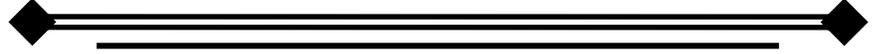




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación del estado de salud del pez *Fundulus grandissimus* y su relación con la calidad de agua de humedales de Yucatán

TESIS
para obtener título de

Biólogo

PRESENTA
Elizabeth Ramírez García

DIRECTOR DE TESIS
Dra. Cecilia Robles Mendoza
Facultad de Ciencias- UMDI Sisal

ASESOR INTERNO
Biól. Maricela Arteaga Mejía



México, CDMX

Marzo 2020



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.

DEDICATORIA

A mi hermano Horacio[†] (te dije que terminaría y lo logré)

A mis padres Susy y Cres

A mis abues Filiberto[†] y Hermelinda[†]

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por proporcionarme educación superior y gratas experiencias.

Al proyecto PAPIME 2018: PE203318 “Evaluación de la calidad de humedales costeros mediante el cálculo de índices de estado trófico y del estado de salud de peces”, el cual proporcionó los recursos necesarios para llevar a cabo esta tesis.

A la Dra. Cecilia Robles Mendoza, directora del proyecto, por su infinita paciencia y comprensión, por confiar en mí, por facilitarme todos los recursos para realizar este trabajo y mejorar mis conocimientos.

A mis sinodales Biól. Maricela Arteaga, Dr. Guillermo Blancas, M. en C. Ernesto Mendoza y Biól. Jose Luis Guzmán, por las recomendaciones hechas para mejorar este trabajo.

A la M. en C. Maribel Badillo Alemán, quien me instruyó en las técnicas histológicas y que en conjunto con el M. en C. Alfredo Gallardo Torres me facilitaron el uso de equipo especializado del Laboratorio de Biología de la Conservación (UNAM, PCTY).

A la M. en C. Koryntia López Aguiar del Laboratorio de Análisis de Isotopos Estables (FQ-UNAM, PCTY), por el procesamiento de las muestras de agua y sedimento, por la disponibilidad en enseñarme las metodologías usadas.

Al M. en C. Rafael Eduardo Pacheco Góngora, del Área de Computo Científico de la UMDI Sisal, que realizó los análisis matemáticos necesarios para la valoración de los parámetros usados en los índices implementados.

A la M. en C. Mirna Enríquez, por el trabajo y conocimientos aportados en salidas a campo y especialmente en la identificación de alteraciones en las muestras biológicas, por la paciencia al enseñarme.

A Fernanda Pardiñas, por su ayuda en campo, en laboratorio, en trabajo de gabinete, gracias por hacer más ameno mi trabajo.

A las personas que ayudaron al trabajo de campo, el M. en C. Alberto Sosa, el M. en C. Johnny Valdez (gracias por salvar mi ojo), la M. en C. Lesly Hernández y el Sr. Marcial Flores, ya que su esfuerzo facilitó esta tarea.

A los profesores que me motivaron durante la carrera, en particular a la Dra. Leonora Sánchez que confió múltiples veces en mí y aconsejó; además, a la Dra. Hortensia Rosas por permitirme varias experiencias académicas.

A mis pápas Susana y Crescenciano, por los que tuve la oportunidad de estudiar, por los consejos de vida y los valores enseñados, por siempre inculcarme amor y admiración a la naturaleza, por apoyar mis decisiones aunque no fueran siempre buenas.

A mis hermanos; Jorge gracias por motivarme a seguir, por no dormir ayudandome en la tarea cuando niña; Rocio y Vero gracias por cuidarme, aconsejarme y apoyarme en todo sentido, además de aguantar mis desveladas; Horacio⁷, por todo, por siempre te esforzarte en ayudarme aunque fuera un incordio, por aportar los medios necesarios para mis estudios, incluso ahora que no estas; y Mary, por alegrarte de mis logros, por alimentarme y cuidarme cuando lo he necesitado.

A mis sobrinos, Mafer, Xime y Ruy, que aun siendo unos latosos dan un rayito de luz y felicidad a mi vida.

A David, por ser quién eres y estar siempre, por no dejar que me rindiera, por ser un gran compañero de vida, muchas gracias.

A mis tías, Pas, Jesús y Tere, que siempre estan al pendiente de mis necesidades, su ayuda facilitó mi vida y mis estudios.

A la Sra. Lolina, por incentivar me a titularme, por preocuparse por mí; al Sr. Arturo por su ayuda a mi familia y a mí.

A mis amigos de toda la vida, Areli, Lucero y Victor, por crecer conmigo, por aconsejarme, por los buenos y malos momentos.

A los amigos que la Biología me dejó, Mar, Dul, Blanca, Mara, Adis, por las horas de estudio, la paciencia y su presencia a lo largo de estos años. A los que se sumaron en el camino, Rebe, Ana, Karla, Dieter, Carlos, y muchos más gracias por ser parte de esta experiencia.

A mis nuevos amigos, Ale, César, Gis, Tona, Adri, Pily, Fer y Ori, porque mejoraron mi estancia en Sisal.

Índice de contenido

Índice de tablas	VI
Índice de figuras	VII
RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	2
2 MARCO TEORICO	5
2.1 Peces como bioindicadores de calidad ambiental	5
2.1.1 Biomarcadores de daño: Histopatología	6
2.2 Materia orgánica como contaminante de humedales.	8
2.2.1 Ciclo del nitrógeno.	9
2.2.2 Toxicidad de los compuestos nitrogenados en peces	13
2.3 Características de <i>Fundulus grandissimus</i> Hubbs, 1936	14
3. ANTECEDENTES	16
4. JUSTIFICACIÓN.....	17
5. HIPÓTESIS.....	18
6. OBJETIVOS.....	18
6.1 General.....	18
6.2 Particulares	19
7. ÁREA DE ESTUDIO	19
7.1 Ciénaga Sisal (Poblado Sisal).....	21
7.2 Ciénaga Chicxulub (Pobladros Progreso y Chicxulub).....	22
8. MATERIAL Y MÉTODO	24
8.1. Trabajo de campo.....	24
8.1.1 Variables físicas y químicas.....	24
8.1.2 Muestreo de agua y sedimento	25
8.1.3 Muestreo de peces.....	25
8.2 Análisis de agua y sedimento	25
8.3 Procesamiento de muestras biológicas:	27
8.4 Análisis histológico de branquia e hígado:.....	29
8.4.1 Procesamiento de órganos.	29
8.4.2 Análisis histopatológico y estimaciones de índices histopatológicos.	30

8.5 Análisis del índice de enfermedad (FDI) para <i>Fundulus grandissimus</i>	32
8.5.1 Enfermedades	32
8.5.2 Prevalencia de enfermedades.....	32
8.5.3 Factor de importancia específico de las enfermedades	33
8.5.4 Grados de severidad.....	34
8.5.5 Cálculo del FDI.....	34
8.6 Índice de salud de Peces para <i>Fundulus grandissimus</i> (ISP)	35
8.7 Análisis estadístico	36
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
9.1 Variables ambientales de agua y sedimento	37
9.1.1 Variables físicas y químicas del agua	38
9.1.1.1 Temperatura.....	38
9.1.1.2 Potencial de hidrógeno	41
9.1.1.3 Oxígeno disuelto.....	43
9.1.1.4 Salinidad	45
9.1.1.5 Profundidad.....	48
9.1.2 Compuestos nitrogenados en agua.....	50
9.1.2.1 Ion amonio	50
9.1.2.2 Amoníaco	53
9.1.2.3 Nitritos	55
9.1.2.4 Nitratos	58
9.1.2.5 Nitrógeno total en agua	61
9.1.3 Nitrógeno orgánico y materia orgánica en sedimento.....	62
9.1.3.1 Nitrógeno orgánico.....	62
9.1.3.2 Relación carbono/nitrógeno orgánico	65
9.2 Material biológico	67
8.2.1 Índices morfométricos y organosomáticos.....	68
8.2.1.1 Longitud y peso de los peces.....	68
8.2.1.2 Factor de condición.....	70
9.2.1.3 Índice hepatosomático.....	72
9.2.1.4 Índice gonadosomático.....	73
9.2.2 Histopatología.....	75
9.2.2.1 Histopatología de branquia	75
9.2.2.2 Histopatología hígado	80
9.2.2.3 Índices histopatológicos.....	85
9.2.3 FDI	93
9.2.4 Índice de Salud de <i>Fundulus grandissimus</i> (ISP).....	98
9.3 Comparación de Variables Ambientales e Índices	102
10. CONCLUSIONES	108
11. BIBLIOGRAFIA	110
12. ANEXOS	135

Anexo I: Preparación de soluciones.....	135
Solución fijadora Davidson para peces.....	135
Solución fisiológica para peces.....	135
Solución descalcificante EDTA 14%.....	136
ANEXO II: Hoja de datos para examen de peces.....	137
ANEXO III: Tren de deshidratación para inclusión y tren de tinción.	138
ANEXO IV: Tipos de reacción patrón y sus alteraciones según Bernet (1999).	139
ANEXO V: Factor de importancia (w) para cada alteración observada en branquia e hígado	140
Anexo VI: Grados de severidad de enfermedades.....	141
Nematodos y cestodos vista macroscópica.....	147
Nematodos vista microscópica (histología de hígado).....	148
Cestodos vista microscópica.....	150
Trematodos vista microscópica	151
ANEXO VII Coeficiente de Spearman	153

Índice de tablas

TABLA 1. TAXONOMÍA DE <i>FUNDULUS GRANDISSIMUS</i> . IMÁGENES TOMADAS DE GALLARDO-TORRES ET AL., 2014.	15
TABLA 2: SITIOS Y ESTACIONES DE MUESTREO	24
TABLA 3: VALORES DE PONDERACIÓN “A” ASIGNADOS A LAS ALTERACIONES.	31
TABLA 4: ENFERMEDADES EXTERNAS E HISTOPATOLOGÍAS TOMADAS EN CUENTA PARA EL ÍNDICE DE ENFERMEDAD DE <i>FUNDULUS GRANDISSIMUS</i> (FDI).....	33
TABLA 5: PONDERACIÓN ESPECIFICA DE ENFERMEDADES Y PARÁSITOS EN <i>FUNDULUS GRANDISSIMUS</i>	34
TABLA 6: VALORES DE P PARA LA PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO WILK.....	38
TABLA 7: CONCENTRACIONES DE MEDIAS DE NITRÓGENO TOTAL DEL AGUA (NTOT MG/L) Y NITRÓGENO ORGÁNICO EN SEDIMENTO (N MG/G) EN CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	62
TABLA 8: VALORES DEL ESTADÍSTICO P DE LA PRUEBA KW-H EN EL CONTRASTE DE MUESTREOS (ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE) DE LAS VARIABLES AMBIENTALES EN CADA SITIO (SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB).	64
TABLA 9: RELACIÓN CARBONO-NITRÓGENO (C/N O CORG'/N') PRESENTE EN EL SEDIMENTO DE CADA SITIO.....	65
TABLA 10: VALORES DE P EN LA PRUEBA DE NORMALIDAD SHAPIRO WILK.	68
TABLA 11: VALORES DE P PARA LA PRUEBA DE CONTRASTE KW-H POR SITIO, SEXO Y SITIO* MUESTREO DE LA LONGITUD (CM), PESO (g), FACTOR DE CONDICIÓN (K), ÍNDICE HEPATOSOMÁTICO (IHS) E ÍNDICE GONOSOMÁTICO (IGS).	75
TABLA 12: ALTERACIONES ENCONTRADAS EN BRANQUIA E HÍGADO DE <i>F. GRANDISSIMUS</i> Y SU PREVALENCIA POR SITIO.	77
TABLA 13: VALORES DE P EN LA PRUEBA KRUSKAL WALLIS (KW-H), EN LOS CONTRASTES POR SITIO, SEXO Y MUESTREO*SITIO DE LOS ÍNDICES HISTOPATOLÓGICOS (IH _{BRANQUIA} , IH _{HÍGADO} Y IH _{TOTAL}) Y DE SALUD (FDI Y ISP).	87
TABLA 14: PREVALENCIA DE ENFERMEDADES EN <i>FUNDULUS GRANDISSIMUS</i> EN SISAL Y CHICXULUB.	94
TABLA 15: PRUEBA MARGINAL DE LA RUTINA (DISTLM) DEL IH _{TOTAL} CONTRA LAS VARIABLES AMBIENTALES. LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS ESTÁN RESALTADAS EN NEGRITAS.	102
TABLA 16: PRUEBA SECUENCIAL DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE (DISTLM) DEL IH _{TOTAL} CON LAS VARIABLES AMBIENTALES. R ² =0.41236. LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS EN NEGRITAS.....	103

TABLA 17: PRUEBA MARGINAL DE LA RUTINA (DISTLM) DEL FDI CONTRA LAS VARIABLES AMBIENTALES. <i>LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS ESTÁN RESALTADAS EN NEGRITAS.</i>	103
TABLA 18: PRUEBA SECUENCIAL DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE DEL FDI CON LAS VARIABLES AMBIENTALES. $R^2=0.45551$. <i>LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS RESALTADAS EN NEGRITAS.</i>	104
TABLA 19: PRUEBA MARGINAL DE LA RUTINA (DISTLM) DEL ISP CONTRA LAS VARIABLES AMBIENTALES. $R^2= 0.31164$	104
TABLA 20: PRUEBA SECUENCIAL DEL MODELO DE REGRESIÓN MÚLTIPLE (DISTLM) DEL ISP CON LAS VARIABLES AMBIENTALES. $R^2=0.31164$	105

Índice de figuras

FIGURA 1: CICLO DEL NITRÓGENO EN UN HUMEDAL. MODIFICADO DE REDDY ET AL., 2010.....	10
FIGURA 2: CIÉNAGA SISAL.....	21
FIGURA 3: CIÉNAGA CHICXULUB, A) POBLADO PROGRESO, B) POBLADO CHICXULUB.	22
FIGURA 4: MAPA DE LOS SITIOS DE MUESTREO SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB.....	23
FIGURA 5: PROCESAMIENTO DE PECES.....	28
FIGURA 6: DISECCIÓN DE CAVIDAD CELÓMICA, SE OBSERVAN ÓRGANOS INTERNOS Y PARÁSITOS.....	29
FIGURA 7: A) INCLUSIÓN DE ÓRGANOS EN PARAFINA; B) TREN DE TINCIÓN DE LAMINILLAS.	30
FIGURA 8: PROCEDIMIENTO PARA OBTENER EL PUNTAJE DE CADA ENFERMEDAD DE ACUERDO A LANG Y WOSNOIK (2008).	35
FIGURA 9: DATOS QUE CONFORMAN EL ÍNDICE DE SALUD DE PECES (ISP) Y RANGOS DE SALU ASIGNADOS A CADA PUNTAJE DE ISP RESULTANTE. ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO TOTAL (IHTOTAL); FISH DISEASE INDEX (FDI).	36
ND=NO DETERMINADO, *= DATOS NO NORMALES ($p<0.05$).	38
FIGURA 10: VALORES PROMEDIO DE LAS TEMPERATURAS REGISTRADAS EN LAS CIENEGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB DURANTE LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	39
FIGURA 11: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE LA TEMPERATURA(TEMP °C) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p>0.05$), B) PROGRESO ($p<0.05$) Y C) CHICXULUB ($p<0.05$).	40
FIGURA 12: MEDIAS DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH) PRESENTADO EN LAS CIENEGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	41
FIGURA 13: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p> 0.05$), B) PROGRESO ($p< 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p< 0.05$).....	42
FIGURA 14: MEDIAS DE OXÍGENO DISUELTU (OD MG/L) REGISTRADO EN LA CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	43
FIGURA 15: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL OXÍGENO DISUELTU (OD MG/L) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p> 0.05$), B) PROGRESO ($p> 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p< 0.05$).....	44
FIGURA 16: SALINIDAD MEDIA REGISTRADA EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MESES DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.....	46
FIGURA 17: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE LA SALINIDAD (SAL) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p< 0.05$), B) PROGRESO ($p< 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p< 0.05$)	47
FIGURA 18: PROFUNDIDAD MEDIA (PROF CM) PRESENTADA EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MESES DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.....	49
FIGURA 19: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE LA PROFUNDIDAD (PROF CM) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p> 0.05$), B) PROGRESO ($p> 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p> 0.05$).	50
FIGURA 20: CONCENTRACIONES MEDIAS DE ION AMONIO ($NH_4 \mu G/L$) ENCONTRADAS EN LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018 EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB.....	51
FIGURA 21: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL IÓN AMONIO ($NH_4 \mu G/L$) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p> 0.05$), B) PROGRESO ($p> 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p> 0.05$).	52
FIGURA 22: CONCENTRACIONES MEDIAS DE AMONIACO ($NH_3 \mu G/L$) PRESENTADAS EN LOS MESES DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018 EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB.....	53

FIGURA 23: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL AMONIACO (NH_3 $\mu\text{G/L}$) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p < 0.05$), B) PROGRESO ($p < 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$)	54
FIGURA 24: CONCENTRACIONES MEDIAS DE NITRITOS (NO_2 $\mu\text{G/L}$) PRESENTADAS EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MUESTREOS DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	56
FIGURA 25: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE NITRITOS (NO_2 $\mu\text{G/L}$) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p < 0.05$), B) PROGRESO ($p < 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$).....	57
FIGURA 26: CONCENTRACIONES MEDIAS DE NITRATOS (NO_3 $\mu\text{G/L}$) PRESENTADAS EN LAS CIÉNAGAS DE SISAL, PROGRESO Y CHICXULUB EN LOS MESES DE ABRIL, MAYO, JULIO Y SEPTIEMBRE DE 2018.	58
FIGURA 27: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE NITRATOS (NO_3 $\mu\text{G/L}$) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p < 0.05$), B) PROGRESO ($p < 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$).	59
FIGURA 28: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL NITRÓGENO TOTAL EN AGUA (N_{TOT} MG/L) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p < 0.05$), B) PROGRESO ($p < 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$).	62
FIGURA 29: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL NITRÓGENO ORGÁNICO EN SEDIMENTO (N MG/G) POR MUESTREO EN A) SISAL ($p < 0.05$), B) PROGRESO ($p < 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$).	63
FIGURA 30: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE LA RELACIÓN CARBONO ORGÁNICO/NITRÓGENO ORGÁNICO EN SEDIMENTO (CORG'/N') POR MUESTREO EN A) SISAL ($p > 0.05$), B) PROGRESO ($p > 0.05$) Y C) CHICXULUB ($p < 0.05$).	66
FIGURA 31: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DE LA LONGITUD (LONG EN CM) POR A) SITIO ($p < 0.05$) Y B) SEXO ($p < 0.05$). GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL PESO (G) POR A) SITIO ($p > 0.05$) Y D) SEXO ($p < 0.05$). MACHOS (M), HEMBRAS (H).	69
FIGURA 32: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H POR SITIO*MES DE COLECTA DE A) LA LONGITUD (LONG EN CM) Y B) PESO (G)($p < 0.05$). PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE). .	70
FIGURA 33: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL FACTOR DE CONDICIÓN (K) POR: A)SITIO ($p > 0.05$), B) SEXO ($p > 0.05$) Y C)SITIO*MUESTREO ($p < 0.05$). MACHOS (M), HEMBRAS (H); PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	72
FIGURA 34: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL ÍNDICE HEPATOSOMÁTICO (IHS) POR: A)SITIO ($p > 0.05$), B) SEXO ($p < 0.05$) Y C)SITIO*MES DE MUESTREO ($p > 0.05$). MACHOS (M), HEMBRAS (H); PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	73
FIGURA 35: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE KW-H DEL ÍNDICE GONADOSOMÁTICO (IGS) POR: A)SITIO ($p > 0.05$), B) SEXO ($p < 0.05$) Y C)SITIO*MUESTREO ($p < 0.05$). MACHOS (M), HEMBRAS (H); PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	74
FIGURA 36: PREVALENCIA DE ALTERACIONES EN BRANQUIA, HEMBRAS, MACHOS Y TOTAL.	76
FIGURA 37: HISTOPATOLOGÍA DE BRANQUIA DE F. GRANDISSIMUS. A) FUSIÓN DE LAMELAS SECUNDARIAS POR HIPERPLASIA (HPP), PRESENCIA DE MOCO (FLECHAS PUNTEADAS) Y TREMATODO (TRE); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20X. B) DESPRENDIMIENTO EPITELIAL DE LAMELAS SECUNDARIAS (FLECHAS CORTAS), HIPERPLASIA (HPP) Y NUMEROSOS TREMATODOS (TRE) EN TEJIDO DE SOPORTE; TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10X. C) DESPRENDIMIENTO EPITELIAL (FLECHA CORTA), FUSIÓN DE LAMELAS SECUNDARIAS POR HIPERTROFIA (HPT) Y MOCO (FLECHAS PUNTEADAS); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 40X. D) CONGESTIÓN SANGUINEA EN TEJIDO DE SOPORTE (HIP), ANEURISMAS EN LAMELAS SECUNADARIAS (ANE) Y NECROSIS DE LAMELAS SECUNDARIAS (NEC); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20X.....	79
FIGURA 38: PREVALENCIA DE ALTERACIONES EN HIGADO, PARA HEMBRAS, MACHOS Y TOTAL	81
FIGURA 39: HISTOPATOLOGÍA DE HÍGADO DE FUNDULUS GRANDISSIMUS. A) HÍGADO CON PEQUEÑAS VESÍCULAS DE GRASA (ESTEATOSIS) EN TODO EL PARENQUIMA (ESV), DILATACIÓN DE LOS VASOS SANGUINEOS (ANE); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20X. B) ALTERACIÓN DEL PLASMA POR ACUMULACIÓN DE GRASA (LIPIDOSIS=LIP), ACUMULACIÓN Y DILATACIÓN DE LOS VASOS SANGUINEOS CON PRESENCIA DE EXUDADO Y ALREDEDOR DE LA LIPIDOSIS (ANE), PRESENCIA DE PEQUEÑOS MACRÓFAGOS ALREDEDOR DE LOS ANEURISMAS (MAC), CONDUCTOS BILIARES (Cb); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10X. C) SEVERA DEGENERACIÓN DEL CITOPLASMA, SE OBSERVA LA MIGRACIÓN DE LOS HEPATOCITOS CERCA DE LOS SINUSOIDES; PEQUEÑOS ESPACIOS CON NECROSIS (NEC); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 40X. D) CONGESTIÓN SANGUINEA (HIP), FORMACIÓN DE MACRÓFAGOS CERCA DE LOS VASOS CONGESTIONADOS (MAC); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20X. E) ACUMULACIÓN SANGUINEA (ANE), FORMACIÓN DE CENTROS MELANOMACRÓFAGOS (CMM) ALREDEDOR DE LAS CELULAS PANCREATICAS (CAP); TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20X. F) CUERPOS EOSINOFILOS (EC) Y MACRÓFAGOS (MAC) QUE SE ENCUENTRAN ALREDEDOR DE UN CONDUCTO SANGUINEO; TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10X.....	82
FIGURA 40: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DE LOS CONTRASTES DE MEDIANAS DE LOS ÍNDICES HISTOPATOLÓGICOS. CONTRASTE ENTRE PROGRESO Y SISAL DE A) ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO DE BRANQUIA ($\text{IH}_{\text{BRANQUIA}}$) ($p < 0.05$), C) ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO DE HÍGADO ($\text{IH}_{\text{HIGADO}}$) ($p > 0.05$), Y E) ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO TOTAL (IH_{TOTAL}) ($p > 0.05$). CONTRASTE ENTRE MACHOS (M) Y HEMBRAS (H) DE B) ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO DE	

BRANQUIA ($IH_{BRANQUIA}$) ($P>0.05$), D)ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO DE HÍGADO ($IH_{HÍGADO}$) ($P<0.05$) Y F) ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO TOTAL(IH_{TOTAL}) ($P>0.05$).....	88
FIGURA 41: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DE LOS CONTRASTES DE MEDIANAS DE LOS ÍNDICES POR SITIO*MUESTREO. CONTRASTE DE A) ÍNDICE HISTOPATOLOGICO DE BRANQUIA ($IH_{BRANQUIA}$)($P<0.05$); B) ÍNDICE HISTOPATOLOGICO DE HÍGADO ($IH_{HÍGADO}$)($P>0.05$); C) ÍNDICE HISTOPATOLOGICO TOTAL(IH_{TOTAL}) ($P>0.05$). MUESTREOS DE PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); MUESTREOS DE SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	89
FIGURA 42: GRÁFICA RADIAL DE LAS PUNTUACIONES OBTENIDAS EN CADA SITIO Y MUESTREO. SISAL=SMAYO, SJULIO, SSEP; PROGRESO= PMAYO, PJULIO.....	92
FIGURA 44: PRESENCIA DE PARÁSITOS HELMINTOS EN EL PEZ FUNDULUS GRANDISSIMUS, POR SITIO Y MUESTREO. SISAL= SMAYO, SJULIO, SSEP; PROGRESO=PMAYO, PJULIO.	94
FIGURA 43: PREVALENCIA DE ENFERMEDADES PARA HEMBRAS, MACHOS DE F. GRANDISSIMUS.TREMATODOS (TRE), NEMATODOS (NEM), CESTODOS (CES), ULCERACIÓN EN PIEL (ULC), DAÑO EN ALETA (DÑA), ASIMETRÍA BRANQUIAL (ASB), PIGMENTACIÓN BRANQUIAL (PGB).	94
FIGURA 45: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE DEL FDI POR A) SITIO ($P<0.05$), B) SEXO ($P>0.05$) Y C) SITIO*MUESTREO ($P<0.05$). MACHOS (M); HEMBRAS (H); MUESTREOS DE PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); MUESTREOS DE SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	95
FIGURA 46: GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTE DEL CONTRASTE POR A) SITIO ($P>0.05$), B) SEXO ($P>0.05$) Y C) SITIO*MUESTREO ($P>0.05$) DEL ÍNDICE DE SALUD DE PECES (ISP). MACHOS (M); HEMBRAS (H); MUESTREOS DE PROGRESO EN MAYO (PMAYO) Y JULIO (PJULIO); MUESTREOS DE SISAL EN MAYO (SMAYO), JULIO (SJULIO) Y SEPTIEMBRE (SSEPTIEMBRE).....	99
FIGURA 47: GRÁFICAS DEL ESTADO DE ISP DE LOS PECES FUNDULUS GRANDISSIMUS EN SISAL Y PROGRESO. A) NÚMERO DE PECES POR SITIO Y EL ESTADO DE SALUD (ISP) EN EL QUE SE ENCONTRARON. B) PORCENTAJE DE PECES POR SITIO Y EL ESTADO DE SALUD (ISP) EN EL QUE SE ENCONTRARON. C) PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS Y ESTADO DE SALUD ISP EN EL QUE SE ENCONTRARON. D) PORCENTAJE DE PECES POR SITIO*MUESTREO Y ESTADO DE SALUD ISP.....	101
FIGURA 48: TREN DE DESHIDRATACIÓN PARA PROCESAMIENTO DE TEJIDOS A INLCUIR EN PARAFINA.	138
FIGURA 49: TREN DE TINCIÓN POR EL MÉTODO HEMATOXILINA DE HARRIS- EOSINA AMARILLENTO.	138
FIGURA 50: DISSECCIÓN DE LA CAVIDAD CELOMICA DE FUNDULUS GRANDISSIMUS DONDE SE OBSERVAB NEMATODOS Y CESTODOS ALREDEDOR DE LOS ORGANOS INTERNOS DEL PEZ.	147
FIGURA 51: NEMATODO PEGADO A UN HÍGADO DE F.GRANDISSIMUS.....	147
FIGURA 52: CESTODOS ENQUISTADOS Y ADERIDOS AL MESENTERIO QUE RECUBRE HÍGADO E INTESTINO	148
FIGURA 53: NEMATODO PERFORANDO HÍGADO. TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20x.....	148
FIGURA 54: NEMATODO. TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20x	149
FIGURA 55: NEMATODO. TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10x	149
FIGURA 56: CESTODOS (GLOSSOCERCUS CARIBAENSIS). MAGNIFICACIÓN 10x. FOTOS TOMADAS POR M. EN C. MIRNA ENRIQUEZ.....	150
FIGURA 57: CESTODO ENQUISTADO ALREDEDOR DEL HÍGADO DE F. GRANDISSIMUS. TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10x.....	150
FIGURA 58: TREMATODOS EN LAMELAS PRIMARIAS DE BRANQUIA DE F. GRANDISSIMUS. TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 10x. TREMATODOS (TRE), DESPRENDIMIENTO EPITELIAL DE LAMELAS SECUNDARIAS (FLECHAS), HIPERPLASIA DE CELULAS DE SOPORTE (HPP).....	151
FIGURA 59: TREMATODOS (TRE). TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 20x.	151
FIGURA 60: TREMATODOS (TRE). TINCIÓN H&E, MAGNIFICACIÓN 40x	152

RESUMEN

Se realizó una evaluación de la salud de peces *Fundulus grandissimus* de humedales costeros de la Costa Norte de Yucatán con diferente influencia urbana. Se muestrearon 3 sitios (Sisal, Progreso y Chicxulub) en temporada de secas y lluvias del año 2018, se midieron parámetros fisicoquímicos del agua, además se tomaron muestras homogéneas de agua y sedimento para determinar las concentraciones de compuestos nitrogenados presentes. Los peces obtenidos se sacrificaron por hipotermia, se tomaron los parámetros para el factor de condición, índice hepatosomático e índice gonadosomático. También se valoraron las anomalías macroscópicas externas, parásitos, las histopatológicas de branquia e hígado que afectaron a los individuos, con el fin de realizar un índice de salud que integrará estas alteraciones (ISP). El índice sirve para medir la salud poblacional de peces y además permite conocer el estado del humedal donde residían. Los índices se relacionaron con los parámetros fisicoquímicos del agua por DISTLM (95% de significancia) para determinar que variable afectó más al estado de salud de *F. grandissimus*. No se encontraron peces en Chicxulub por las condiciones adversas (hipoxia, hipersalinidad, 38°C de temperatura). Las parasitosis afectaron el estado de enfermedad de estos peces. Histopatológicamente las branquias de los peces de Progreso fueron las más alteradas. Los peces de Sisal y Progreso se encontraron en rangos de salud (ISP) de bueno a aceptable. La estadística mostró que las altas concentraciones de amoníaco afectaron a los valores observados de ISP. En conclusión, los *F. grandissimus* son susceptibles al compuesto nitrogenado, amoníaco, y el estado de estos humedales medido por ISP es aceptable.

1 INTRODUCCIÓN

Los peces son organismos condicionados por el medio en que habitan, es decir el medio acuático, cuando los factores ambientales en este son modificados, provocan un estado de estrés a los individuos y los predispone o les causa alteraciones a su salud (Roberts y Rodger, 2012). La salud es definida como un estado en el que un ser vivo ejerce normalmente todas sus funciones (RAEa, 2019). Un estado no saludable o de enfermedad en los peces se caracteriza por la presencia de anomalías en su comportamiento o en su aspecto corporal, estas anomalías suelen exponerse dentro de una población. Si el organismo no puede defenderse o adaptarse a la enfermedad, muere (Billard, 1991; Stamm, 1979).

Las anomalías corresponden a los efectos dañinos a la fisiología del pez que tienen múltiples causas, pueden ser biológicas (como virus, bacterias y parásitos), o fisicoquímicas del agua (como temperatura, oxígeno disuelto, compuestos nitrogenados, contaminación antropogénica, etc.). No obstante, es necesario conocer los factores propios de cada pez; la especie, talla, estado reproductivo, etc., ya que sus condiciones de vida pueden favorecer la expresión de una u otra causa de enfermedad (Billard, 1991; Lloret *et al.*, 2014; Roberts, 2012).

En la zona costera de Yucatán muchas poblaciones de peces (especies) habitan en los humedales costeros, ya sea en forma permanente o intermitente. Los humedales son zonas con suelos inundados o no inundados, ya sea por agua dulce o salina, y se les consideran regiones de transición entre sistemas terrestres y acuáticos, que cuentan con biodiversidad única. Sus condiciones edafológicas, hidrológicas y bióticas lo diferencian de los demás ecosistemas; ya que se caracterizan por alojar vegetación hidrófila, tener suelos hídricos no drenados y estar inundados permanentemente o por temporadas (CONAGUA, 2016; Ramsar y CONANP, 2014).

Los humedales forman parte esencial del ciclo del agua, regulando caudales, almacenando agua de lluvia, recargando mantos freáticos, depurando contaminantes y controlando inundaciones. Por otra parte evitan la erosión ya que

retienen sedimentos y nutrientes, estabilizan el clima regulando las emisiones a la atmósfera y son sumideros de carbono. Además, sustenta a muchas especies de flora y fauna, por lo que son un gran banco genético (Ramsar y CONANP, 2014; SEMADET, 2017). Otros servicios que proporciona un humedal natural es ser criadero de animales de valor comercial, el control de plagas a través de las aves que habitan en él; la obtención de materias primas para la construcción; la producción de leña y el turismo; además, aseguran el abastecimiento de agua de calidad y la obtención de hierbas medicinales (López *et al.*, 2010).

La Península de Yucatán tiene la mayor superficie de humedales del país, la cual se distribuye en 432 sitios (CONAGUA, 2016). La mayoría de los humedales de la península tiene comunidades de manglar, asociado a tulares, carrizales y petenes (Vidal *et al.*, 2015), los cuales, funcionan como barreras contra huracanes, controlan inundaciones, protegen a los arrecifes de coral al sostener las arenas en las playas y mantener las líneas de costa (CONABIO, 2009).

A pesar de la importancia económica y los servicios que confieren los humedales costeros en el estado de Yucatán, estos se han visto afectados por actividades humanas, como las portuarias y turísticas. Se han talado manglares, desecado y rellenado ciénagas, ya sea para construcción de casas o carreteras; además del manejo inadecuado de desechos sólidos urbanos y el vertimiento de aguas sin tratamiento; ya sea domésticas o de uso industrial, en el humedal (Flebes-Patrón, *et al.*, 2009; García de Fuentes *et al.*, 2011; Úrrea y Alcalá, 2017). Tan solo, para el año 2012 se contabilizó una pérdida del 25% de los humedales costeros registrados en Yucatán (Landgrave y Moreno-Casasola, 2012), lo que resulta en una disminución de los servicios ambientales y económicos que proveen.

Las presiones al ecosistema afectan directamente a los peces, como anteriormente se mencionó, por lo que conocer el estado en que se encuentran estos humedales, es de gran importancia. El biomonitoreo de los organismos que residen aquí, o los cambios en sus órganos, permiten evaluar el estado en que se halla el sistema. Estas técnicas se basan en la evaluación de reacciones e índices de sensibilidad de organismos vivos ante la presencia de xenobioticos, ya que la integridad biótica

de un sistema ecológico a menudo se refleja en la salud de los organismos que viven en él (Adams *et al.*, 1993; Mosquera y Peña 2012; Ortiz-Gallarza y Ortega-Rubio, 2014).

Un índice es un conjunto de indicadores o parámetros (OCDE, 2001) que permite realizar una evaluación integral del estado en el que se encuentra el ambiente (SEMARNAT, 2019). Existen índices enfocados en la evaluación de la calidad ecosistémica, como los índices bióticos, entre los más conocidos está el Índice de Integridad Biótica (IBI), el índice Saprobico (S), Índice Biótico de Trent (TBI), y el Índice Biológico de Calidad General (IBQG) (Mathuriau *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2007). Además, desde hace algunos años en Europa se ha implementado un tipo de índice que permite estimar la condición de los ecosistemas acuáticos a través de la salud de los peces que viven en él, el “The Fish Disease Index” (FDI), en el cual se evalúan lesiones hepáticas y las enfermedades y parásitos visibles (Lang *et al.*, 2017; Vethaak *et al.*, 1992).

En este trabajo se analizó la salud del pez *Fundulus grandissimus* de tres sitios de la Reserva Estatal de Ciénagas y Manglares de la Costa Norte de Yucatán, evaluando enfermedades externas, parásitos y la histopatología de branquias e hígado, e integrando los datos a un índice de salud de peces (ISP) adecuado para la especie. Además, este índice (ISP) se le relacionó con las variables fisicoquímicas y los subproductos de la materia orgánica de la ciénaga; lo cual proporcionó información de que parámetro ambiental afectó al índice y por último permitió conocer el estado de los humedales muestreados.

2 MARCO TEORICO

2.1 Peces como bioindicadores de calidad ambiental

Hay diferentes conceptos de bioindicador, Markert *et al.* (2003) lo describe como un organismo o una comunidad de organismos, que contiene información sobre la calidad del medio ambiente; mientras Kienzl *et al.*, (2003) puntualiza que son organismos, células y compuestos subcelulares que se pueden utilizar para evaluar la calidad ambiental, así como el impacto del estrés ambiental en la composición y el funcionamiento de los ecosistemas. Por otro lado, González y Vallarino (2014) explica que es más preciso describirlo como organismos que proporcionan información cualitativa de la salud del ambiente a través de su presencia o ausencia, o mediante cambios en la abundancia de su comunidad. Para Capó (2007) son organismos en los que su existencia, sus características estructurales, su funcionamiento y sus reacciones, dependen del medio en que se desarrollan y cambian al modificarse las condiciones ambientales. Entonces se definirá a un bioindicador como el organismo o una comunidad de organismos que son sensibles a los cambios en el ambiente y reaccionan ante estos, ya sea modificando sus características individuales o de la comunidad, resultando en información cualitativa de la calidad del ambiente.

Los peces son uno de los grupos más usados como bioindicadores ya que se conoce ampliamente su fisiología, histología y toxicología, lo que es una ventaja para la investigación (Torres *et al.*, 2012). Además, las comunidades de peces integran la variabilidad ambiental a diversas escalas espaciales y por lo tanto son mejores indicadores del sistema entero, no solo del área de muestreo (Schmitter-Soto, 2014). Muchos organismos de este grupo son el ápice de las cadenas alimentarias, por lo que reflejan efectos de contaminación directa e indirecta. Diversos autores (Barbour *et al.*, 1999; González y Vallarino, 2014; Mosquera y Peña, 2012) describen que el uso de los peces como bioindicadores es importante ya que:

- Son sensibles a los estresores ambientales; como la contaminación del agua, eutrofia, la aparición de toxicidad por algas, así como la desoxigenación del agua, etc.; lo que los hace responder rápidamente a trastornos en su entorno.
- Tienen presencia en prácticamente toda la cadena trófica (omnívoros, herbívoros, insectívoros, piscívoros) por lo cual es posible conocer el impacto de los estresores ambientales en cada uno de los niveles.
- Son fáciles de identificar y así, estimar de manera confiable su abundancia y diversidad en el ecosistema de interés.
- Su amplia distribución geográfica permite compararlos con otras poblaciones.
- Se consideran útiles para la detección y seguimiento de las presiones hidromorfológicas que producen alteración del hábitat con cambios en profundidad y anchura del río, velocidad del agua, composición granulométrica, morfología del lecho y vegetación de ribera, así como la continuidad del río.
- Su adaptación al cautiverio es relativamente fácil, lo que permite evaluar el efecto de los estresores ambientales bajo condiciones controladas.

Los métodos utilizados para evaluar los efectos de la contaminación acuática sobre la biología de los peces están dirigidos a analizar y tratar de cuantificar los cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares ocasionados por el estrés que generan las modificaciones ambientales.

2.1.1 Biomarcadores de daño: Histopatología

Debido a la sensibilidad que tienen los peces al ambiente, su salud refleja el estado de contaminación del agua que habitan. La exposición a ciertas concentraciones que no son letales pueden alterar estructuras y funciones de los órganos, cuando la exposición es crónica la efectividad de funciones vitales y otros procesos, como reproducción, crecimiento, etc; se ve afectada (Duft *et al.*, 2003). Las alteraciones o cambios histopatológicos son eficientes para el biomonitoreo de peces y su relación con la contaminación de las aguas que habitan; debido a la información que proporciona sobre el grado de estrés, funciona como una señal de alarma temprana

de niveles de contaminación inclusive bajos. (Chovanec *et al.*, 2003). Se considera una herramienta confiable e integral evaluar la salud de los peces silvestres en habitats contaminados (Blazer, 2002; Jabeen *et al.*, 2018).

La histopatología permite evaluar las respuestas fisiológicas y bioquímicas, localizar daños tisulares y conocer la distribución subcelular de biomarcadores específicos en tejidos diana (Novelo *et al.*, 2014). Tiene ventajas como que permite examinar de forma directa órganos diana específicos; que es más sencillo identificar alteraciones histológicas que las funcionales; que refleja objetivamente los efectos tóxicos en la comunidad y el ecosistema, y que permite identificar algunos xenobióticos en ambientes acuáticos (Au, 2004; Camargo y Alonso, 2007; Torres-Martínez *et al.*, 2017).

Los biomarcadores histopatológicos que se suelen evaluar son las branquias, el hígado, el riñón, las gónadas, entre otros (Blazer, 2002; Cajaraville *et al.*, 2000) debido a que estos son órganos susceptibles a los cambios en el ambiente y son los encargados de funciones vitales como respiración y la excreción (Gernhöfer *et al.*, 2001).

En peces los primeros marcadores de contaminación acuática son las branquias y la piel ya que presentan la primer y más constante superficie de contacto con irritantes, son el sitio principal de absorción de tóxicos; el hígado que es el órgano más involucrado en la biotransformación de compuestos exteriores debido a su función, posición y suministro de sangre (Van der Oost *et al.*, 2003), desempeña un papel clave en el metabolismo y la posterior excreción de xenobióticos y además es el sitio de producción de vitelogenina. El riñón en peces tiene funciones hematopoyéticas, es importante para el mantenimiento y estabilidad del ambiente interno con respecto al agua y sal, la excreción y parcialmente para el metabolismo de xenobióticos; si no los elimina, los xenobióticos se acumulan teniendo efectos secundarios (Bernet *et al.*, 1999; Goessling y North 2011; Javed *et al.*, 2016). Las gónadas son las encargadas de la reproducción; en ellas se lleva a cabo la diferenciación sexual, el cual es un proceso que se ve influenciado por las condiciones del ambiente (Yön y Akbulut, 2014). La histopatología de gónada

permite conocer la capacidad reproductiva de una especie, por lo tanto, permite determinar el estado de riesgo en el que se encuentra dentro de su hábitat (Feist *et al.*, 2015).

La histopatología se basa en descripciones cualitativas de las lesiones y/o alteraciones de los organismos, esto dificulta relacionar las patologías con las variables físicas-químicas y la contaminación que presenta el ecosistema, por lo cual el uso de índices histopatológicos ha tomado relevancia, ya que proporciona datos numéricos en base a la frecuencia y tipo de alteración que presenta el órgano; con estos enfoques se ha logrado utilizar la estadística multivariada que permite comparar sitios contaminados, y usar la histopatología como un confiable instrumento de biomonitoreo (Bernet *et al.*, 1999; Costa *et al.*, 2009).

2.2 Materia orgánica como contaminante de humedales.

En los humedales la materia orgánica se integra por compuestos de alto peso molecular (Reddy *et al.*, 2010) que provienen de organismos como plantas, animales y microorganismos (Álvarez, 2005; Fuentes *et al.*, 2015). La materia orgánica (MO) que se encuentra en el agua esta constituida por dos fases; la materia orgánica no disuelta (MOP), que son partículas macroscópicas (mayores a 0.7 μm), y la materia orgánica disuelta (MOD), que se compone de coloides o macromoléculas disueltas (menores a 0.7 μm) (Fuentes *et al.*, 2015; Mostofa *et al.*, 2013). El MOP esta formado por residuos vegetales, bacterianos, fitoplactónicos, etc. El MOD esta integrado por compuestos orgánicos como proteínas, aminoácidos, carbohidratos, ácidos grasos, compuestos fenólicos, y otros compuestos de estructura desconocida (Baker y Spencer, 2004; Mostofa *et al.*, 2013; Reddy *et al.*, 2010).

Las fuentes principales de MOD son la alóctona, proveniente de material terrestre de suelos aledaños; la autóctona, originada por algas y fitoplacton en el agua; y la antrópica, derivada de los desechos de las actividades humanas (Mostofa *et al.*, 2013).

El rápido crecimiento de la población y su desarrollo en zonas costeras ocasiona la vulnerabilidad de los humedales costeros (Yu *et al.*, 2016), una de las razones es que el crecimiento poblacional conlleva a su contaminación por materia orgánica. Esta contaminación es derivada de las actividades humanas como la ganadería, la agricultura, las domésticas, las industriales y las portuarias. (Fuentes *et al.*, 2015). En la agricultura, que es una actividad donde se realiza cambio de uso de suelo para transformarlo en tierras agrícolas, se genera contaminación por la aplicación de fertilizantes, pesticidas, herbicidas, y los productos de la degradación que percolan o lixivian llegando al agua superficial y subterránea (Mostofa *et al.*, 2013). La contaminación de origen doméstico, ocasionada por la falta de tratamiento de estas aguas residuales y en ocasiones el vertimiento directo en cuerpos de agua naturales y que contiene principalmente detergentes, grasas, compuestos proteicos, y orgánicos desconocidos (Mostofa *et al.*, 2013). En la ganadería los productos de desecho de los animales, van desde antibióticos, hormonas, sangre y heces (FAO, 2006; Mora *et al.*, 2017). Por otra parte, los efluentes y lixiviados industriales llevan compuestos con una alta carga orgánica y compuestos inorgánicos (Primo, 2008). Y las actividades portuarias generan desechos contaminantes durante el servicio de limpieza de embarcaciones, aguas lastre con hidrocarburos, aguas residuales y residuos sólidos (MARPOL, 1978).

La descomposición de la materia orgánica en los humedales se lleva a cabo por varios procesos bióticos y abióticos, donde moléculas orgánicas complejas se degradan a compuestos de bajo peso molecular, estos a su vez pasan por oxidación y se convierten en compuestos inorgánicos (mineralización). Uno de los elementos que resulta de la degradación de la materia orgánica es el nitrógeno, que se encuentra en múltiples formas en agua, debido a que gran parte de su ciclo biogeoquímico se lleva a cabo en ella (Álvarez, 2005).

2.2.1 Ciclo del nitrógeno.

El ciclo del nitrógeno (N) en los humedales es regulado en conjunto por el clima, el tipo de suelo, el agua y la vegetación. El clima modifica las condiciones de temperatura y del agua en el humedal. La temperatura regula la velocidad en el que

el N es procesado por plantas y microorganismos. El suelo y el agua controlan la formación de humedales y el ciclo del N. La vegetación, en respuesta a las otras tres variables, regula el ciclo del N; además su crecimiento depende del N mineralizable, que es el disponible para las plantas (Reddy *et al.*, 2010).

En la naturaleza el nitrógeno esta presente en diversas formas químicas y en un gran número de estados de oxidación: +V, +III, +I, 0 y -III (Whitfield, 2010); es el cuarto elemento más abundante de la biomasa celular (Stein y Klotz, 2016) y es el gas más abundante en la atmósfera. Para que el ciclo del nitrógeno se lleve a cabo tiene que pasar por varios procesos que en su mayoría estan determinados por microorganismos que son capaces de asimilarlo (Figura 1).

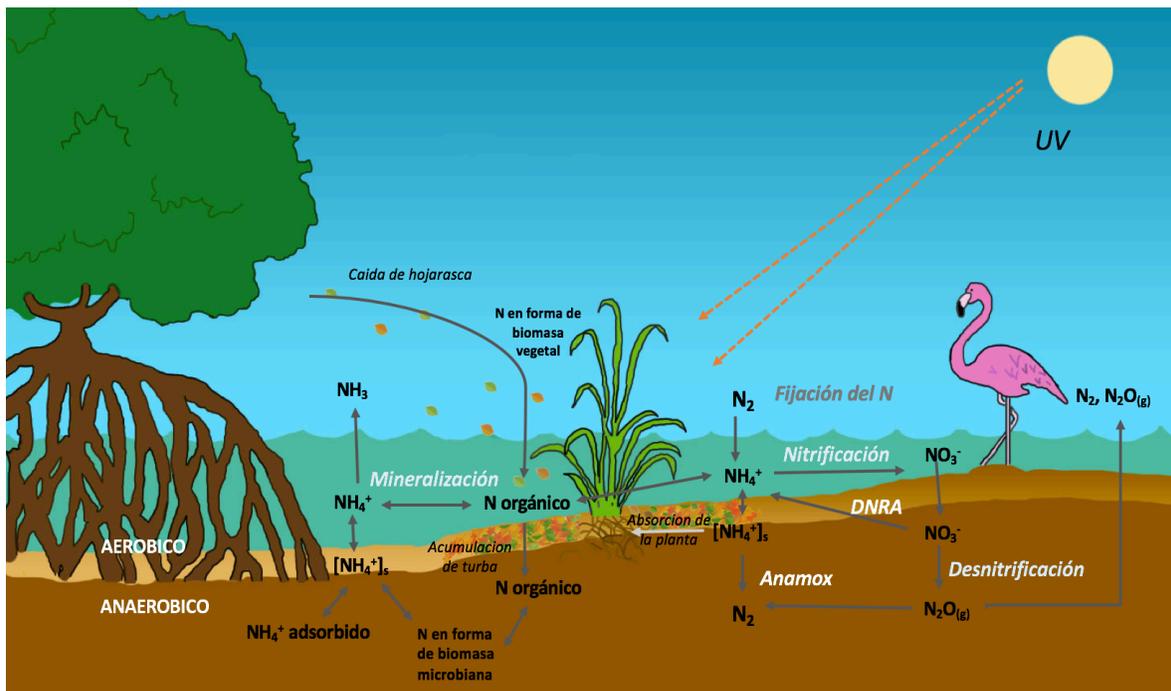


Figura 1: Ciclo del nitrógeno en un humedal. Modificado de Reddy *et al.*, 2010.

Una de las vías en las cuales los humedales obtienen nitrógeno es **la mineralización** de la materia orgánica. Cuando restos animales, vegetales, etc. son depositados en el humedal pasan por un proceso de degradación mecánica o de biotransformación por organismos detritívoros, lo que ocasiona una reducción de la materia y permite que este más disponible para degradación microbiana. Los

microbios descomponen las grandes moléculas orgánicas (R-NH₂) a compuestos inorgánicos, el principal compuesto nitrogenado que se forma es el amonio (NH₄⁺) por el proceso de amonificación (Reddy *et al.*, 2010).

Existen otra vía por la cual el nitrógeno llega al humedal, esta es **la fijación del nitrógeno atmosférico (N₂)**, un tipo de amonificación que ocurre cuando bacterias, arqueas y algas especializadas transforman el N₂ en amoníaco/amonio (NH₃/NH₄⁺) (Reddy *et al.*, 2010), para lo cual usan complejos enzimáticos como el complejo nitrogenasa, la dinitrogenasa de hierro-molibdeno y la dinitrogenasa de vanadio o hierro. El amonio resultante de esta fijación queda asimilado en la biomasa o disponible para respiración aeróbica y anaeróbica de microorganismos (Stein y Klotz, 2016).

Existe otro proceso de amonificación, **la reducción disimilativa de nitrato (NO₃⁻)**, llamada también amonificación fermentativa (DNRA) (Rüting *et al.*, 2011); los organismos que pueden realizar esta amonificación son; bacterias anaeróbicas, anaeróbicas obligatorias o aeróbicas; arqueas en ambientes anóxicos; algas diatomeas; y algunos hongos en suelos (Giblin *et al.*, 2013; Stein y Klotz, 2016). El proceso consta de dos partes, en la primera los microorganismos utilizan el complejo enzimático nitrato reductasa periplasmática (NapAB) para reducir el nitrato (NO₃⁻) a nitrito (NO₂⁻); en la segunda parte se reduce el NO₂⁻ a NH₄⁺ por acción de la nitrito reductasa (NRF), esta enzima puede usar otros sustratos como la hidroxilamina y el sulfito, además no produce compuestos nitrogenados intermedios (Giblin *et al.*, 2013; Simon y Klotz, 2013). En DNRA el N es conservado como amonio, un compuesto biológicamente reactivo, que permite que sea más fácil de aprovechar por los microorganismos y las plantas (Algar y Vallino, 2014; Rüting *et al.*, 2011), además el aporte de NH₄⁺ es más rápido debido a que no es limitado por la fijación de N₂ o la desnitrificación (Giblin *et al.*, 2013).

La nitrificación es la fase donde el amonio (NH₄⁺), el N más reducido (N^(-III)), se oxida aeróbicamente hasta llegar al N más oxidado (N^(+V)), nitrato (NO₃⁻), por vía aeróbica (Andrade *et al.*, 2015; Behrendt, 2014). Hay dos tipos de nitrificación, uno es un proceso mediado por dos cohortes de microorganismos (I y II) y el otro es

llevado a cabo por un solo tipo de cohorte (III). En el primer tipo, el cohorte I; formado por bacterias (AOB; por ejemplo, *Nitrosomonas spp.*) y arqueas (AOA; por ejemplo, *Candidatus N. maritimus*), oxida el NH_4^+ a NO_2^- ; después el cohorte II; formado por bacterias (NOB; por ejemplo, *Nitrobacter spp.*), oxida el nitrito (NO_2^-) a NO_3^- . En el segundo tipo, el cohorte III; conocido como Comammox y formado por las bacterias *Nitrospira spp.*, es capaz de realizar la oxidación completa del amonio hasta nitrato. El nitrito y nitrato producido en esta fase queda disponible para la respiración anaeróbica de microorganismos (Andrade *et al.*, 2015; Stein y Klotz, 2016).

La **desnitrificación** es un proceso de reducción gradual del NO_3^- a N_2 en condiciones anaerobias; el NO_3^- se transforma a NO_2^- , posteriormente este a NO (óxido nítrico) y de N_2O (óxido nitroso) a N_2 ; el proceso se puede detener en cualquier etapa y en el se elimina el nitrógeno fijo de los ecosistemas acuáticos (Kraff *et al.*, 2011; Rich *et al.*, 2018). Existen tres tipos de desnitrificadores, los clásicos o canónicos, los parciales y los dependientes de la metanooxidación. Los clásicos son microorganismos heterótrofos que son capaces de desnitrificar de NO_3^- a N_2 . En el segundo tipo se conocen bacterias y arqueas que reducen incompletamente el NO_3^- y/o se libera N_2O y NO; bacterias que reducen del NO_3^- a N_2O aerobicamente; hongos de NO_2^- a N_2O y foraminíferos que reducen del NO_3^- a N_2 . En el tercer tipo se conoce una bacteria metanotrófica que consume metano y reduce el nitrito (NO_2^-) a N_2 sin producir el intermedio N_2O (Rich *et al.*, 2018; Stein y Klotz, 2016).

Por otro lado hay una reducción del NO_3^- y del amoníaco a N_2 por un proceso de oxidación anaerobica (**ANAMMOX**), que es llevada a cabo por bacterias especializadas; llamadas anammox y que pertenecen a la clase Brocadiaaceae. El proceso se realiza en el sedimento, y en el desarrollo de esta oxidación pasa por productos intermedios que son el NO y la hidracina (NH_2OH), el producto final es el N_2 que es gaseoso y se libera a la atmósfera (Kartal *et al.*, 2011; Reddy *et al.*, 2010; Rich *et al.*, 2018; Stein y Klotz, 2016).

Por último se realiza una **asimilación** del nitrógeno por los heterótrofos, un ejemplo son las plantas que obtienen N del NO_3^- o NO_2^- desde sus raíces, luego los

hervíboros comen esas plantas para obtener el nitrógeno y así sucesivamente hasta que pasan por toda la cadena trófica, cuando los organismos mueren se vuelve a realizar el proceso de descomposición-mineralización.

2.2.2 Toxicidad de los compuestos nitrogenados en peces

El nitrógeno es un elemento determinante en la producción primaria de los ecosistemas acuáticos, cuando hay exceso puede ocasionar eutrofización y en consecuencia hipoxia de los animales acuáticos (Algar y Vallino, 2014; Compton *et al.*, 2011; Giblin *et al.*, 2013). La toxicidad de los compuestos nitrogenados en peces puede provocar daño en branquias y tejidos epidérmicos, lo que facilita infecciones por patógenos (Kaushik, 2000).

El nitrato (NO_3^-) es el compuesto nitrogenado menos permeable de las formas iónicas reactivas, por lo cual es el menos tóxico. La toxicidad de este compuesto aumenta con concentraciones crecientes y tiempos prolongados de exposición, tanto en peces de agua dulce como en marinos; sin embargo, los peces de agua dulce son más susceptibles (Camargo *et al.*, 2005). Lo que el nitrato provoca en los peces es la conversión de los pigmentos respiratorios en formas que no se pueden unir y transportar oxígeno, por ejemplo la hemoglobina se transforma en metahemoglobina (Camargo y Alonso, 2007).

El nitrito (NO_2^-) en peces de agua dulce se absorbe rápidamente en las branquias, causando una competencia con el cloruro, esto ocasiona que sea más tóxico para peces de agua dulce que para peces marinos (Camargo y Alonso, 2007). El nitrito captado se acumula en sangre, branquias, hígado, cerebro y músculos, en concentraciones que pueden estar más altas que en el ambiente. El nitrito en peces provoca disrupción de funciones vitales como las cardiovasculares, respiratorias, endocrinas y excretoras; al igual que el nitrato, provoca que la hemoglobina se oxide a metahemoglobina o ferrihemoglobina. Una consecuencia secundaria de la hipoxia es el daño en hígado, en exposición prolongada se observa alteraciones en histopatología de branquia como hiperplasia, hipertrofia, vacuolización y producción de células del cloro (Kroupova *et al.*, 2005).

El amoníaco total (NAT) es el equilibrio de sus dos formas, ionizado (NH_4^+) y no ionizado (NH_3); la proporción de cada forma depende principalmente del pH y la temperatura del agua, aunque también es influenciado por la salinidad (Bower y Bidwell, 1978). El amoníaco no ionizado (NH_3) es altamente tóxico porque la mayoría de las membranas biológicas son permeables a él, en peces provoca convulsiones, puede llevar a coma y a la muerte de los organismos (Randall y Tsui, 2002); además puede provocar destrucción del epitelio branquial, disrupción del sistema inmunológico, estimular la glucólisis, inhibir la producción de ATP, suprimir el ciclo de Krebs y alterar la osmorregulación (Camargo y Alonso, 2007). En comparación con el amoníaco, el amonio o amoníaco ionizado (NH_4^+) es relativamente impermeable para las membranas, y por lo tanto menos tóxico para peces, sin embargo, en altas concentraciones puede desplazar el K^+ y despolarizar neuronas por lo que es considerado un neurotóxico, la despolarización de las neuronas activa al receptor de glutamato e influye a la acumulación del Ca^{2+} que causa la muerte celular (Randall y Tsui, 2002). Frente a la toxicidad que representa el amonio, algunos peces han desarrollado estrategias para desintoxicarse, como la formación de glutamina o de urea; la reducción de la tasa de proteólisis y la tasa de catabolismo de aminoácidos que habilita la disminución del amonio; la volatilización de NH_3 que permite bajar su concentración del cuerpo; y algunos pueden excretar el ion NH_4^+ (Chew y Ip, 2014; Ip y Chew, 2018; Randall y Tsui, 2002).

2.3 Características de *Fundulus grandissimus* Hubbs, 1936

Fundulus grandissimus o sardinilla gigante es parte del complejo *Fundulus heteroclitus-grandis*, esta especie posee un cuerpo moderadamente delgado y algo comprimido posteriormente, su hocico es largo con una boca un poco grande. Es una especie con dimorfismo sexual, los machos son color azul olivo, con rayas verticales iluminada y puntos de luz y las hembras tienen color verde olivo. En ambos sexos la parte media de las aletas presenta un color azul con manchas iluminadas (Tabla 1). La talla máxima reportada es de 21.8 cm de longitud total y es

la especie más grande del género (Ceballos *et al.*, 2016; Gallardo-Torres *et al.*, 2014).

Tabla 1. Taxonomía de *Fundulus grandissimus*. Imágenes tomadas de Gallardo-Torres *et al.*, 2014.

Reino: Animalia Filo: Chordata Clase: Actinopterygii Orden: Cyprinodontiformes Familia: Fundulidae Género: Fundulus Especie: <i>F. grandissimus</i>	 <p>Hembra</p>
	 <p>Macho</p>
Nombres comunes: sardinilla gigante, giant killifish (ingles)	

Habita en aguas salobres a saladas de zonas tropicales, tiene hábitos bentopelágicos, se comporta mayormente como carnívoro especializado en consumo de peces y se ha reportado que consume coleópteros, decápodos y arácnidos (Álvarez, 2016).

Es endémica del Atlántico norte, ha sido registrada en el estado de Yucatán en Progreso, Sisal, Ria Lagartos, Celestún; en Chiquilá, Quintana Roo; en la laguna de Términos, Campeche (Álvarez, 2016; Gallardo-Torres *et al.*, 2014;).

Por su abundancia y frecuencia de aparición es considerada una especie ocasional (Gallardo-Torres *et al.*, 2016), esto sumado a su distribución restringida y pérdida de hábitad la incluyó en la Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT-2010 de protección a especies nativas de México bajo la categoría de “amenazada” (DOF, 2010; Gallardo-Torres *et al.*, 2014).

3. ANTECEDENTES

La estimación de índices que reflejan la salud/enfermedad de peces, como los índices histopatológicos y el FDI (“The Fish Disease Index”), han sido ampliamente usados para la evaluación del efecto toxicológico de los contaminantes en peces, y para conocer el estatus de salud de las poblaciones de peces y el estado del ecosistema a través del tiempo. Algunas especies de peces como *Solea solea*, *Solea senegalensis*, *Merluccius merluccius*, *Limanda limanda*, *Platichthys flesus*, *Oreochromis mossambicus*, (Costa *et al.*, 2009; Cuevas *et al.*, 2015; ICES, 2004; Van Dyk *et al.*, 2007; Varadarajan, 2010) en el caso histopatológico; y peces planos como *Limanda limanda*, *Platichthys flesus*, *Gadus morhua* y *Melanogrammus aeglefinus* en el caso del FDI (Bucke *et al.*, 1996; Lang *et al.*, 2017; Stentiford *et al.*, 2009; Stentiford *et al.*, 2010; Vethaak *et al.*, 1992; Zorita y Cuevas, 2014) son comúnmente usadas por sus características y sensibilidad a los agentes externos, para llevar a cabo evaluaciones del estatus de salud del ecosistema; además de ser especies de importancia comercial.

En México no se han realizado análisis previos de un índice tipo FDI, sin embargo, se han estudiado enfermedades comunes en peces de vida libre y cultivados que tienen importancia comercial (Cedillo *et al.*, 2001; Jiménez, 2010; Rodríguez *et al.*, 2001; SEMARNAP, 2000). Al igual que el FDI, las evaluaciones histopatológicas se han centrado mayormente en especies de importancia comercial como, por ejemplo, *Oreochromis niloticus* en la cual se observó el efecto de una bacteria patógena (Huchin *et al.*, 2019); y especies endémicas como *Skiffia multipunctata* la cual fue expuesta a fosfato de sodio dibásico y presentó alteraciones en branquias (Rueda-Jasso *et al.*, 2014) y *Goodea atripinnis* que presentó anomalías en hígado y branquia por la exposición a aguas residuales (Ruíz-Picos *et al.*, 2015).

Entre los estudios referentes a *Fundulus grandissimus* destaca la descripción realizada por Gallardo-Torres *et al.* (2014) que presenta las características morfológicas de la especie, la distribución geográfica y su estatus de vulnerabilidad, otro autor que también ha descrito esta situación es Ceballos *et al.* (2016). Además,

ha sido mencionada en estudios sobre la alimentación de aves en Yucatán en De Dios (2014) y Robles (2019) quienes reportaron que son importantes en la dieta y aporte energético de polluelos de las aves *Egretta rufescens*, *Cochlearius cochlearius* y *Phalacrocorax brasilianus*. Uno de los pocos estudios que se enfocan en la especie es el de Álvarez (2016) donde reporta que su hábito alimenticio es de carnívoro especializado y encontró que es una especie tope en el sistema acuático de Homochén. Otra investigación se enfocó en la identificación y prevalencia de helmintos que parasitan a la especie, los cuales fueron cestodos (*Glossocercus caribaensis*) y nematodos (género *Contracaecum*) (Mora-Domínguez *et al.*, 2018). La investigación más reciente en la especie se centro en evaluar la expresión génica del Hsp, que es determinante en la adaptación a los cambios de temperatura, en esta evaluación se demostró que los *F. grandissimus* son sensibles al estrés térmico (Colín-García *et al.*, 2019).

4. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas el aumento rápido de la contaminación ha afectado a los humedales costeros ya que aquí es el último lugar donde confluyen las aguas continentales, siendo muchas veces estas la zona de descargas de desechos de origen antropogénico. Los humedales de Yucatán son ecosistemas que se encuentran en riesgo debido al rápido crecimiento poblacional de la zona, muchas veces irregular, donde se llevan a cabo prácticas inadecuadas como la destrucción de manglar por tala o por interrupción de flujo, y la descarga a la ciénega de aguas residuales sin tratamiento (58% materia orgánica) (CONAGUA, 2016) y de residuos sólidos urbanos (RSU; con composición del 52.4% demateria orgánica) (SEMARNAT, 2016). Debido a que la materia orgánica es el principal componente en la descargas domiciliarias y de los RSU, es necesario evaluar los productos de su descomposición (compuestos nitrogenados) y conocer el efecto que tienen sobre los seres vivos que residen en la ciénega. Para analizar el daño que causan los contaminantes se han desarrollado técnicas de biomonitoreo basado en la evaluación de biomarcadores de sensibilidad de organismos vivos ante la presencia de contaminantes, ya que la integridad biótica de un sistema ecológico a menudo

se refleja en la salud de los organismos que viven en él (Adams *et al.*, 1993; Mosquera y Peña, 2012; Ortiz-Gallarza y Ortega-Rubio, 2014). En los ecosistemas acuáticos, los peces se consideran indicadores representativos del estado general del sistema, debido a que integran los efectos de muchas variables bióticas y abióticas que actúan en el sistema (Adams *et al.*, 1993). Los métodos utilizados para evaluar los efectos de la contaminación sobre peces están dirigidos a evaluar cuantificar los cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares ocasionados por el estrés (Chovanec *et al.*, 2003; González y Vallino, 2014). El índice de salud de peces (FDI) integra los cambios externos e internos provocados por enfermedades y fue construido con el fin de utilizarse como un indicador del estado de salud del ecosistema (Lang y Wosniok, 2008); además, el índice histopatológico total (IHTotal) muestra la condición de salud del pez, al sumar los daños en los órganos de este (Bernet *et al.*, 1999). Por lo que, la integración y evaluación de estos índices (FDI e IHTotal) en peces nativos de la Península de Yucatán permitirá conocer su estado de salud y contribuirá al diagnóstico de la calidad ambiental de los sistemas costeros que tienen gran valor ecosistémico.

5. HIPÓTESIS

El estado de salud de los peces está relacionado con las presiones ambientales, como la contaminación por materia orgánica, que provoca variaciones de los compuestos nitrogenados, temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad; por lo tanto los humedales con mayores aportes de materia orgánica, es decir con influencia humana, exhibirán mayores alteraciones en la salud de los peces *Fundulus gransissimus*.

6. OBJETIVOS

6.1 General

- Analizar la condición de *Fundulus grandissimus* de ciénegas de Yucatán, a través de la cuantificación del índice de estado de salud en dos temporadas climáticas.

6.2 Particulares

- Analizar la calidad del agua de las ciénegas de Sisal, Progreso y Chicxulub, Yucatán, a través de la cuantificación de variables físicas y químicas del agua.
- Analizar la anomalías morfológicas externas de piel, aletas y ojos de *Fundulus grandissimus* de las ciénegas de Sisal, Progreso y Chicxulub, Yucatán.
- Analizar la prevalencia de parásitos externos, de cavidad celómica y de cámara branquial.
- Estimar el índice histopatológico de hígado, branquia y total (HI_{Tot}) de los peces *F. grandissimus*.
- Estimar el índice de enfermedad de peces (FDI) a través de la prevalencia de enfermedades en *F. grandissimus*.
- Estimar el índice de estado de salud de los peces (ISP) mediante la integración de los índices histopatológico y de enfermedades de peces.
- Relacionar el índice histopatológico total (HI_{Tot}), el índice de enfermedad (FDI) y el índice de salud (ISP) de los peces con la calidad de agua de humedales de Yucatán con diferente impacto antrópico en diferentes temporadas climáticas.

7. ÁREA DE ESTUDIO

La Reserva Estatal de Ciénegas y Manglares de la Costa Norte de Yucatán (RECMCNY) fue decretada 2010, resguarda una zona de 54,776.726 hectáreas y se encuentra en el norte del estado (DOGY, 2017).

Hidrología: Los acuíferos de la zona se encuentran confinados por el caliche que cementa los poros y las fisuras de la coraza calcárea superficial, que es prácticamente impermeable y actúa como una barrera que impide el movimiento

hacia el mar del agua subterránea. El acuífero de la Península de Yucatán en su parte litoral está considerado como costero, el flujo de agua se dirige hacia el mar, que es el receptor de los excedentes de agua dulce y el agua de mar penetra hasta una cierta distancia de la costa. En general existe un gradiente espacial de menor a mayor salinidad desde la selva baja inundable hasta la ciénaga con manglar; así mismo, se observan dos temporadas principales, de secas e inundación.

Edafología: Los suelos son carsticos, y se han descrito Arenosoles, Leptosoles, Solonchaks e Histosoles (Delgado *et al.*, 2010).

Clima: El clima es árido de tipo BS0 (h')(x') (García, 2004), en toda la zona litoral la precipitación media anual es de 469 mm y la temperatura promedio es de 25.4°C (INEGI, 2017).

Flora y fauna: Las ciénagas se encuentran delimitadas principalmente por manglar *Rhizophora mangle* (mangle rojo), *Avicennia germinans* (mangle negro). En fauna hay aves como *Egretta tula* (garza) y *Phalacrocorax auritus* (cormorán); mamíferos, reptiles, anfibios y una gran cantidad de arañas, hormigas e insectos. En la parte acuática hay especies de peces protegidas por su importancia ecológica y por su origen endémico, como *Poecilia velifera* (molly), *Fundulus persimilis* (sardinilla yucateca) y *Fundulus grandissimus* (sardinilla gigante) (CONABIO, 2009; DOGY, 2017; Flores *et al.*, 2010; Vega y Hernández, 2010).

Las áreas elegidas para este estudio son Sisal como zona con bajo impacto antropogénico, Chicxulub y Progreso como zonas con alto impacto antropogénico, los sitios y las estaciones estudiadas se muestran en la *Figura 4* y la *Tabla 2*:



Figura 2: Ciénaga Sisal

7.1 Ciénaga Sisal (Poblado Sisal)

La ciénaga Sisal (*Figura 2*) se ubica en el oeste de la RECMCNY y el litoral norponiente de Yucatán, pertenece al municipio de Hunucmá y delimita al norte con el Golfo de México, al sur con los ejidos de Sisal y de Hunucmá, al oeste con la Reserva Estatal El Palmar.

En esta zona las ciénagas, cuentan con manatales (ojos de agua y/o petenes) que se consideran de alto valor ecológico para el sustento de los flujos geohidrológicos, además es lugar de anidación y reproducción de aves y peces. El manglar en este sitio se encuentra en buen estado de conservación (Diario oficial, 2010; Úrrea y Alcalá, 2017), mientras que la calidad del agua es regular (mesotrófica) (García de Fuentes *et al.*, 2011). El poblado más cercano es Sisal con 1577 habitantes aproximadamente y donde las principales actividades que se llevan a cabo son pesca artesanal, cacería y turismo (Santoyo, 2017). Uno de los problemas que ha presentado el ecosistema en este sitio es la práctica de “embutido” o relleno de la ciénaga, la cual tiene el fin de agrandar terrenos para vivienda, plantaciones o cria de animales, según Úrrea y Alcalá, 2017 el material que se utiliza para estos rellenos va desde troncos y piedras hasta plásticos, botellas y baterías. Pardiñas-Ramírez y Robles-Mendoza, (2019) observaron que los principales residuos sólidos urbanos en la ciénaga son desechos orgánicos seguidos de los plásticos.

7.2 Ciénaga Chicxulub (Poblados Progreso y Chicxulub)

La ciénaga Chicxulub se encuentra en la zona central de la RECMCNY, en el municipio de Progreso. Los cuerpos de agua y los flujos geohidrológicos de este lugar aportan agua a zonas de alta conservación. El manglar de esta zona se considera con alta vulnerabilidad debido a que las actividades que se realizan son de impacto medio a alto y se considera que la calidad del agua es mala (meso-eutrófico) (Diario oficial, 2010; García de Fuentes *et al.*, 2011). Las principales actividades económicas son la pesca y el turismo náutico, siendo el puerto más grande del estado (Progreso), además tiene zonas ecoturísticas como el Corchito (SCT, 2009). En esta región se concentra 54% de la población costera, por lo cual el flujo de la población es constante. Tiene como principal problema la destrucción de manglar, ya sea por tala o por interrupción del flujo de agua, la construcción de carreteras y el azolvamiento (García de Fuentes *et al.*, 2011); la descarga de aguas residuales sin tratamiento al suelo y mar (Moguel, 2014); y el mal manejo de residuos sólidos, que son arrojados a la ciénaga y van desde bolsas con desechos caseros, hasta pantallas de televisores, colchones y muebles viejos (Diario de Yucatan, 2017) (Figura 3).



Figura 3: Ciénaga Chicxulub, a) Poblado Progreso, b) Poblado Chicxulub.

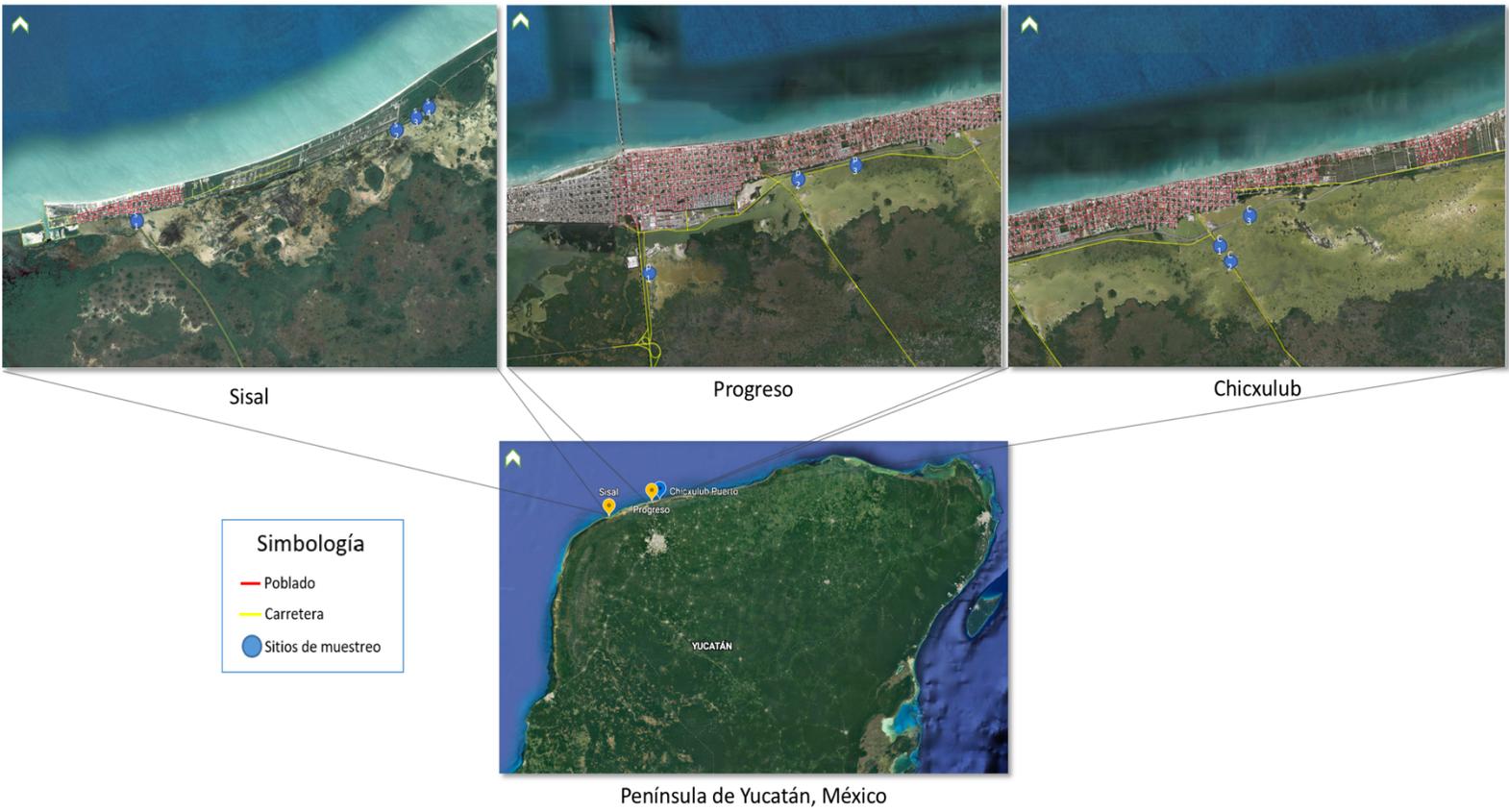


Figura 4: Mapa de los sitios de muestreo Sisal, Progreso y Chicxulub.

Tabla 2: Sitios y estaciones de muestreo

Sisal		Progreso		Chicxulub	
<i>Estación</i>	<i>Coordenadas</i>	<i>Estación</i>	<i>Coordenadas</i>	<i>Estación</i>	<i>Coordenadas</i>
S1	21°09'46.8" N 90°01'52.9" O	P1	21°17'03.8" N 89°38'04.7" O	Cx1	21°17'12.4" N 89°36'05.4" O
S2	21°10'44.7" N 89°58'44.9" O	P2	21°17'11.3" N 89°37'29.2" O	Cx2	21°17'05.6" N 89°36'00.8" O
S3	21°10'51.0" N 89°58'32.0" O	P3	21°16'10.4" N 89°39'38.8" O	Cx3	1°17'30.1" N
S4	21° 10'56.44"N 89°58'24.23" O				89°35'48.4" O

8. MATERIAL Y MÉTODO

8.1. Trabajo de campo.

Se muestrearon tres sitios, la ciénaga cercana a Sisal, la ciénaga próxima a Progreso y la colindante a Chicxulub, en temporadas de secas (meses de abril, mayo) y lluvias (julio y septiembre) del 2018. Las características tomadas en cuenta en la elección de las estaciones fue la presencia de la especie de interés y la accesibilidad a la zona, una vez establecidas se registraron las coordenadas en UTM con un GPS. Para la Ciénaga Sisal se tomaron 4 estaciones (S1, S2, S3, S4), para Progreso 3 (P1, P2, P3) y para Chicxulub 3 (Cx1, Cx2, Cx3) como se muestra en área de estudio (*Figura 4 y Tabla 2*). Para cada sitio se tomaron variables físicas y químicas del agua, agua y sedimentos de la ciénaga, y peces *Fundulus grandissimus* (permiso de colecta Oficio No. SGPA/DGV/S/05387/17).

8.1.1 Variables físicas y químicas

Con un multiparámetro YSI 556MPS se midió temperatura del agua (exactitud 0.15°C), salinidad ($\pm 0.1\%$), oxígeno disuelto (± 0.2 mg/L), y pH (± 0.2 unidades). Además, se tomó la profundidad del agua (cm) con un profundímetro.

8.1.2 Muestreo de agua y sedimento

Para las muestras de agua se utilizaron botellas Nalgene® color ámbar de 0.5 L, las muestras se tomaron de la parte media de la columna de agua (Abarca y Herzig, 2002). Para los sedimentos se tomó una muestra superficial homogénea y se guardó en tubos Falcón® (Herranz *et al.*, 2007). Tanto las muestras de agua como las de sedimento se mantuvieron en hielo y después se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis en laboratorio.

8.1.3 Muestreo de peces

Debido al tamaño de los peces y a la zona de muestreo se empleó una atarraya con luz de malla de 1 cm y apertura de 1.71 m para la obtención de estos. Los peces se depositaron en una tina con agua y se identificaron los *Fundulus grandissimus* con ayuda del Catálogo de peces de la costa norte de Yucatán (Gallardo-Torres *et al.*, 2014), los demás peces extraídos se liberaron de nuevo. Los organismos obtenidos se sacrificaron por hipotermia (AVMA, 2013), cuando los organismos ya no presentaron evidencia de vida, es decir, que permanecieron inmóviles, sin algún tipo de reacción como apertura de opérculo, de la boca y/o aleteo, se fijó la cavidad celómica con solución Davidson (*Anexo I*) y se conservaron en el hielo hasta su disección.

8.2 Análisis de agua y sedimento

Los análisis de compuestos nitrogenados en agua y de materia orgánica en sedimentos fueron realizados por el Laboratorio de Análisis de Isótopos Estables de la Facultad de Química.

El agua se descongeló a temperatura ambiente y se filtró con membranas Waltman No1. para eliminar sólidos suspendidos. El amonio total (NAT ($\mu\text{g/L}$)), el nitrito (NO_2 ($\mu\text{g/L}$)) y el nitrato (NO_3 ($\mu\text{g/L}$)) se analizaron por métodos colorimétricos descritos por Ringuet (2011) adecuados por López-Aguilar (2019) para la lectura en espectrofotómetro de microplacas.

Para obtener la proporción de amonio (NH_4) y el amoníaco (NH_3) del amonio total (NAT) se utilizó la fórmula para agua de mar:

$$\% \text{ amonio no ionizado} = 100/[1 + \text{antilog}(\text{pKa}^s(\text{T}) - \text{pH})] \quad \text{Bower y Bidwell, 1978}$$

dónde:

pH=potencial de hidrógeno

$$\text{pKa}^s(\text{T}) = \text{pKa}^0 + (0.1552 - 0.0003142t)I_f \quad \text{Khoo et al., 1977}$$

t=temperatura en °K

I_f =fuerza molal iónica

pKa^0 =Constante de disociación ácida para agua dulce, y se obtiene con la fórmula:

$$\text{pKa}^0 = 0.09018 + (2729.92/T) \quad \text{Emerson et al., 1975}$$

dónde T= temperatura °C

$$I_f = 19.9273S / (1000 - 1.005109S) \quad \text{Whitfield, 1974}$$

dónde S=salinidad

Por último se calculó la cantidad de nitrógeno total (N_{tot} (mg/L)) sumando todas las concentraciones de el nitrito, nitrato, amonio y el amoníaco (en $\mu\text{g/L}$) y transformándolo a miligramos sobre litro.

Para el análisis de sedimentos, estos fueron congelados y colocados en una liofilizadora (Labconco) hasta que la muestra quedó completamente seca. Luego se tamizó a luz de malla de 65, 125, 250 y 500 μm para eliminar material no deseado, rocas y conchuela; después se acidificó la muestra con HCL 1.0 M, se secó y compacto en cartuchos especiales para el análisis final con analizador elemental COSTECH 4010. Se midió el contenido de carbono orgánico y de nitrógeno orgánico (Herranz *et al.*, 2007). Se realizó el cálculo de la relación de carbono-nitrógeno de la siguiente manera:

$$C/N = (14/12) * (\%C_{org} / \%N')$$

Donde %C_{org}' = % gramos de carbono orgánico

%N' = % gramos de nitrógeno orgánico/gramo de sedimento sin calcita

Además, se obtuvo la cantidad en miligramos sobre gramo de nitrógeno para conocer la cantidad contenida en sedimento.

8.3 Procesamiento de muestras biológicas:

Los organismos obtenidos se procesaron lo antes posible para evitar la descomposición de los órganos de interés. Cada organismo se pesó con balanza analítica Marca Ohaus (± 0.01 mg) y se midió su longitud total con ayuda de un ictiómetro, para realizar posteriormente el cálculo del factor de condición ($K = (\text{peso húmedo} / \text{longitud total}^3) \times 100$), los datos de cada pez fueron registrados en una forma como la que se muestra en el *Anexo II*. Para el análisis del aspecto externo se observó con microscopio estereoscópico piel (escamas), ojos, aletas, boca; en busca de alguna anomalía como algún cambio en color, ulceración, erosión, deformación, necrosis, tumor y parásitos (Reichenbach-Klinke, 1975), se tomó en cuenta el porcentaje de afectación total.

Después se procedió a la extracción los opérculos del pez para la observación de las branquias, para detectar la presencia de alteraciones se observó con ayuda del microscopio estereoscópico algún daño estructural, cambio de color o la presencia de parásitos. Para evitar la deshidratación de las muestras y para la limpieza de residuos como sedimentos se utilizó solución fisiológica (Zuñiga, 2015). La extracción de la branquia se realizó al azar cortando dos arcos branquiales exteriores.

Para la observación interna se cortó a la altura de la cavidad abdominal, partiendo del ano a las aletas abdominal y del ano pasando por el borde superior de la cavidad hasta las branquias, se extrajeron todos los órganos y se examinaron en busca de parásitos. Se inspeccionaron las gónadas para determinar el género del individuo,

se pesaron para obtener el índice gonadosomático ($IGS = (\text{peso gónada} / \text{peso total}) \times 100$). También el hígado se separó y se analizó con asistencia de microscopio estereoscópico, se observó si presentaba algún daño estructural, cambio de color y cambios en la textura que pudieran sugerir la presencia de quistes o tumores y se pesó en balanza analítica, para el cálculo del índice de hepatosomático ($IHS = (\text{peso hígado} / \text{peso total}) \times 100$) (Schreck y Moyle, 1990). Los parásitos encontrados se separaron por tipo y se contabilizaron (*Figura 5 y 6*).

La fijación de los órganos se hizo con solución Davidson en la cual se dejaron máximo 36 horas y después se cambiaron a alcohol 70% (EtOH 70%) (Mumford *et al*, 2007). Además, las branquias se sometieron a un proceso de descalcificación, para lo cual se tomó un arco branquial al azar, se colocó en una solución EDTA 14% (Rolls, 2018; Varadarajan, 2010) en la que permaneció 10 días con cambios cada 72 horas, por lo cual se realizaron tres cambios para completar la descalcificación y facilitar el proceso de los cortes histológicos (*Anexo I*).



Figura 5: Procesamiento de peces



Figura 6: Disección de cavidad celómica, se observan órganos internos y parásitos.

8.4 Análisis histológico de branquia e hígado:

8.4.1 Procesamiento de órganos.

Para el procesamiento de tejidos, la branquia se colocó de forma longitudinal en el histokinette, mientras el hígado se cortó y colocó de forma longitudinal y transversal. Las muestras se deshidrataron gradualmente con etanol a diferentes concentraciones, se aclararon en xileno y se incluyeron en parafina histológica Paraplast marca Leica con ayuda de un equipo de inclusión (KD-BM marca KEDEE) (*Anexo III*). Los cortes se realizaron con micrótopo (RM2125 RTS marca Leica) fueron a 4 μ c para hígado y 5 μ c para branquia. La tinción se realizó con la técnica eosina-hematoxilina (H&E) (*Anexo III*) (Zorita y Cuevas, 2014) y se fijaron con bálsamo de Canadá.

La estandarización de las técnicas de fijación postmortem, fijación de los órganos, descalcificación branquial y la tinción eosina-hematoxilina (H&E) para el pez *F. grandissimus*, se llevó a cabo con el material biológico del primer muestreo (abril 2018), el objetivo fue asegurar la calidad de los tejidos y el reconocimiento de alteraciones histológicas, por lo que para la evaluación de los índices histopatológicos y de salud estos organismos se descartaron.

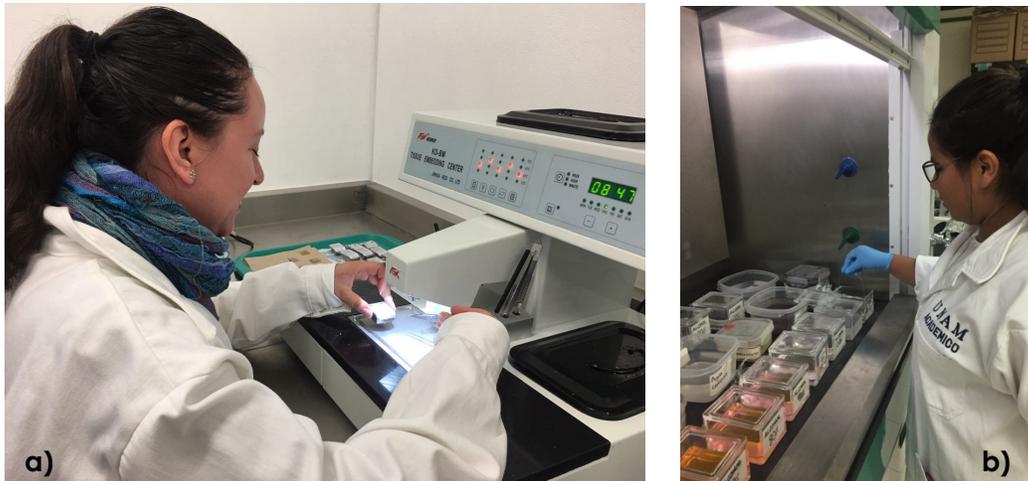


Figura 7: a) Inclusión de órganos en parafina; b) Tren de tinción de laminillas.

8.4.2 Análisis histopatológico y estimaciones de índices histopatológicos.

En la observación de los cortes se consideró presencia o ausencia de condiciones según el protocolo de histopatología en peces propuesto por Bernet *et al.* (1999), donde se evalúan las alteraciones de cada unidad funcional del órgano y se agrupan en 5 tipos de reacción patrón: *rp*₁) *Disturbios circulatorios*: resultado de una condición patológica en la sangre y en los fluidos del tejido; *rp*₂) *Cambios regresivos*: cambios que pueden ser reversibles, sin embargo disminuyen la función del organismo o provocan la pérdida del mismo; *rp*₃) *Cambios progresivos*: procesos que aumentan una actividad en las células o los tejidos; *rp*₄) *Inflamación*: procesos inflamatorios, a veces se relacionan con otros patrones de reacción *rp*₅) *Tumor (neoplasma)*: crecimiento incontrolable de células y proliferación de tejido.

Las reacciones patrón de los órganos analizados y sus respectivas alteraciones se muestran en el *Anexo IV* y el factor de importancia de cada alteración se muestra en el *Anexo V*. A cada alteración observada (a) se dio un valor dependiendo del grado y/o la extensión de área observada que afectó, los valores dados fueron (0) sin cambios; (1) ocurrencia leve; (2) ocurrencia moderada; (3) ocurrencia severa. Los porcentajes de afectación asignados para cada valor se muestran en la Tabla 3 y se calcularon de la siguiente forma: a) En branquias la ponderación se realizó seleccionando al azar por portaobjeto 5 lamelas primarias, de estas se observaron

10 lamelas secundarias, la estimación de frecuencia se hizo multiplicando el número de veces que apareció la alteración por 100 y dividiéndolo entre las 10 lamelas secundarias observadas (%). Además, fueron contabilizados los parásitos encontrados en cada lamela primaria. b) Para hígado se seleccionaron aleatoriamente 5 áreas/campos observadas en aumento 10x, y después fueron analizadas al aumento 40x; la valoración del porcentaje de hígado afectado se realizó estimando el % de tejido alterado en el campo de 10x, se sumaron los porcentajes de los 5 campos observados y dividieron entre 5 para obtener el valor promedio.

Tabla 3: Valores de ponderación “a” asignados a las alteraciones.

Porcentajes obtenidos	0	1 a 34	35 a 67	68 a 100
Valor de puntuación a	0= sin ocurrencia	1= ocurrencia leve	2= ocurrencia moderada	3= ocurrencia severa

Se estimó para cada órgano de cada individuo el índice de patrón de reacción de un órgano ($IH_{Org.Rp}$), el cual permite expresar la calidad de las lesiones en un órgano. Este índice se calcula con la suma de los factores de importancia (w) multiplicados por los valores de puntuación (a) de las alteraciones correspondientes a ese patrón de reacción. El índice del órgano (IH_{Org}), representa el grado de daño de un órgano, se calcula con la multiplicación de los factores de importancia por los valores de puntaje de todos los cambios encontrados al examinar el órgano, este representa el grado de daño del un órgano. Para el caso de la branquia es [$IH_{branquia}$] y para hígado [$IH_{hígado}$]. Por último, se realizó el índice histopatológico total (IH_{Tot}) de un individuo que es la suma de los índices de los órganos de cada individuo, en este caso considerando únicamente el [$IH_{branquia}$]+[$IH_{hígado}$]>, se propone que el IH_{Tot} representa el estado de salud general de ese pez.

8.5 Análisis del índice de enfermedad (FDI) para *Fundulus grandissimus*.

Para la evaluación del FDI del pez *Fundulus grandissimus* se tomaron en cuenta las alteraciones macroscópicas externas e internas, siguiendo la propuesta de Lang y Wosniok (2008) y se adaptó a la especie estudiada. Este índice utiliza datos de presencia/ausencia de enfermedades, los grados de severidad en el que se encuentra cada enfermedad y el factor de ponderación específico para cada enfermedad.

8.5.1 Enfermedades

Según la RAE (2019b) se define como enfermedad a una alteración más o menos grave de la salud. Otra definición de enfermedad es que corresponde a un estado anormal de los valores (cualitativos y cuantitativos) de las funciones del sistema (Peña y Paco, 2003), en este caso el sistema es representado por el pez *Fundulus grandissimus*.

En base a los análisis macroscópicos y microscópicos en *F. grandissimus* y a lo propuesto por Bucke *et al.* (1996) se realizó una clasificación de enfermedades externas y parasitarias. En este análisis se identificaron siete enfermedades que se muestran en la *Tabla 4* y sus características se describen en el *Anexo VI*. Los nódulos en el hígado fueron examinados en los análisis histopatológicos para determinar su grado de severidad.

8.5.2 Prevalencia de enfermedades

Para conocer que enfermedad se presentó con mayor frecuencia en *Fundulus grandissimus* se hizo un cálculo de prevalencia. La prevalencia es definida como el número de casos dividido por la población total revisada, en este caso fue el número de peces que presentaron la enfermedad entre el total de peces revisados.

Tabla 4: Enfermedades externas e histopatologías tomadas en cuenta para el índice de enfermedad de *Fundulus grandissimus* (FDI).

Enfermedades	
Alteraciones externas	<ul style="list-style-type: none"> • Ulceraciones en piel • Daño en aletas • Asimetría branquial • Pigmentación branquial
Parásitos	<ul style="list-style-type: none"> • Nematodos en cavidad celómica • Cestodos en cavidad celómica • Trematodos en branquia
*Nódulos/Neoplasmas macroscópicos en hígado	<ul style="list-style-type: none"> • Tumores benignos • Tumores malignos

**confirmación microscópica*

8.5.3 Factor de importancia específico de las enfermedades

El análisis de factor de importancia se realizó para las alteraciones externas y los parásitos que afectaron a la especie, se tomó en cuenta la opinión de expertos en enfermedades de peces y se usó el método de Bradley-Terry de comparaciones pareadas para darle una calificación a cada enfermedad. Para el análisis se realizó una comparación entre enfermedad i contra enfermedad j , con cuatro posibles resultados: a) La primera enfermedad (i) es más severa que la segunda (j); b) La segunda enfermedad (j) es más severa que la primera (i); c) Ambas enfermedades son similarmente severas; d) No se puede dar ninguna evaluación. Conjuntamente, para el modelo se tomó en cuenta la prevalencia de las enfermedades. La elaboración del análisis matemático se realizó en el Área de Computo Científico de la UMDI Sisal a cargo del M. en C. Rafael Eduardo Pacheco Góngora. El resultado del análisis de expertos dio una ponderación específica de 1 a 7 como se muestra en la *Tabla 5*.

Tabla 5: Ponderación específica de enfermedades y parásitos en *Fundulus grandissimus*.

<i>Enfermedad</i>	<i>Peso de factor de importancia</i>
Ulceracion de piel	2.3
Daño en aletas	1.0
Asimetría branquial	4.0
Pigmentación branquial	4.6
Cestodos	7.0
Nematodos	6.9
Trematodos	6.2

8.5.4 Grados de severidad

Los grados de severidad para las enfermedades consideradas van de 1 a 3 (1=leve, 2=moderado 3=severo), algunas enfermedades fueron definidas según Bucke *et al.*, (1996). Las enfermedades que no se encontraban especificadas se determinaron por extensión de enfermedad en la zona donde se presentó (%), y número de individuos para el caso de los parásitos como se muestra en el *Anexo VI*.

8.5.5 Calculo del FDI

El índice para cada individuo se calculó sumando el puntaje de cada enfermedad evaluada y el valor del índice histopatológico total. El puntaje de cada enfermedad en un individuo se calculó multiplicando un valor que representa la presencia (1) o la ausencia (0) de la enfermedad, por el grado de severidad que presentó (1, 2 o 3) y después se multiplicó por el factor de importancia específico que se consiguió (*Figura 8*).

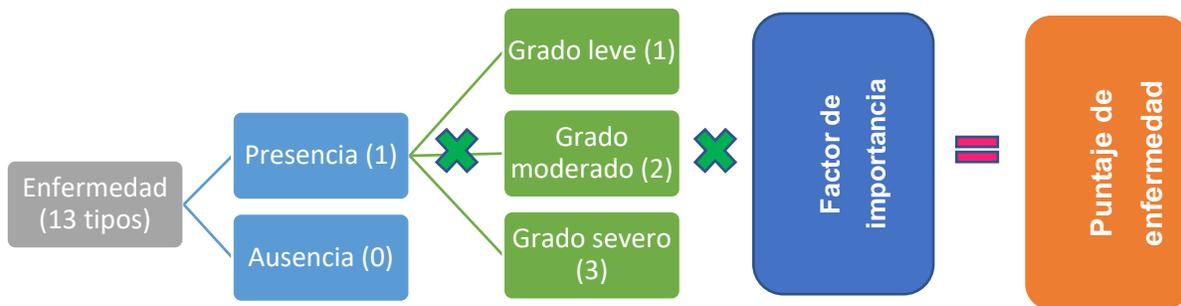


Figura 8: Procedimiento para obtener el puntaje de cada enfermedad de acuerdo a Lang y Wosnoik (2008).

8.6 Índice de salud de Peces para *Fundulus grandissimus* (ISP).

Para obtener un índice integrativo que evaluara las afecciones externas, internas y la histopatología total del pez, se procedió a sumar los valores obtenidos en cada índice (FDI y el índice histopatológico total). El número final (ISP) de cada individuo evaluado determinó el grado de salud en el que se encontró cada pez *Fundulus grandissimus* analizado; para saber que grado de salud representa dicho valor, se obtuvo el puntaje máximo que representaría un pez con la peor salud y se hizo una clasificación.

Primero, para el caso del índice histopatológico total se sumaron los factores de importancia “w” de las alteraciones de branquia e hígado y se multiplicaron por 3, el cual sería el valor de puntuación “a” más alto que una alteración puede presentar, el resultado es 156 para un pez que presente todas las alteraciones histopatológicas en branquia e hígado y que estas sean muy severas. Para el caso del FDI, se sumaron los factores de importancia específica de las enfermedades y se multiplicaron por 3, el cual es el puntaje más alto que presentaría una enfermedad; el valor máximo del FDI de *Fundulus grandissimus* en este estudio, es 96, el cual representaría a un pez con todas las enfermedades y la severidad más alta. Después estos valores se sumaron para saber el valor máximo que presentaría un pez *F. grandissimus* con una salud (ISP) muy mala, el cual sería 252.

Se determinaron cinco tipos de salud en base a los puntajes totales que podría obtener el ISP, a) buena salud, con puntajes de 0 a 50.4, b) salud aceptable, de 50.5 a 100.8, c) salud regular, de 100.9 a 151.2, d) salud mala, de 151.3 a 201.6 y e) salud muy mala, de 201.7 a 252, y el valor de los ISP de cada organismo evaluado fue comparado con el ranking para saber su grado de salud (*Figura 9*).

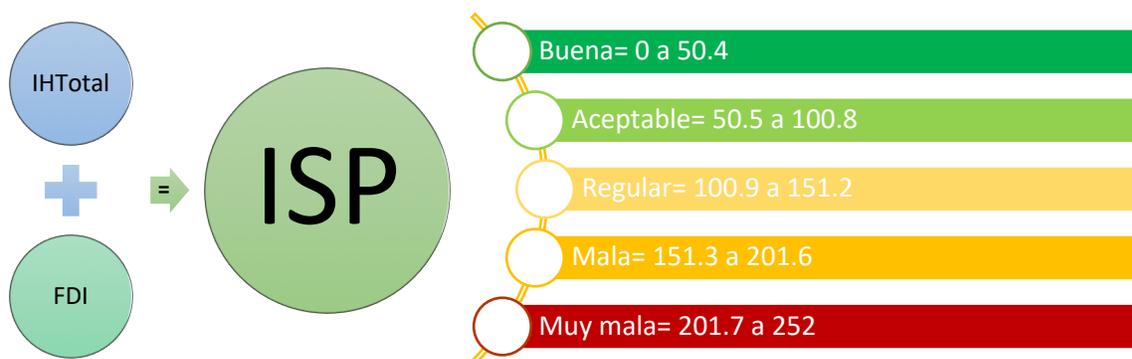


Figura 9: Datos que conforman el índice de salud de peces (ISP) y rangos de salud asignados a cada puntaje de ISP resultante. Índice Histopatológico Total (IHTotal); Fish Disease Index (FDI).

8.7 Análisis estadístico.

El análisis descriptivo de los datos y las evaluaciones de normalidad se realizaron en el programa STATISTICA. Las pruebas de contraste de los datos ambientales, por muestreo; y de los datos biológicos, por sexo, sitio y sitio*muestreo; se hicieron usando el test para datos no paramétricos de Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95%, también se utilizó el programa STATISTICA. Las correlaciones de las variables se realizaron a través de análisis multivariado no paramétrico con el programa PRIMER v7 y PERMANOVA *add on*. Para evaluar la relación entre los índices evaluados se realizó una matriz de correlación con el coeficiente de Spearman. Para la vinculación de los datos biológicos (ISP, FDI, IHT) con los ambientales se usó la rutina DISTLM (*Distancia basada en Modelos Lineales*), se transformaron los datos biológicos por raíz cuadrada, posteriormente se realizó una

matriz de distancias euclidianas y esta matriz se vinculó con los datos ambientales, usando el criterio de selección R^2 y 999 permutaciones.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados y su discusión son presentados conjuntamente en el siguiente orden; las variables ambientales del agua y sedimento de las ciénagas; 1) Variables físicas y químicas: temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad y profundidad; 2) Compuestos nitrogenados presentes en el agua de las ciénagas: ion amonio, amoníaco, nitritos, nitratos y nitrógeno total del agua; 3) nitrógeno contenido en sedimentos de la Ciénaga: nitrógeno orgánico total y relación carbono-nitrógeno orgánico. Es importante mencionar que la discusión de nitrógeno en agua y nitrógeno en sedimento se realizó conjuntamente.

Posteriormente se presentarán los datos biológicos evaluados para *Fundulus grandissimus*; 1) Morfometría: longitud, peso, factor de condición, índice hepatosomático e índice gonadosomático; 2) Histopatología: de branquia, hígado y evaluación de los índices histopatológicos; 3) índice de enfermedades (FDI): prevalencia y evaluación del FDI; 4) índice de salud (ISP): evaluación del ISP y estado de salud de *F. grandissimus*.

Por último, se mostrarán las relaciones entre las variables ambientales y los índices IH_{total} , FDI e ISP.

9.1 Variables ambientales de agua y sedimento

Para cada sitio por muestreo se realizaron pruebas de normalidad por Shapiro Wilk. En Sisal las variables que presentaron normalidad ($p > 0.05$) fueron temperatura, OD, salinidad y profundidad en abril; temperatura, pH, OD, profundidad en mayo; OD y profundidad en julio; OD, profundidad y TDS en septiembre. Debido a que por muestreo algunas variables fueron normales y otras no, se decidió realizar las comparaciones estadísticas entre temporadas por pruebas no paramétricas. Progreso y Chicxulub también presentaron distribuciones no normales, por lo que

los análisis estadísticos se analizaron por pruebas no paramétricas. Los valores de p obtenidos del test de normalidad se muestran en la *Tabla 6*. Las comparaciones de las variables ambientales se realizaron mediante la prueba de contraste de Kruskal-Wallis, los valores de p se muestran en la *Tabla 8*.

Tabla 6: Valores de p para la prueba de normalidad de Shapiro Wilk.

Sitio	Sisal				Progreso				Chicxulub			
	Abr	May	Jul	Sep	Abr	May	Jul	Sep	Abr	May	Jul	Sep
T(°C)	0.062	0.3074	0.0229*	0.0109*	0.1843	0.1726	0.0562	0.0072*	0.1461	0.0105*	0.1066	0.1059
pH	0.0007*	0.1898	0.001*	0.0234*	0.005*	0.085	0.05	0.0028*	0.1388	0.1353	0.0744	0.0355*
OD (mg/L)	0.1036	0.2145	0.0768	0.2479	0.0035*	0.0018*	0.0499*	0.1464	0.0681	0.0452*	0.1403	0.0044*
Sal	0.0716	0.0006*	0.0064*	0.006*	0.0863	0.128	0.0618	0.0013*	0.0637	0.01*	0.0192*	0.0078*
Prof (cm)	0.0965	0.2654	0.1239	0.0776	0.0013*	0.0259*	0.1645	0.0999	0.1087	0.0865	0.1333	0.0148*
NH ₄ (ug/L)	0.8165	0.247	0.001*	0.6674	0.2075	0.9823	0.0168*	0.0096*	0.3557	0.5676	0.1193	0.6069
NH ₃ (ug/L)	0.0109*	0.2381	0.1296	0.1488	0.2443	0.1321	0.5223	0.2373	0.1208	0.252	0.5002	0.3327
NO ₂ (ug/L)	0.5988	0.3195	0.0228*	0.6025	0.000*	0.5498	0.5366	0.0329	0.097	0.1378	0.1023	0.1326
NO ₃ (ug/L)	0.074	0.8987	0.1107	0.044*	0.3193	ND*	0.8955	0.0442*	0.5657	0.0379*	0.0879	0.9732
Ntot (mg/L)	0.3014	0.1485	0.0031*	0.9129	0.5385	0.6757	0.9466	0.1282	0.3632	0.1401	0.2077	0.1653
N (mg/g)	0.0001*	0.0104*	0.1282	0.0055*	0.0474*	0.022*	0.0571	0.1587	0.0259*	0.0491*	0.0335*	0.0702

ND=no determinado, *= datos no normales ($p < 0.05$).

9.1.1 Variables físicas y químicas del agua

9.1.1.1 Temperatura

La temperatura (°C) presentada durante los cuatro muestreos en Sisal varió de 26.2 a 28.8, la de Progreso 24.6 a 30.7 y la de Chicxulub de 28.0 a 35.7. La *figura 10* muestra el comportamiento de la temperatura en los tres sitios de estudio. Se observó una temperatura ligeramente más alta (7 y 5°C por arriba) para el sitio de Chicxulub con respecto a los otros dos sitios durante los cuatro muestreos. Las temperaturas más altas para todos los sitios se midieron en el mes de mayo y las más bajas para abril, los dos meses se consideran como temporada de secas.

La prueba de contraste para la temperatura mostró que en Sisal no hubo diferencias significativas entre los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre ($p > 0.05$). En Progreso hubo diferencia entre el mes de abril, con temperaturas más bajas con respecto a mayo, julio y septiembre ($p < 0.05$); y en Chicxulub abril también tuvo temperaturas más bajas que se diferenciaron de los demás muestreos, al igual mayo con temperaturas más altas se diferenció de los otros meses ($p < 0.05$) (Figura 11).

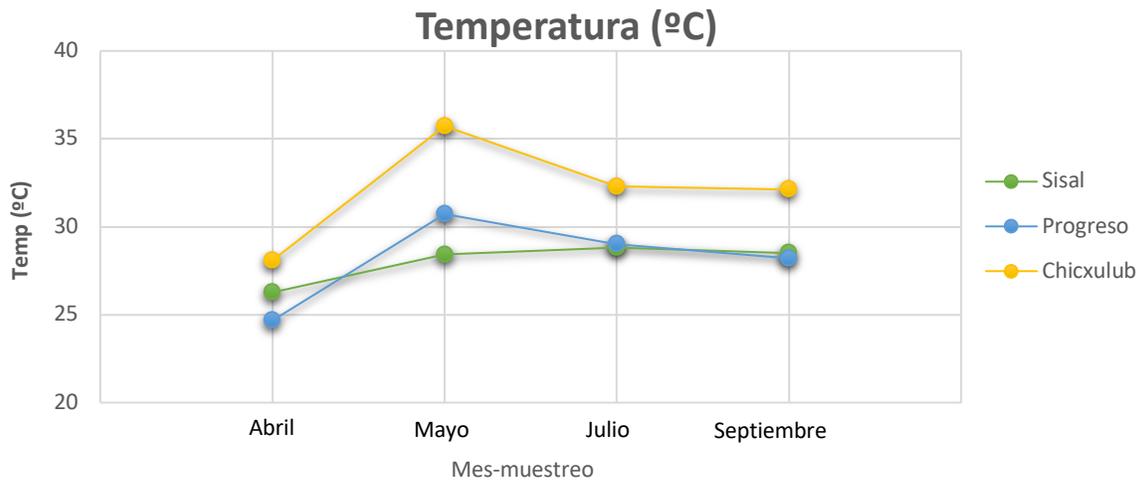
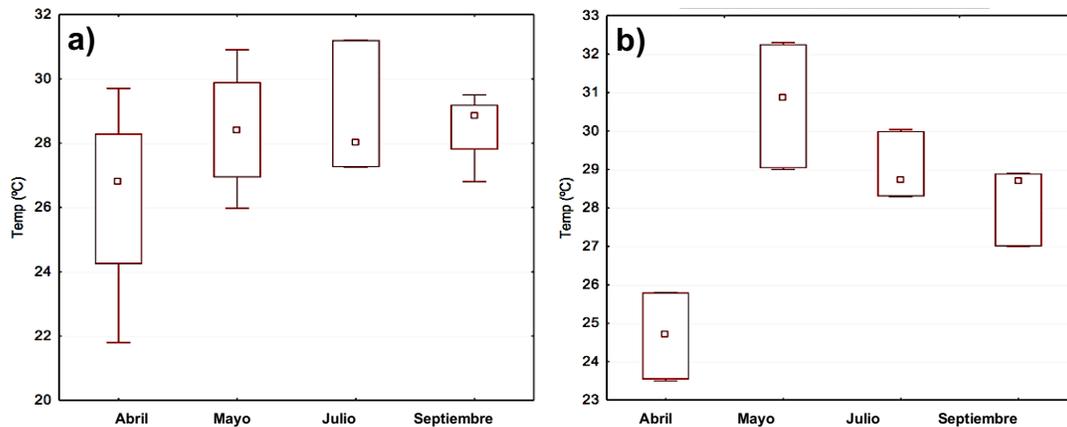


Figura 10: Valores promedio de las temperaturas registradas en las cienegas de Sisal, Progreso y Chicxulub durante los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.



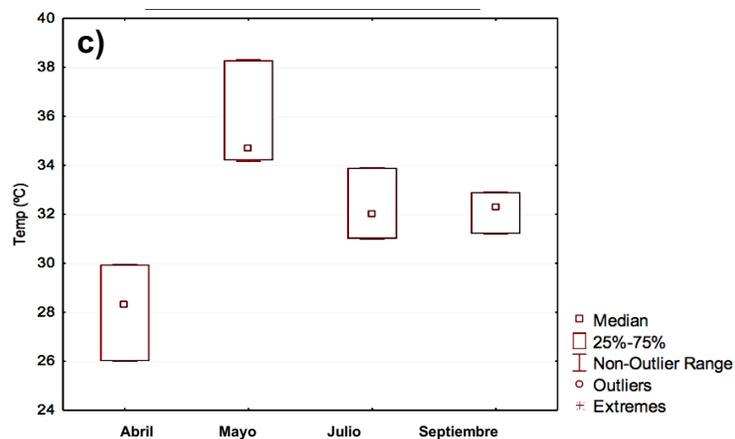


Figura 11: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de la temperatura (Temp °C) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

El sitio de Progreso y Chicxulub fueron evaluados el mismo día, pero en diferentes horarios; Chicxulub fue el última localidad analizada, el horario de muestreo fue de 10 am a 12 pm a diferencia de Progreso y Sisal que fueron muestreados de 8 am a 10 am, entonces podría ser que el nivel de radiación afectará a las temperaturas registradas en cada sitio, en particular a Chicxulub por ser el sitio muestreado en un horario con más sol y en consecuencia fue el sitio con el registró de temperaturas más altas durante todos los muestreos; Benjumea y Wills (2007) comprobó que la hora influye en la temperatura que presenta el agua de la ciénaga.

En el estudio de mayo (secas), julio y septiembre (lluvias) en los sitios Progreso y Chicxulub presentaron las temperaturas más altas, mientras Sisal se mantuvo constante entre temporadas, Beltrán-Álvarez *et al.* (2012) y Silva y Acuña-González (2006) encontraron que, en los meses con mayor radiación solar, las temperaturas presentes en el agua eran mayores, por lo cual las temperaturas en Progreso y Chicxulub en mayo (temporada de secas) y julio (lluvias y canícula) podrían deberse a la mayor radiación propia de la temporada de secas y canícula.

Además del horario y temporada de muestreo se puede considerar a la cobertura vegetal como un factor que afectó a las temperaturas obtenidas en cada sitio; al hacer una evaluación visual sobre la cantidad de vegetación arbórea (mangles) presente en cada sitio, se pudo observar que en Sisal hay más árboles que en Progreso y Chicxulub, siendo este último el que menos vegetación arbórea tiene.

Los peces tienen un límite inferior y superior de tolerancia a la temperatura que cuando son sobrepasados pueden afectar al crecimiento y reproducción, además de causar propensión a ciertas enfermedades (Martínez, 1998; Roberts, 2012), las temperaturas cercanas o arriba de 33.3°C pudieron afectar al metabolismo de los *Fundulus grandissimus*, ya que estos peces no han sido encontrados en temperaturas superiores a esta y esta temperatura podría ser su límite superior de tolerancia térmica (ver resultados 9.2 Material biológico).

9.1.1.2 Potencial de hidrógeno

El pH en Sisal varió de 8.3 a 8.4, en Progreso de 7.1 a 8.8 y en Chicxulub de 7.1 a 8.6, como se observa en la *figura 12*. El pH más bajo para los tres sitios se presentó en el mes de mayo. La prueba Kruskal-Wallis mostró que el pH en Sisal no tuvo diferencias significativas ($p > 0.05$). Progreso en abril y mayo fueron diferentes con pH bajos ($p < 0.05$) en comparación a los demás meses; mientras julio y septiembre fueron semejantes. Chicxulub tuvo diferencias significativas entre todos los muestreos, los meses de secas (abril y mayo) presentaron los pH bajos y los meses de lluvia (julio, septiembre) los pH altos (*Figura 13*).

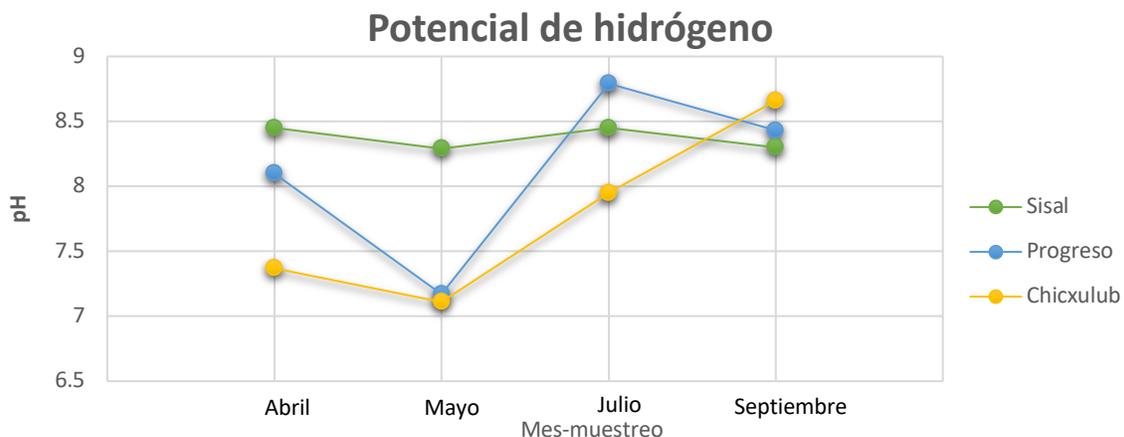


Figura 12: Medias del potencial de hidrógeno (pH) presentado en las cienegas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

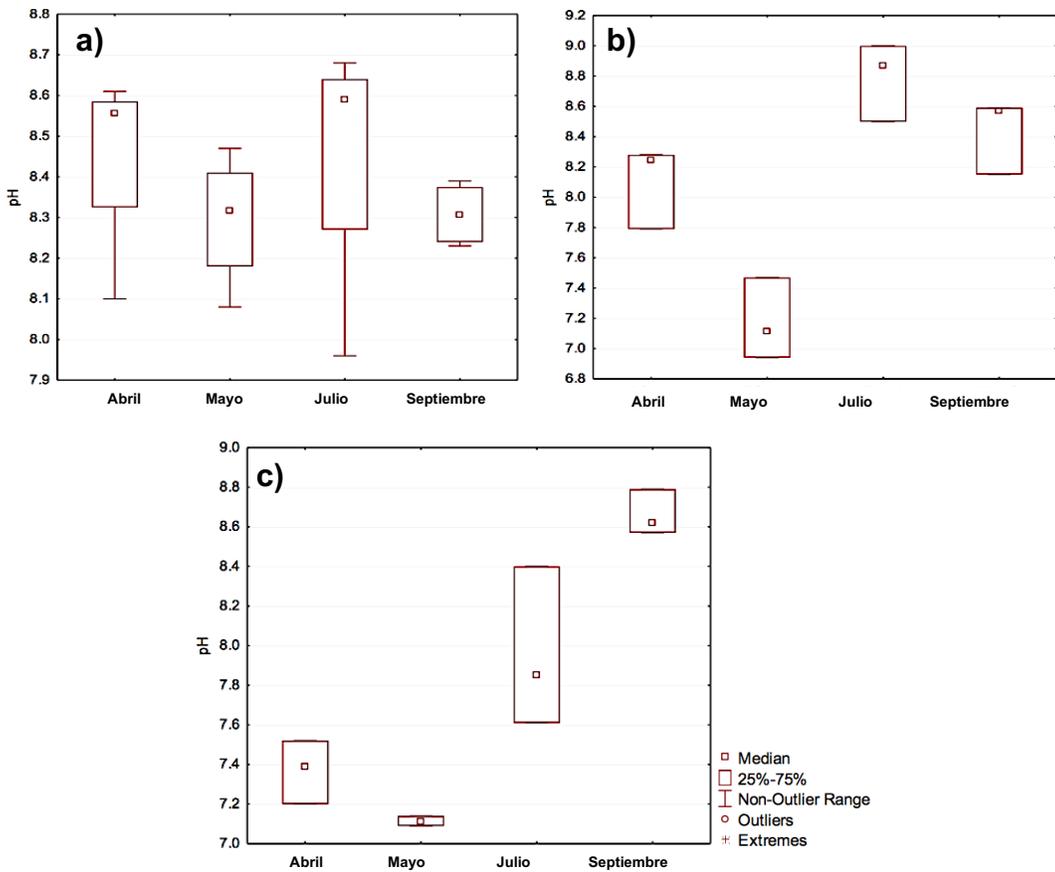


Figura 13: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del potencial de hidrógeno (pH) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$)

El pH está determinado por las concentraciones del ion hidrógeno en la disolución, en aguas saladas y salobres se registran pH más alcalinos por la abundancia de los carbonatos, ya que el suelo de los sitios muestreado es de tipo calizo, este contiene grandes cantidades de carbonato calcio y por eso los valores de pH presentados en los tres sitios tienden a la alcalinidad (Armienta *et. al.*, 2011; Fernández y Sánchez, 2003). Los valores de pH mostraron una menor alcalinidad para los sitios de Progreso y Chicxulub en los dos meses de secas (abril y mayo), este comportamiento se podría deber a un bajo aporte de lluvias y un aumento en el aporte de materia orgánica proveniente de las aguas residuales domésticas, que al descomponerse suelen acidificar el agua. En Sisal el pH se mantuvo constante, esto podría deberse a que a pesar de la falta de lluvias y del bajo aporte de agua marina en los meses de secas, esta ciénaga es alimentada por varios manantiales de agua dulce.

En general, parece ser que los peces son capaces de tolerar pH de 6 a 9, aunque en condiciones extremas pueden reducir la capacidad de nado, el riesgo más grande es que con los aumentos de pH incrementan las concentraciones de amoníaco (Martínez, 1998) (ver resultados 9.1.2.2 Amoníaco). En este sentido los peces que pudieron ser más afectados por los niveles de pH son los de Sisal en ambas temporadas, los de Progreso en lluvias (julio y septiembre) y los de Chicxulub en el mes de septiembre.

9.1.1.3 Oxígeno disuelto

El comportamiento del oxígeno disuelto (mg/L) entre los sitios Sisal, Progreso y Chicxulub se observa en la *figura 14*. Las concentraciones más bajas de oxígeno disuelto se encontraron en Chicxulub, presentando abril (0.80), mayo (0.55), julio (0.45). Las mayores concentraciones se encontraron en mayo (7.6) para Progreso y en Julio (7.3) para Sisal. La prueba Kruskal-Wallis mostró que en Sisal y Progreso no hubo diferencias significativas en los niveles de OD entre muestreos ($p > 0.05$). Por otro lado, Chicxulub presentó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el muestreo de septiembre con respecto a los demás meses, presentando mayores niveles de OD, 2.25 a 3.5 mg/L más con respecto a abril, 2.35 a 4.54 mg/L más en comparación a mayo y 2.51 a 4.6 mg/L más en contraste con julio (*Figura 15*).

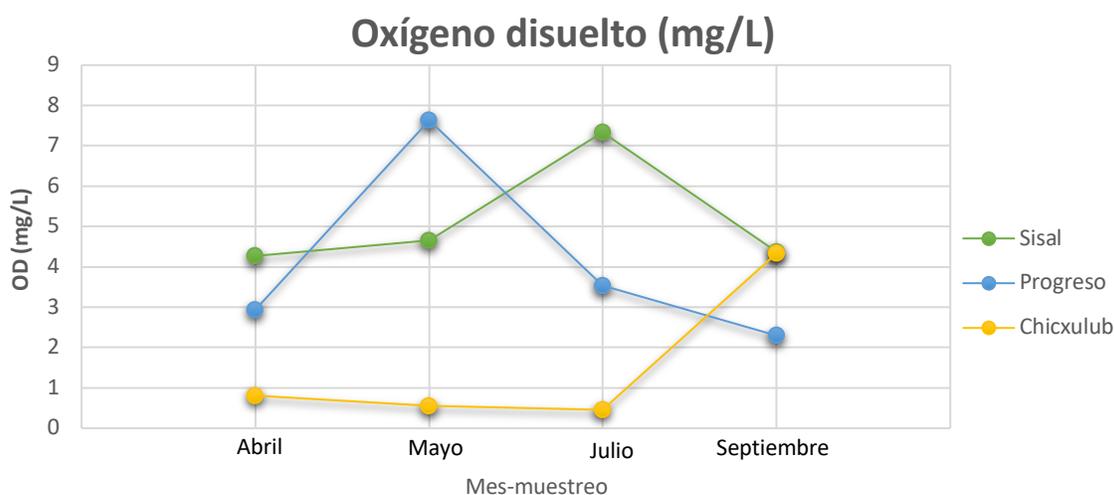


Figura 14: Medias de oxígeno disuelto (OD mg/L) registrado en la ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

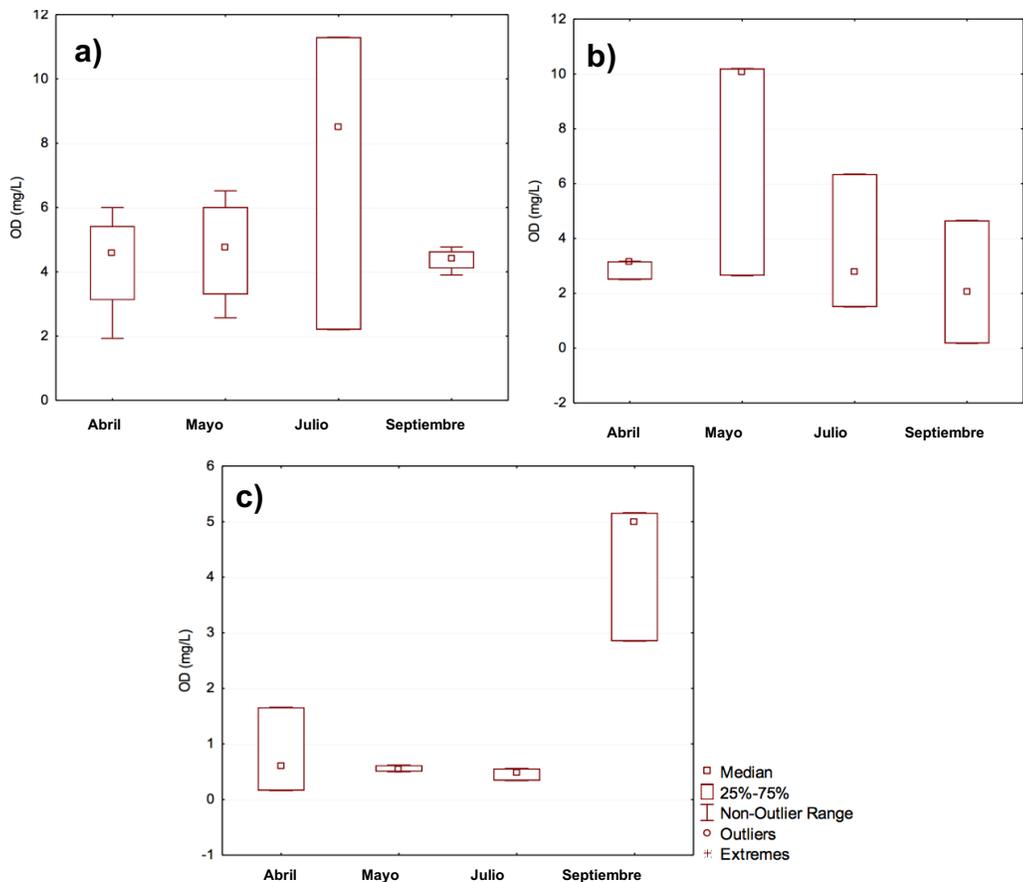


Figura 15: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del oxígeno disuelto (OD mg/L) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p > 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$)

El nivel constante de OD en Sisal puede deberse a que la ciénaga es alimentada por manantiales durante todo el año, por lo cual en la temporada de secas el OD no se ve afectado por falta de agua; también se puede decir que la mezcla del agua de la ciénaga es regular a lo largo de los cuatro muestreos, es decir de las dos temporadas estudiadas (secas y lluvias).

Progreso es un humedal con constante aporte de agua marina y agua dulce, porque se encuentra más cerca de la laguna de Chelem, y de manantiales que se han descrito como un acuífero semi-confinado que permite que el agua dulce fluya hacia la superficie (Villasuso-Pino *et al.*, 2011), en conjunto aportan agua durante todo el año a la ciénaga, por lo que la mezcla de agua es constante.

Arceo-Carranza *et al.* (2016) señala que la inundación de la ciénaga Chicxulub esta regulada por las temporadas de lluvias y las mareas. Las concentraciones más bajas de oxígeno disuelto de Chicxulub, en los meses de secas: abril (0.80 mg/L) y mayo (0.55 mg/L) y julio (0.45 mg/L) que fue un mes de canícula, se consideran hipóxicas, estos registros pudieron ser afectados por las altas temperaturas del sitio (hasta 35.7°C), ya que la solubilidad del oxígeno es dependiente de la temperatura (Benjumea y Willis, 2007; Peña *et al.*, 2012) por que el incremento en la energía cinética de los gases, disminuye su solubilidad en agua. Valdez (1994), observó que, en la temporada de verano, con temperaturas más altas, el OD en una laguna hipersalina, disminuye. Otro factor que afectó al OD fueron las fuentes de agua dulce y marina, ya que, a diferencia de Progreso, esta zona se encuentra más alejada de la entrada del mar y de manantiales. Además, la disminución del OD puede ser provocada por la descomposición de la materia orgánica; presente en la ciénaga por descargas directas de aguas residuales domésticas, ya que existe una demanda de oxígeno por los organismos degradadores y por lo tanto se consume el oxígeno presente en el agua (Batllori, 2007; Silva, 2006). Otro factor que pudo afectar a la disolución de oxígeno son las altas salinidades presentadas en el sitio, ya que las sales disueltas disminuyen los espacios intermoleculares disponibles en el agua (Arroyo *et al.*, 2012).

Los requerimientos de OD para cada especie de peces es diferente, sin embargo, un organismo no puede tolerar un bajo OD por mucho tiempo ya que puede ocasionarle la muerte o tener efectos indirectos como causarles susceptibilidad a enfermedades y parásitos (Martínez, 1998); en los tres sitios muestreados se registraron concentraciones menores a 3 mg/L que pudieron ser estresantes para los *Fundulus grandissimus* (ver resultados 9.3 Comparación de Variables Ambientales e Índices).

9.1.1.4 Salinidad

Las salinidades medias registradas para Sisal, Progreso y Chicxulub se muestran en la *figura 16*. Las concentraciones más bajas de sales se observaron en Sisal (5.2 a 12.01). Las concentraciones más altas se presentaron en Chicxulub en los meses

de abril (92.0), mayo (189.6), julio (248.0) y septiembre (51.7), consideradas salinidades metahalinas a hiperhalinas.

En la prueba de contraste Kruskal-Wallis, las salinidades de los tres sitios mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$). En Sisal el mes de julio contrasta con salinidad más alta respecto a los meses de abril y septiembre, además en el mes de septiembre se registraron salinidades muy parecidas entre las cuatro estaciones muestreadas. Para Progreso se puede observar que las salinidades más altas y semejantes se registraron en abril y julio; las más bajas en mayo y septiembre, el contraste más evidente es el de septiembre con respecto a julio ($p < 0.05$). En Chicxulub se observó que las salinidades entre cada muestreo fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) (Figura 17).

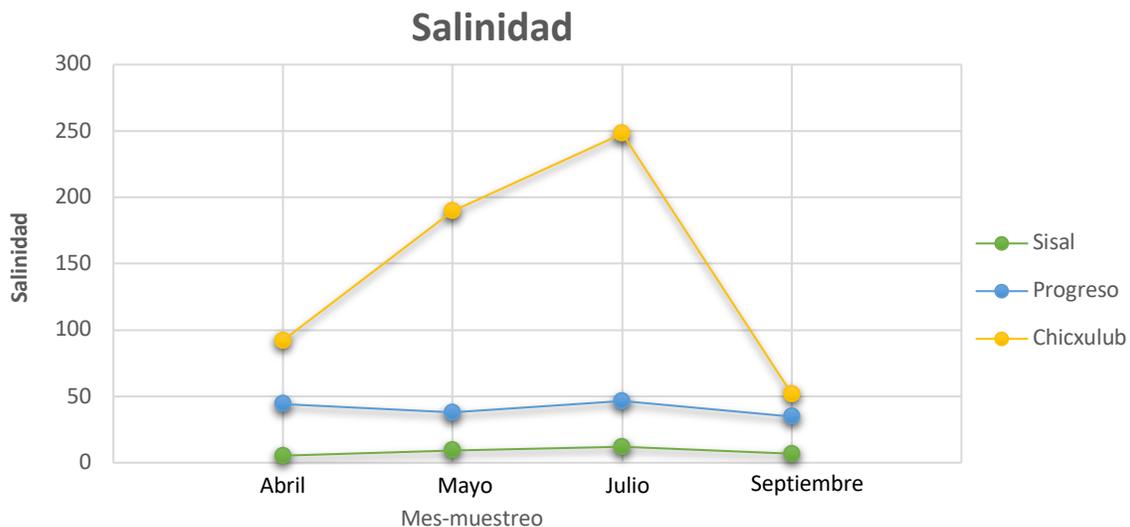


Figura 16: Salinidad media registrada en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los meses de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

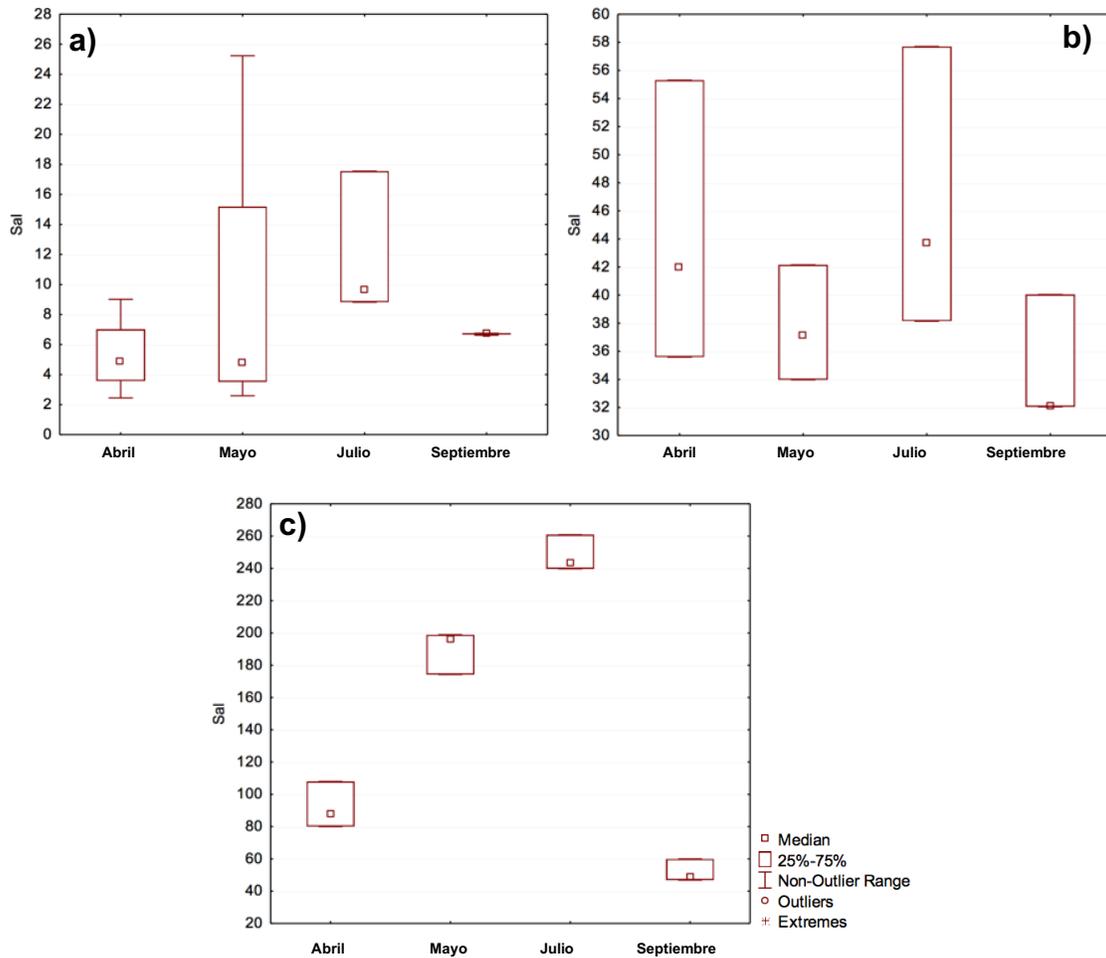


Figura 17: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de la salinidad (Sal) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$)

Las salinidades registradas en Sisal fueron las más bajas, esto podría deberse a que esta ciénaga tiene aportes constantes de agua dulce y que la parte muestreada no se veía afectada por los cortes de carretera, lo que provoca que la mezcla del agua sea continua. En el sitio de Progreso las condiciones de la salinidad fueron intermedias a las registradas en Sisal y Chicxulub, las salinidades altas en Progreso y Chicxulub ya habían sido reportadas por Teutli (2004) y Arceo-Carranza *et al.* (2016); el efecto del aumento de la salinidad en ciénagas afectadas por construcción de carreteras ya ha sido registrado en otras zonas de Yucatán, como en el sistema de humedales de Chabihau (Batllori-Sampedro y Flebes-Patrón, 2007). Las concentraciones más altas en Chicxulub en los meses de abril, mayo, julio y septiembre se consideran salinidades metahalinas a hiperhalinas, esto se puede

deber a los bajos aportes de agua marina y de lluvia durante abril-julio en el año estudiado, por cual la evaporación de la masa de agua fue más rápida, y por lo tanto las sales se acumularon hasta formar precipitados, los cuales fueron visibles a simple vista; otra posible causa es que esta parte de la ciénaga se encuentra más alejada de los aportes de agua, tanto salada como dulce, y por ende no hay agua suficiente para la disolución de las sales.

Además, en los tres sitios se puede observar un ascenso en las concentraciones de julio, mes considerado de temporada de lluvias, pero que en año muestreado (2018) registró las temperaturas más altas del año y por ende las condiciones ambientales se asemejaron más a temporada de secas; esta puede ser la razón que en ese mes se registraran las mayores concentraciones de salinidad. Por otro lado, el descenso de la salinidad en los tres sitios se observó en septiembre, en el cual se presentaron lluvias constantes, lo que permitió la dilución de las sales (Peña *et al.*, 2012).

Las grandes variaciones de salinidad afectan a la osmorregulación de órganos como branquias y riñones de los peces, además influye en la reproducción, nutrición, crecimiento y distribución de los organismos (Martínez, 1998; Roberts, 2012); por lo que los cambios en las salinidades de los sitios muestreados, principalmente Chicxulub, pudieron limitar la presencia de *Fundulus grandissimus*. En el caso de Progreso los niveles de salinidad pudieron causar daños en los órganos de estos peces (ver resultados 9.2 Material biológico y 9.2.2 Histopatología).

9.1.1.5 Profundidad

La profundidad medida en cm vario de 30.7 a 43.2 en Sisal, de 46.8 a 53.0 en Progreso y de 36.0 a 54.3 en Chicxulub. Sisal presentó las menores profundidades, Progreso se mantuvo constante durante los cuatro muestreos y Chicxulub fue el sitio que vario más durante los cuatro meses (*Figura 18*). Mediante la prueba Kruskal-Wallis se observó que cada uno de los sitios no tuvo cambios significativos en la profundidad durante los meses muestreados ($p>0.05$) (*Figura 19*).

Los niveles medidos de la profundidad del agua en Sisal podrían indicar que el ingreso de agua en la ciénaga se mantiene constante a lo largo de las temporadas de secas y de lluvias. En Progreso y Chicxulub mostraron profundidades más grandes con respecto a Sisal, esto podría ser porque las estaciones de muestreo en Progreso y Chicxulub fueron en canales artificiales creados por la construcción de la carretera a Progreso en el caso del sitio P y de la carretera a Chicxulub pueblo, para el caso del sitio Cx; por lo cual estos canales son más profundos y se acumula el agua. Además, la profundidad puede relacionarse con otros parámetros como la temperatura del agua y el oxígeno disuelto, menores profundidades provocan un aumento en la temperatura del agua, mayores profundidades mejoran la cantidad de OD por efecto de la presión hidrostática (Roberts, 2012).

En relación con los peces, la profundidad se relaciona con como se distribuyen los organismos dentro de la ciénaga, ya que mayor profundidad significaría más volumen de agua en todo el humedal.

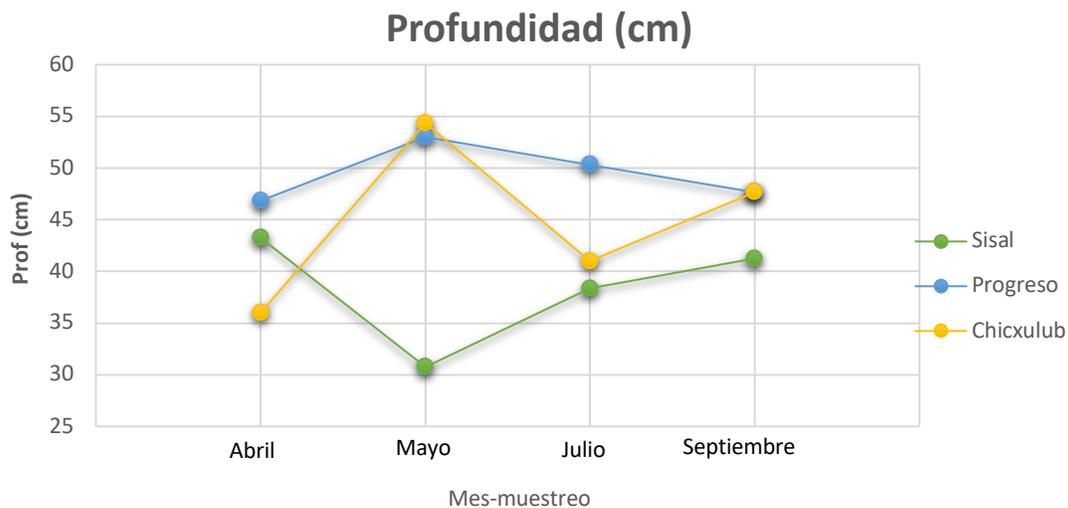


Figura 18: Profundidad media (Prof cm) presentada en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los meses de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

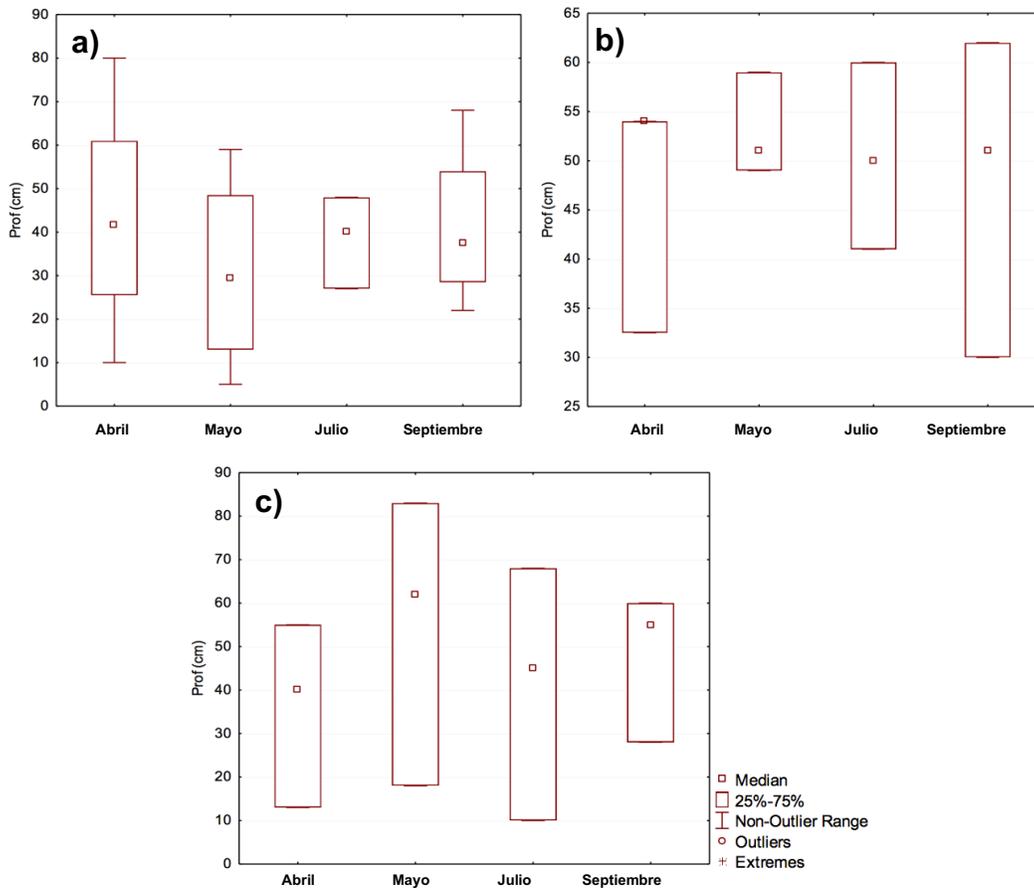


Figura 19: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de la profundidal (Prof cm) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p > 0.05$) y c) Chicxulub ($p > 0.05$).

9.1.2 Compuestos nitrogenados en agua

9.1.2.1 Ion amonio

De las concentraciones de amonio total obtenidas se obtuvieron el amoniaco y el ion amonio. Las concentraciones del ion amonio en Sisal varió de 210.4 a 325.5 $\mu\text{g/L}$. Se observaron las mayores concentraciones del ion amonio en el sitio de Chicxulub (116.5 a 554.4 $\mu\text{g/L}$) y las menores en Progreso (173.3 a 324.9 $\mu\text{g/L}$), el comportamiento del ion amonio en los tres sitios se observa en la figura 20.

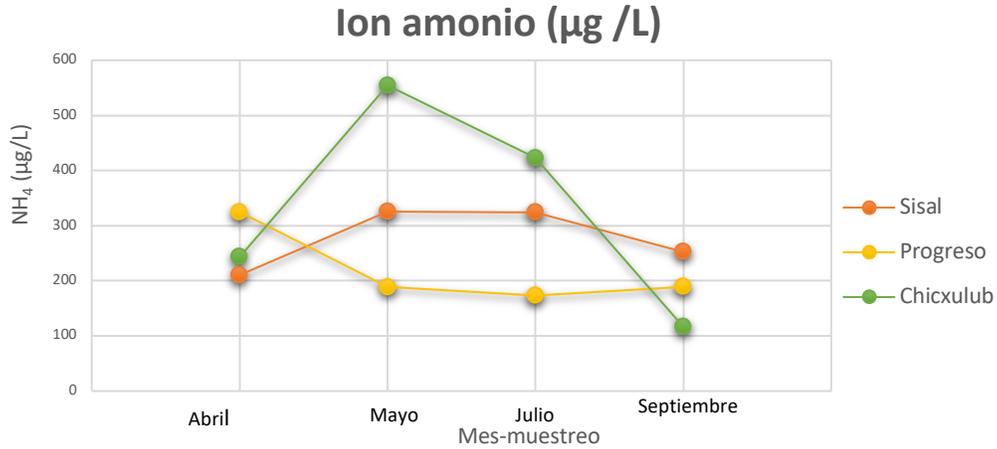
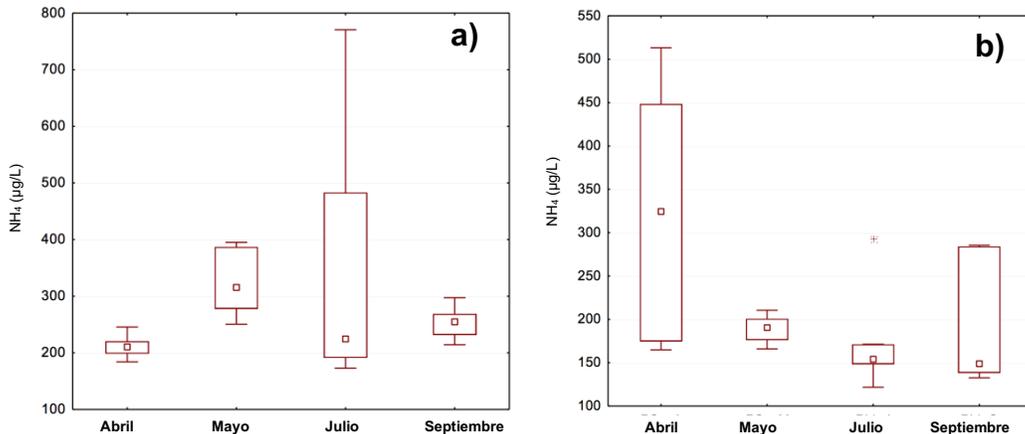


Figura 20: Concentraciones medias de ion amonio ($\text{NH}_4 \mu\text{g/L}$) encontradas en los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018 en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub.

En Sisal la prueba de Kruskal Wallis mostró que el amonio registrado en el muestreo de abril es significativamente menor ($p < 0.05$) con respecto a las concentraciones de los muestreos de mayo y septiembre; en Progreso no hay cambios significativos ($p > 0.05$) entre muestreos; Chicxulub presentó concentraciones significativamente más altas en los muestreos de abril ($49.8\text{-}192.5 \mu\text{g/L}$), mayo ($137.63\text{-}858.4 \mu\text{g/L}$) y julio ($162.02\text{-}574.13 \mu\text{g/L}$) con respecto a septiembre (Figura 21).



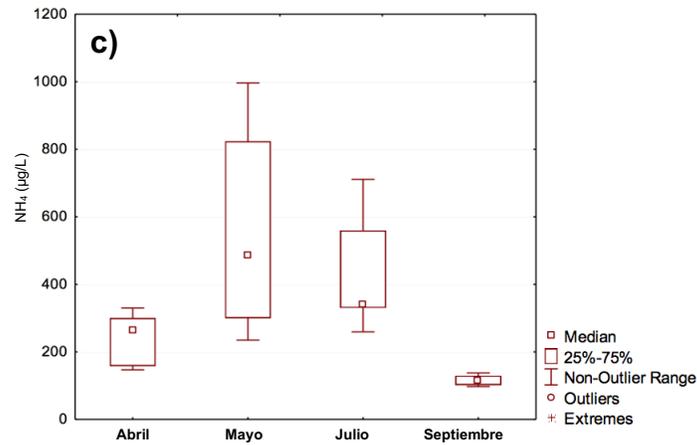


Figura 21: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del ión amonio (NH_4 $\mu\text{g/L}$) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p > 0.05$) y c) Chicxulub ($p > 0.05$).

Según Bower y Bidwell (1978) las concentraciones del ion amonio son influenciadas por el pH de la solución, en Sisal se observa que la relación entre el ion amonio y el pH parece ser inversamente proporcional en cada muestreo, cuando el pH aumento el NH_4 disminuyó y cuando el pH disminuyó el NH_4 aumentó. Otra variable que influye en las concentraciones de NH_4 es la temperatura, aunque posiblemente hay un efecto indirecto cuando esta afecta a los microorganismos que llevan acabo el proceso de amonificación.

Puede ser que las concentraciones presentadas se debieran a las salinidades, Montalvo-Estévez *et al.* (2013) observó concentraciones más altas de amonio en una laguna costera hipersalina (>360 $\mu\text{g/L}$), él menciona que las altas salinidades se relacionan con tiempos prolongados de residencia del agua y esto podría influir en los procesos reductivos de los nitratos, aumentando el amonio; si lo relacionamos con las concentraciones medias de Chicxulub en mayo y julio se puede decir que la masa de agua permaneció y provocó el aumento del amonio y salinidad en la ciénaga, esto también se relaciona con el periodo de canícula y la falta de lluvia en el 2018 en Yucatán.

Por otro lado, en una evaluación anterior en una zona restaurada de Progreso, los niveles de amonio en la ciénaga llegaron hasta 2 088 $\mu\text{g/L}$, asimismo la concentración media del sitio utilizado como referencia fue 495 $\mu\text{g/L}$ (Herrera-

Silveira *et al.*, 2012), esta concentración fue similar con las concentraciones de Chicxulub, sin embargo, el amonio en Progreso fue menor a lo anteriormente registrado.

9.1.2.2 Amoniaco

Las concentraciones más altas de amoniaco se presentaron en Sisal (56.2 $\mu\text{g/L}$) y Progreso (63.9 $\mu\text{g/L}$) en el mes de julio. Las concentraciones más bajas se obtuvieron en Chicxulub en abril (2.3), mayo (1.6), y julio (4.4) (*Figura 22*).

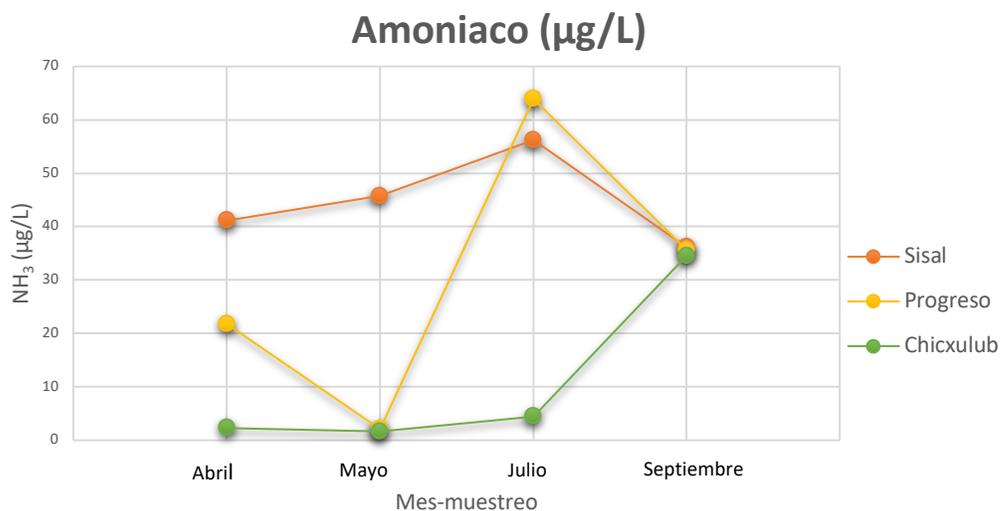


Figura 22: Concentraciones medias de amoniaco ($\text{NH}_3 \mu\text{g/L}$) presentadas en los meses de abril, mayo, julio y septiembre de 2018 en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub.

La prueba Kruskal-Wallis del amoniaco muