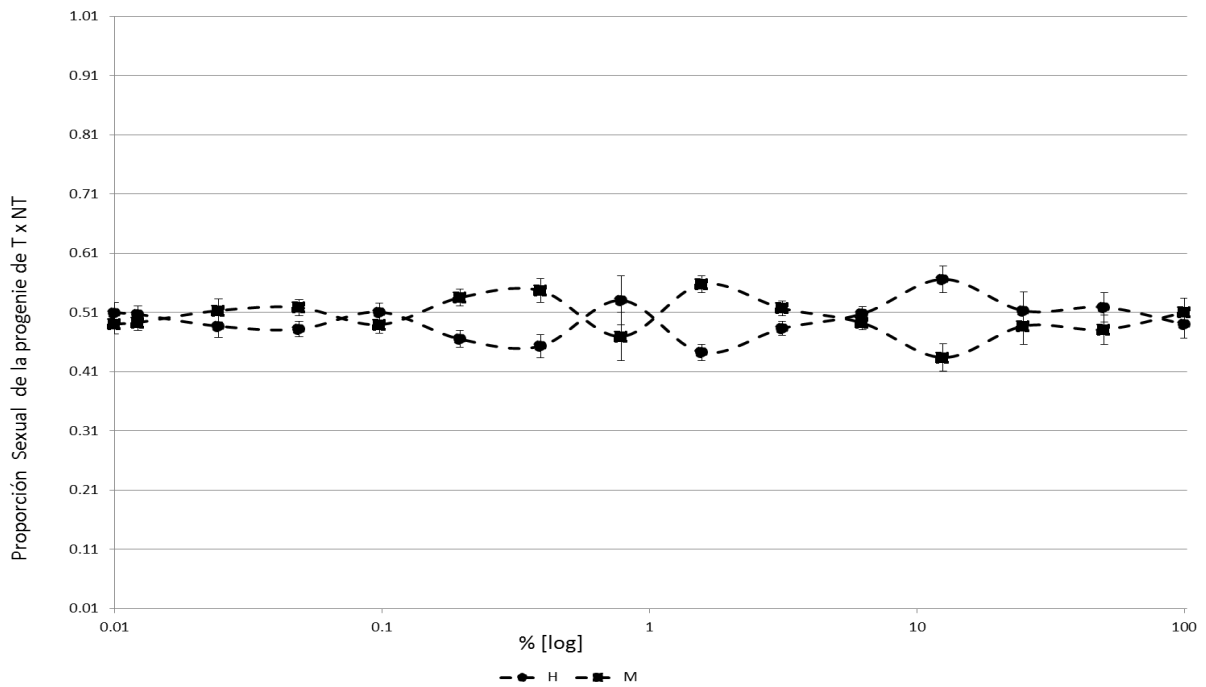
Fertilidad corregida			
[%]	TxT	NT x T	T x NT
Testigo	1.000	1.00	1.00
1.22E-02	1.056	1.12	1.00
2.44E-02	1.000	1.00	0.72
4.88E-02	1.111	1.00	0.78
9.76E-02	1.111	0.94	0.94
1.95E-01	1.000	1.06	0.67
3.91E-01	1.056	0.82	0.78
7.81E-01	1.111	1.12	0.78
1.56E+00	1.111	1.00	0.83
3.13E+00	0.833	0.88	1.11
6.25E+00	1.111	1.12	0.83
1.25E+01	1.000	1.12	0.83
2.50E+01	0.889	1.00	0.89
5.00E+01	0.778	1.06	1.00
1.00E+02	0.833	1.00	0.72

Progenie Promedio por Familia corregida			
[%]	TXT	NTXT	TXNT
Testigo	1.00	1.00	1.00
1.22E-02	1.51	1.66	0.89
2.44E-02	1.97	1.18	0.62
4.88E-02	2.76	1.22	0.64
9.76E-02	2.75	1.10	0.75
1.95E-01	1.25	1.26	0.56
3.91E-01	2.43	0.93	0.63
7.81E-01	2.64	1.21	0.57
1.56E+00	1.89	1.19	0.68
3.13E+00	2.40	0.67	0.98
6.25E+00	1.89	1.14	0.58
1.25E+01	1.82	0.81	0.54
2.50E+01	1.79	0.83	0.46
5.00E+01	0.93	0.75	0.63
1.00E+02	0.76	0.87	0.40

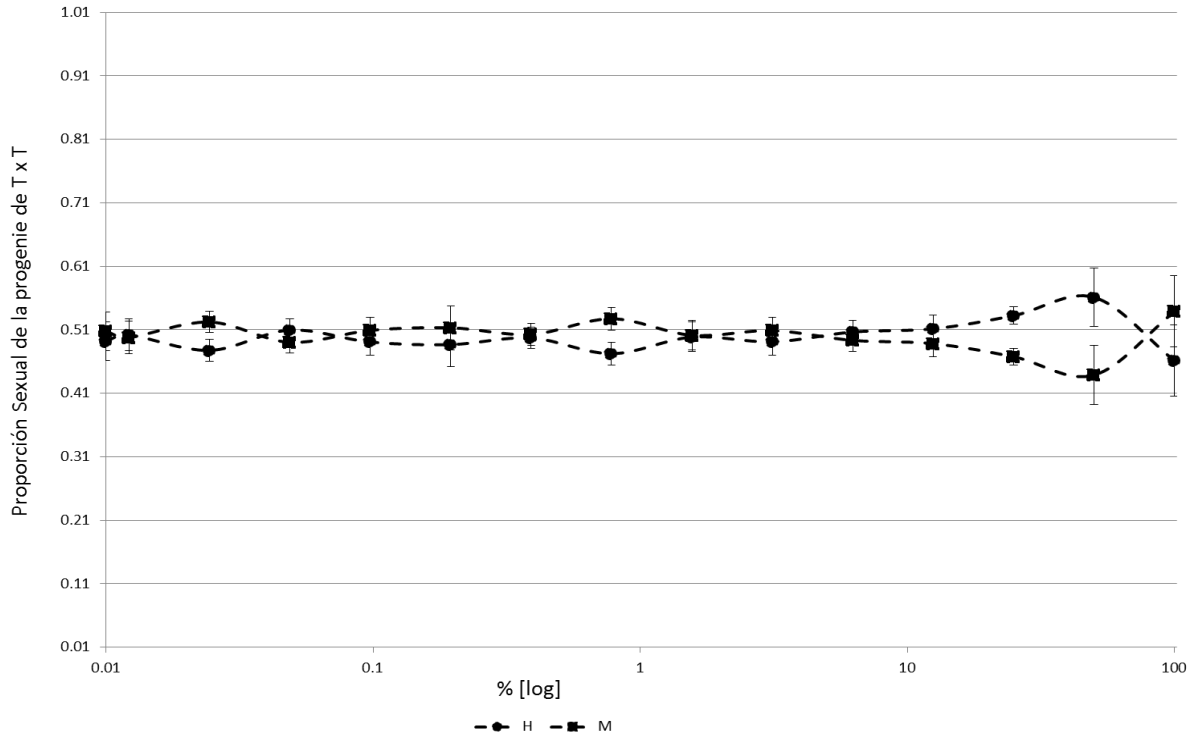
Anexo 2. Gráficas



Gráfica 1A. Proporción sexual (Promedio) de la progenie de la cruz de hembras no tratadas con machos tratados (NTxT) con la muestra ambiental de Cromatos de México.



Gráfica 2A. Proporción Sexual (Promedio) de la progenie de la cruz de hembras tratadas con machos no tratados (TxNT) con la muestra ambiental de Cromatos de México.



Gráfica 3A. Proporción Sexual (Promedio) de la progenie de hembras y machos tratados (TxT) con la muestra ambiental de Cromatos de México

Anexo 3. Análisis estadísticos

3.1. Análisis estadísticos de Supervivencia de individuos expuestos a la muestra de Cromatos de México.

Cuadro 1A. ANOVA de una vía ($\alpha=0.05$). No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia de los individuos expuestos a la muestra de Cromatos de México en las distintas concentraciones comparadas con el control (lote testigo: 0.01) (GraphPad Prism 7, 2017).

ANOVA summary	
F	1.347
P value	0.1928
P value summary	ns
Significant diff. among means (P < 0.05)?	No
R square	0.1523

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	5212	14	372.3	F (14, 105) = 1.347	P=0.1928
Residual (within columns)	29010	105	276.3		
Total	34222	119			

Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary
0.01 vs. 0.0122	-0.375	-24.16 to 23.41	No	ns
0.01 vs. 0.0244	-9.5	-33.28 to 14.28	No	ns
0.01 vs. 0.0488	-11.5	-35.28 to 12.28	No	ns
0.01 vs. 0.0976	-11.25	-35.03 to 12.53	No	ns
0.01 vs. 0.1953	-6.25	-30.03 to 17.53	No	ns
0.01 vs. 0.3906	-9.375	-33.16 to 14.41	No	ns
0.01 vs. 0.7812	-7.75	-31.53 to 16.03	No	ns
0.01 vs. 1.5625	-1.375	-25.16 to 22.41	No	ns
0.01 vs. 3.125	4.75	-19.03 to 28.53	No	ns
0.01 vs. 6.25	1	-22.78 to 24.78	No	ns
0.01 vs. 12.5	-4.625	-28.41 to 19.16	No	ns
0.01 vs. 25	-5.625	-29.41 to 18.16	No	ns
0.01 vs. 50	3.25	-20.53 to 27.03	No	ns
0.01 vs. 100	12.88	-10.91 to 36.66	No	ns

3.2. Análisis estadísticos de Proporción Sexual de individuos expuestos a Cromatos de México

Cuadro 2A. ANOVA de una vía (factor sexo con $\alpha=0.05$). No se encontraron diferencias significativas en los lotes testigos con el control, el valor obtenido de F es menor que el valor crítico de F (GraphPad Prism 7, 2017).

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant?
Interaction	0.9173	0.9998	Ns	No
Row Factor	1.022	0.1142	Ns	No

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
				F (14, 210) =	
Interaction	187.6	14	13.4	0.1613	P=0.9998
Row Factor	209.1	1	209.1	F (1, 210) = 2.517	P=0.1142
Column Factor	2606	14	186.1	F (14, 210) = 2.241	P=0.0075
Residual	17445	210	83.07		

Sidak's multiple comparisons test hembras - Machos	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
0.01	3.25	-10.25 to 16.75	No	Ns	>0.9999
0.0122	1.375	-12.12 to 14.87	No	Ns	>0.9999
0.0244	1.25	-12.25 to 14.75	No	Ns	>0.9999
0.0488	4	-9.496 to 17.5	No	Ns	0.9993
0.0976	3.5	-9.996 to 17	No	Ns	0.9998
0.1953	5	-8.496 to 18.5	No	Ns	0.9918
0.3906	0.375	-13.12 to 13.87	No	Ns	>0.9999
0.7812	0.75	-12.75 to 14.25	No	Ns	>0.9999
1.5625	3.375	-10.12 to 16.87	No	Ns	>0.9999
3.125	1.25	-12.25 to 14.75	No	Ns	>0.9999
6.25	-0.75	-14.25 to 12.75	No	Ns	>0.9999
12.5	3.875	-9.621 to 17.37	No	Ns	0.9995
25	1.125	-12.37 to 14.62	No	Ns	>0.9999
50	-1	-14.5 to 12.5	No	Ns	>0.9999
100	0.625	-12.87 to 14.12	No	Ns	>0.9999

3.3. Análisis estadísticos de la progenie

Se realizó el análisis estadístico Anova de un factor (factor progenie, $\alpha=0.05$) para cada tipo de cruce obtenido lo siguiente:

Cruza NTXT.

Cuadro 3A. No se encontraron diferencias significativas en Progenie en las diferentes concentraciones respecto al lote testigo (GraphPad Prism 7, 2017).

ANOVA summary	
F	1.566
P value	0.0893
P value summary	ns
Significant diff. among means (P < 0.05)?	No
R square	0.08246

Cruza TXNT.

Cuadro 4A. Se encontraron diferencias significativas en Fecundidad con respecto al lote testigo en las concentraciones 12.5, 25, 50 y 100 (GraphPad Prism 7, 2017).

ANOVA summary	
F	2.742
P value	0.001
P value summary	***
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R square	0.1539

Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?
0.01 vs. 0.0122	8.556	-15.58 to 32.69	No
0.01 vs. 0.0244	19.5	-7.484 to 46.48	No
0.01 vs. 0.0488	14.57	-11.23 to 40.37	No
0.01 vs. 0.0976	12.38	-12.11 to 36.87	No
0.01 vs. 0.1953	12.5	-14.48 to 39.48	No
0.01 vs. 0.3906	15.79	-10.02 to 41.59	No
0.01 vs. 0.7812	21.07	-4.73 to 46.87	No
0.01 vs. 1.5625	14.77	-10.55 to 40.08	No
0.01 vs. 3.125	9.25	-14.27 to 32.77	No
0.01 vs. 6.25	24.9	-0.4131 to 50.21	No
0.01 vs. 12.5	28.17	2.854 to 53.48	Yes
0.01 vs. 25	41.05	13.34 to 68.76	Yes
0.01 vs. 50	29.44	5.309 to 53.58	Yes
0.01 vs. 100	35.88	9.531 to 62.24	Yes

Cruza TXT.

Cuadro 5A. El resultado de la Anova de una vía muestra que existen diferencias en la Fecundidad entre las concentraciones y el lote testigo, específicamente en la concentración 3.125 (GraphPad Prism 7, 2017).

ANOVA summary

F	3.785
P value	<0.0001
P value summary	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R square	0.1715

Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?
0.01 vs. 0.0122	3.263	-19.63 to 26.16	No
0.01 vs. 0.0244	-8.044	-31.25 to 15.17	No
0.01 vs. 0.0488	-19.06	-41.67 to 3.545	No

0.01 vs. 0.0976	-18.86	-41.47 to 3.745	No
0.01 vs. 0.1953	7.178	-16.03 to 30.39	No
0.01 vs. 0.3906	-15.21	-38.1 to 7.683	No
0.01 vs. 0.7812	-16.71	-39.32 to 5.895	No
0.01 vs. 1.5625	-2.461	-25.07 to 20.14	No
0.01 vs. 3.125	-27.54	-51.92 to -3.172	Yes
0.01 vs. 6.25	-2.311	-24.92 to 20.29	No
0.01 vs. 12.5	-4.933	-28.14 to 18.28	No
0.01 vs. 25	-9.148	-33.09 to 14.79	No
0.01 vs. 50	8.361	-16.49 to 33.21	No
0.01 vs. 100	14.46	-9.916 to 38.83	No

3.4. Análisis estadístico para la Fertilidad

Cuadro 6A. Valores obtenidos de la prueba de Z para dos proporciones independientes para cada tipo de cruce (valor crítico: $\alpha/2= 1.96$). No se encuentran diferencias significativas.

[%]	NTxT	TxNT	TxT
Testigo	0.0000	-0.4653	0.0000
1.22E-02	-1.0405	-0.4653	-0.5926
2.44E-02	0.0000	1.2965	0.0000
4.88E-02	0.0000	1.0308	-1.4510
9.76E-02	0.3923	0.0000	-1.4510
1.95E-01	-0.4653	1.5333	0.0000
3.91E-01	1.0308	1.0308	-0.5926
7.81E-01	-1.0405	1.0308	-1.4510
1.56E+00	0.0000	0.7319	-1.4510
3.13E+00	0.7319	-1.8009	1.1558
6.25E+00	-1.0405	0.7319	-1.4510
1.25E+01	-1.0405	0.7319	0.0000
2.50E+01	0.0000	0.3923	0.8350
5.00E+01	-0.4653	-0.4653	1.4349
1.00E+02	0.0000	1.2965	1.1558

3.5. Análisis estadístico de Proporción Sexual de la progenie

Cuadro 7A. Anova de dos vías ($\alpha=0.05$) para analizar la Proporción Sexual de la progenie de la cruce **NT x T** (GraphPad Prism 7, 2017). No se obtuvieron diferencias significativas.

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant?
Interaction	0.2166	>0.9999	Ns	No
Row Factor	0.04859	0.5864	Ns	No

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	190.2	14	13.58	F (14, 570) = 0.09437	P>0.9999
Row Factor	42.67	1	42.67	F (1, 570) = 0.2964	P=0.5864
Column Factor	5533	14	395.2	F (14, 570) = 2.746	P=0.0006
Residual	82047	570	143.9		

Sidak's multiple comparisons test hembras - machos	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
0.01	1.75	-9.405 to 12.9	No	ns	>0.9999
0.0122	-1.45	-12.6 to 9.705	No	ns	>0.9999
0.0244	1.55	-9.605 to 12.7	No	ns	>0.9999
0.0488	-0.25	-11.4 to 10.9	No	ns	>0.9999
0.0976	1.7	-9.455 to 12.85	No	ns	>0.9999
0.1953	-0.55	-11.7 to 10.6	No	ns	>0.9999
0.3906	-0.5	-11.65 to 10.65	No	ns	>0.9999
0.7812	0.15	-11 to 11.3	No	ns	>0.9999
1.5625	0.6	-10.55 to 11.75	No	ns	>0.9999
3.125	3.2	-7.955 to 14.35	No	ns	0.9995
6.25	0.75	-10.4 to 11.9	No	ns	>0.9999
12.5	0.15	-11 to 11.3	No	ns	>0.9999
25	0.2	-10.95 to 11.35	No	ns	>0.9999
50	-0.25	-11.4 to 10.9	No	ns	>0.9999
100	0.95	-10.2 to 12.1	No	ns	>0.9999

Cuadro 8A. Anova de dos vías ($\alpha=0.05$) para analizar la Proporción Sexual de la progenie de la cruce **T x NT** (GraphPad Prism 7, 2017). No se obtuvieron diferencias significativas.

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant?
Interaction	0.3287	0.9999	Ns	No
Row Factor	0.05928	0.5348	Ns	No

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	634.4	14	45.31	F (14, 570) = 0.1528	P=0.9999
Row Factor	114.4	1	114.4	F (1, 570) = 0.3857	P=0.5348
Column Factor	23165	14	1655	F (14, 570) = 5.578	P<0.0001
Residual	169081	570	296.6		

Sidak's multiple comparisons test hembras - machos	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
0.01	0.45	-15.56 to 16.46	No	ns	>0.9999
0.0122	1.25	-14.76 to 17.26	No	ns	>0.9999
0.0244	-1.45	-17.46 to 14.56	No	ns	>0.9999
0.0488	-1.65	-17.66 to 14.36	No	ns	>0.9999
0.0976	1.3	-14.71 to 17.31	No	ns	>0.9999
0.1953	-2.8	-18.81 to 13.21	No	ns	>0.9999
0.3906	-2.5	-18.51 to 13.51	No	ns	>0.9999
0.7812	-1	-17.01 to 15.01	No	ns	>0.9999
1.5625	-5.4	-21.41 to 10.61	No	ns	0.9971
3.125	-3.35	-19.36 to 12.66	No	ns	>0.9999
6.25	0.1	-15.91 to 16.11	No	ns	>0.9999
12.5	3.05	-12.96 to 19.06	No	ns	>0.9999
25	-0.55	-16.56 to 15.46	No	ns	>0.9999
50	0.55	-15.46 to 16.56	No	ns	>0.9999
100	-1.1	-17.11 to 14.91	No	ns	>0.9999

Cuadro 9A. Anova de dos vías ($\alpha=0.05$) para analizar la Proporción Sexual de la progenie de la cruce **T x T** (GraphPad Prism 7, 2017). No se obtuvieron diferencias significativas.

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant?
Interaction	0.2741	>0.9999	ns	No
Row Factor	0.00329	0.8858	ns	No

ANOVA table	SS (Type III)	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	285.1	14	20.36	F (14, 510) = 0.1229	P>0.9999
Row Factor	3.421	1	3.421	F (1, 510) = 0.02065	P=0.8858
Column Factor	19208	14	1372	F (14, 510) = 8.282	P<0.0001
Residual	84491	510	165.7		

Sidak's multiple comparisons test hembras - machos	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
0.01	-0.3889	-13.01 to 12.23	No	ns	>0.9999
0.0122	-0.7368	-13.02 to 11.55	No	ns	>0.9999
0.0244	-2.056	-14.68 to 10.57	No	ns	>0.9999
0.0488	-0.65	-12.62 to 11.32	No	ns	>0.9999
0.0976	0.65	-11.32 to 12.62	No	ns	>0.9999
0.1953	0.8333	-11.79 to 13.45	No	ns	>0.9999
0.3906	0.3684	-11.92 to 12.65	No	ns	>0.9999
0.7812	-3.5	-15.47 to 8.473	No	ns	0.9994
1.5625	0.55	-11.42 to 12.52	No	ns	>0.9999
3.125	1.733	-12.09 to 15.56	No	ns	>0.9999
6.25	1.3	-10.67 to 13.27	No	ns	>0.9999
12.5	1.389	-11.23 to 14.01	No	ns	>0.9999
25	2.188	-11.2 to 15.57	No	ns	>0.9999
50	0.8571	-13.45 to 15.17	No	ns	>0.9999
100	-0.1333	-13.96 to 13.69	No	ns	>0.9999

3.6. Análisis estadístico de la progenie para el tipo de craza

Cuadro 10A. Anova de una vía ($\alpha=0.05$) para el tipo de craza, el resultado mostró que existen diferencias entre cada tipo de craza (GraphPad Prism 7, 2017).

ANOVA summary	
F	93.64
P value	<0.0001
P value summary	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R square	0.1979

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
TXT vs. NTXT	9.009	3.819 to 14.2	Yes	***	0.0001
TXT vs. TXNT	-21.75	-27.1 to -16.41	Yes	****	<0.0001
NTXT vs. TXNT	-30.76	-36.16 to -25.36	Yes	****	<0.0001

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y ELECTRÓNICAS

- Adams, M. D., S. E. Celniker, R. A. Holt.** 2000. "The genome sequence of *Drosophila melanogaster*" *Science* 287(5461): 2185-95.
- Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA).** 2006. Departamento de trabajo de Estados Unidos. Cromo hexavalente.
- Agencia de Protección Ambiental.** 1999. Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS) de cromo VI. Centro Nacional para la Evaluación Ambiental de la Oficina de Investigación y Desarrollo, Washington, DC.
- Agencia de Protección Ambiental.** 1999. Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS) de cromo III . Centro Nacional para la Evaluación Ambiental de la Oficina de Investigación y Desarrollo, Washington, DC.
- Agencia de Protección Ambiental.** 2000. Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS) de cromo VI. Centro Nacional para la Evaluación Ambiental de la Oficina de Investigación y Desarrollo, Washington, DC
- Agencia de Protección Ambiental.** 2012. Sistema Integrado de Información de Riesgos (IRIS). Cromo (VI) (CASRN 18540-29-9) Centro Nacional para la Evaluación Ambiental de la Oficina de Investigación y Desarrollo, Washington, DC.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR).** 2016. *Reseña Toxicológica del Cromo.* Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR).** 1998. *Reseña Toxicológica del Cromo.* Salud Pública de EE.UU., EE.UU. Departamento de Salud y Servicios Humanos, Atlanta, GA.
- Albert, L. A.** 1997. Desarrollo sostenible. Sociedad Mexicana de Toxicología A. C. Veracruz. 227-246 pp.
- Albiano, N.** 2016. Toxicología laboral. Criterios para el monitoreo de la salud de los trabajadros expuestos a sustancias químicas peligrosas. Super Intendencia de Riesgo de Trabajo. Argentina. Pág. 39-46.

- Amrani S1, Rizki M, Creus A, Marcos R.** 1999. Genotoxic activity of different chromium compounds in larval cells of *Drosophila melanogaster*, as measured in the wing spot test. *Environ Mol Mutagen.* 1999;34(1):47-51.
- Anderson, R., Polansky, M. y Bryden, N.** 1983. Effects of chromium supplementation on urinary Cr excretion of human subjects and correlation of Cr excretion with selected clinical parámetros. *J Nutr* 113:276-281.
- Andrews J. and Oliver B.** 2001. Sex determination signals control ovo-B transcription in *Drosophila melanogaster* Germ Cells. *Genetics* 160: 537-545.
- Arellano, O.** 2002. *Drosophila* como modelo in vivo para evaluar el potencial genotóxico de muestras ambientales. Los Azufres, Mich. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 51 p.
- Atrian, S., K. Balamurugan, M. Capdevila, D. Egli, J. Domenech, O. Georgiev, H.Hua, W. Schaffner y A. Selvaraj.** 2006. The four members of the *Drosophila* metallothionein family exhibit distinct yet overlapping roles in heavy metal homeostasis and detoxification. *Gen Cel.*, 11(6):647-658. Banfalvi, G. Ed. 2011. *Cellular Effects of Heavy Metals.* Springer. New York. 348 pp.
- Banfalvi, G.** 2011. *Cellular Effects of Heavy Metals.* Institute of Biology and Ecology. University of Debrecen. 347 pp.
- Belmonte S., F., A. Romero D., F. Alonso S., J. Moreno B. y S. Rojo L.** 2010. Afecciones de suelos agrícolas por metales pesados en áreas limítrofes a explotaciones mineras del sureste de España. *Papeles de Geografía.* 51-52:45-54 pp.
- Blasco, J.** 1999. El uso de biomarcadores en contaminación marina. pp 67-76. En: González, M., J. A. Muñoz y C. Sarasquete (Eds). *Patología, Fisiología y Biotoxicología en especies acuáticas.* España. 290 pp.
- Borst-Pauwels, G. W. F. H.** 1981. Ion transport in yeast. *Biochim, Biophys. Acta* 650, 88-127 pp.
- Breazile, J. E.** 1988. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 4:441-479 pp.
- Calabrese, E.** 2014. Hormesis: a fundamental concept in biology. *Microbial Cell* 1(5): 145-149.
- Campbell, N. A. y J. B. Reece.** 2007. *Biología.* California. 7ª ed. 1532 pp.

- Castro, D.** 2006. Residuos peligrosos y cultura en México, el caso de intoxicación por cromo en Tultitlan. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Antropología e Historia. México. 70 pp.
- Castro, D.** 2009. A 30 años del cierre de Cromatos de México, 60 mil toneladas de residuos aun nos envenenan. La jornada ecológica. Disponible en: <http://www.jornada.unam.mx/2009/02/02/eco-c.html>
- Cespón, R.** 2007. Desarrollo de métodos analíticos automáticos para la determinación de metales en el medio ambiente laboral. Universidad Santiago de Compostela. España. 591 pp.
- Chyb, S. y N. Gompel.** 2013. Atlas of Drosophila Morphology. Wild-type and Classical Mutants. China. 200 pp.
- Codd R, Rillon CT, Levina A, Lay P.** 2001. Studies on the genotoxicity of chromium: from the test tube to the cell. *Coordination Chemistry Review* 216, 217 537–582.
- Colomina, T.** 2007. Disruptores endócrinos: efectos conductuales. Pp 233-242. En: Martínez, S. (Ed). Hormonas, estado de ánimo y función cognitiva. Universidad de Valencia.
- Connett, P. H. y Wetterhahn, K. E.** 1985. In vitro reaction of the carcinogen chromate with cellular thiols and carboxylic acids. *J. Am. Chem. Soc.*, 107:4282-4288
- Cruz-González, V.** 2009. Contaminación de agua potable por Cromo Hexavalente. Caso de estudio: colonia Lechería, municipio de Tultitlán, Estado de México. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 87 pp.
- Cuamatzi, O. y V. Melo.** 2007. Bioquímica de los procesos metabólicos. 2ª Ed. México. 409 pp.
- Cuberos E, Rodríguez A y Prieto E.** 2009. Niveles de Cromo y Alteraciones de Salud en una Población Expuesta a las Actividades de Curtiembres Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública.* v. 11, n. 2, ISSN 2539-3596.
- Cuervo, M.** 2009. Estudio funcional del gen pelota. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Galicia, España. 204 pp.
- Curtis, H., N. S. Barnes, A. Schnek y A. Massarini.** 2008. *Biología.* 7ª ed. Chile. 1160 pp.

- DeFlora S, Badolati GS y Serra D.** 1987. Circadian reduction of chromium in the gastric medio ambiente. *Mutat Res* 192:169-174.
- DeFlora S, Camoirano A, Serra D y Bennicelli.** 1988. Genotoxicity and metabolism of Chromium compounds. Institute of Hygiene and preventive medicine, University of Genoa, Italia.
- Demerec, M.** (ed). 1994. *Biology of Drosophila*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Estados Unidos. 637 pp.
- Dye, F.** 2012. *Dictionary of Developmental Biology and Embryology*. 2a Edición. Wiley-Blackwell. Estados Unidos. 248 pp.
- Fagin, D.** 2012. The Learning Curve. *Nature* 490, 462-465.
- Francisco R, Moreno A, Vasconcelos Morais P.** 2010. Different physiological responses to chromate and dichromate in the chromium resistant and reducing strain *Ochrobactrum tritici* 5bvl1. *BioMetals* 2010; 23 713-725.
- Gilbert, S.** 2005. *Biología del desarrollo*. 7ª edición. Ed. Médica Panamericana. España. 881 pp.
- Gómez, G. A. y Magaña, G. P.** 2003. Papel del Cromo y del cinc en el metabolismo de la insulina. *Rev. Med. IMSS*. 42 (4):347-352.
- González-Moran, T. y Rodríguez-Castillo, R.** 1989. Monitoreo geofísico en el entorno de un basurero industrial de desechos de Cromo. *Geof. Int.* 28(2):409-416.
- Gray, H. B. y H. J. Gilbert.** 2003. *Principios básicos de química*. Barcelona. 2070 pp.
- Guitart, Raimon.** 2008. ¿Qué es un tóxico? *Revista de Toxicología*, en prensa.
- Gutiérrez, M., Bocco G. y Castillo S.** 1985. Contaminación por cromo en el norte de la Ciudad de México, un enfoque interdisciplinario. Proyecto de la dirección general de prevención y control de contaminación. SEDUE.
- Hamilton, J. W. y Wetterhahn K.** 1989. Differential effects of chromium (VI) on constitutive and inducible gene expression in chick embryo liver in vivo and correlation with chromium (VI)-induced DNA damage. *Mol Carcinog.* 2(5):274-86.
- Hanson M. A. y M. K. Skinner.** 2016. Developmental origins of epigenetic transgenerational inheritance. *Environmental Epigenetics*, 2(1):1-9.

- Hurtado, J.** 2014. Selección sexual post-copulatoria en *Drosophila*: ¿cuántas moscas no nacen por causa de la competencia espermática? Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Jayaramaiah, R. y Renkawitz-Pohl R.** 2005. Replacement by *Drosophila melanogaster* protamines and Mst77F of histones during chromatin condensation in late spermatids and role of sesame in the removal of these proteins from the male pronucleus. *Mol Cell Biol.* 2005 Jul;25(14):6165-77.
- Jiménez, Blanca.** 2002. La contaminación ambiental en México. Limusa. México. 925 pp.
- Juárez, M. y Auvinet G.** 2011. Contribución a la caracterización geotécnica de la zona norte de la cuenca de México. Instituto de Ingeniería, UNAM. México.
- Kerkis, J.** 1930. The growth of the gonads in *Drosophila melanogaster*. *Gen.* 16:212-224.
- Ledezma, P.** 2006. Actividad genotóxica de afloramientos externos del confinamiento de residuos de cromo de Cromatos de Mexico en Lecheria Edo de Mexico. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Lepora, N.** 2006. The elements. Chromium. Marshall Cavendish Benchmark. China. 33 pp.
- Lodola, A. y Stadler J.** 2011. *Pharmaceutical Toxicology in Practice.* Ed. John Wiley & Sons. Canadá. 258 pp.
- López, N. E., Y. González, R. Hernández, A. Alarcón, A. Luna y M. Königsberg.** 2013. Hormesis: lo que no mata, fortalece. *Gaceta Médica de México.* 149: 438-447.
- Losi, M. E., Amrhein, C. y Frankenberger, W. T. J.** 1994. Environmental biochemistry of chromium. *Rev. Environ Contam Toxicol.* 136, 91-131.
- Marchetti F, J Bishop, J Gingerich, A. J. Wyrobek.** 2015. Meiotic interstrand DNA damage escapes paternal repair and causes chromosomal aberrations in the zygote by maternal misrepair. *Scientific Reports,* 5: 7689, 1-7.
- Martínez, F., J. P. Pardo y H. Riveros.** 2018. *Bioquímica de Laguna y Piña.* Universidad Nacional Autónoma de México. 764pp.

- Muñoz, L.** 2007. Genotoxicidad de una muestra ambiental externa a "Cromatos de México" en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. 68 pp.
- NOM-052-SEMARNAT-2005.** Diario Oficial de la Federación. Estados Unidos Mexicanos, 23 de junio de 2006.
- NOM-127-SSA1-1994.** Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación. Estados Unidos Mexicanos. 22 de noviembre de 2000.
- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004.** Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Diario Oficial de la Federación. Estados Unidos Mexicanos. 11 de noviembre de 2005.
- Nöthinger E.** 1970. Sucrose density separation: A method for collecting large number or *Drosophila* larvae. DIS 45:177.
- Otiniano-García, M., L. Tuesta-Collantes, H. Robles-Castillo, M. Luján-Velásquez y M. Chávez-Castillo.** 2007. Biorremediación de Cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas sp* y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. Rev. Med. Vallejana. 4(1):32-42.
- Palmer, C. D. y P. R. Wittbrodt.** 1991. Processes Affecting the Remediation of Chromium-Contaminated sites. Env. Hea. Pers., 92:25-40.
- Pierce, B.** 2009. Genética, un enfoque conceptual. 3ª edición. España. 730 pp.
- Pitnick S, Markow T, Spicer GS.** 1999. Evolution of multiple kinds of female sperm-storage organs in *Drosophila*. Evolution, 53, 1804-1822.
- Ramos, P., H. M. Abundis, J. C. Gaytán, M. G. Ordaz, P. G. Orozco, J. Maldonado, J. Hernández, E. González, P. Reyes, E. M. Galicia y J. A. Muñoz.** 1993. Manual de Laboratorio de Genética para *Drosophila melanogaster*. México. 130 pp.
- Ramos-Morales, P.** 1994. Efectos genotóxicos de algunas sales de arsénico en *Drosophila melanogaster*. Facultad de Ciencias. División de estudios de Posgrado. UNAM.

- Ravi-Ram K, Wolfner MF.** 2007. Sustained post-mating response in *Drosophila melanogaster* requires multiple seminal fluid proteins. PLoS Genet 3(12): e238. doi: 10.1371/journal.pgen.0030238
- Repetto M. y G. Repetto.** 2009. Toxicología fundamental. Ed. Días Santos. 4ª edición. 587 pp.
- Richards S, Liu Y, Bettencourt BR, Hradecky P, Letovsky S, Nielsen R, Thornton K, Hubisz MJ.** 2005. Comparative genome sequencing of *Drosophila pseudoobscura*: chromosomal, gene, and cis-element evolution, Genome Res. 15(1):1-18.
- Rico, G.** 2001. Daños a la salud por contaminación atmosférica. UAEMEX. México. 481 pp.
- Rodríguez, Rosario.** 2004. Metabolismo de las toxinas ambientales. Fondo de Cultura Económica. 108 pp.
- Roy S, Lindström-Seppä P, Hänninen O.** 2005. Integrative Approach to Aquatic Environment Biomonitoring. En: Richardson M, Environmental Xenobiotics. Ed: Taylor & Francis e-Library, pp. 108-113.
- Sala, L. F., Rizzotto, M. A., Frascaroli, M. I., Palopoli, C. M. y Signorella, S. R.** 1995. Contaminación ambiental por el metal de transición Cromo. ¿Estamos frente a un serio problema ecológico? QUIM NOV., 18(5):468-474.
- Sánchez L.** 2008. Sex-determining mechanisms in insects. The International Journal of Developmental Biology 52:837–856.
- Santonen, T.** World Health Organization, United Nations Environment Programme., International Labor Organization., Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals and International Program on Chemical Safety. 2009. Inorganic Chromium (III) compounds. Concise International Chemical Assessment Document 76. Germany. 92 pp.
- Schowalter, T.** 2009. Insect Ecology. An Ecosystem Approach. 2ª ed. Elsevier. China. 1132 pp.
- Sharpe, Alan.** 1996. Química inorgánica. Reverté. España. 784 pp.
- Shi W, Becker J, Bischoff M, Turco RF, Konopka AE.** 2002. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium, and hydrocarbon contamination. Applied and Environmental Microbiology 68 3859–3866.

- Slack, J. M.** 2013. Essential Developmental Biology. Inglaterra. 448 pp.
- Stearns, DM, Belbruno JJ y Wetterhahn KE.** 1995. A prediction of chromium (III) accumulation in humans from chromium dietary supplements. FASEB J. Dec; 9(15):1650-7.
- Tristán, L.** 1984. Estudio general del proyecto: Sulfato de Aluminio reciclado de los desechos de la planta de Cromato de Cromatos de México, S. A., C.I.M.A.D.I.
- Velazco-Trejo, J. y M. Ramírez.** 2009. Estudio de prueba piloto para el tratamiento de los residuos peligrosos de Cromatos de México mediante la aplicación de Sulfuro de Sodio. Informe Final. SEMARNAT, Instituto Nacional de Ecología, gtz y UAM. 124 pp.
- Vincent, JB.** 2000. The biochemistry of chromium. J. Nutr. 130:715-718.
- Weber, R. A.** 2007. Efecto del estrés y de la anestesia sobre indicadores primarios y secundarios de estrés y sobre los neurotransmisores monoaminérgicos cerebrales en el lenguado "*Solea senegalensis*" kaup, 1858. Tesis de doctorado. Universidad de Santiago de Compostela. España. 242 pp.
- Wolpert, L., Jessell, T., Lawrence, P., Meyerowitz, E., Robertson, E. y Smith, J.** 2010. Principios del desarrollo. 3ª ed. Ed. Médica Panamericana. 552 pp.
- Zhou J, Xia B, Treves DS, Wu L-Y, Marsh TL, O'Neill RV, Palumbo AV, Tiedje JM.** 2002. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. Applied and Environmental Microbiology 68 326–334.

Referencias electrónicas:

Semarnat Disponible en:

VVhttp://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf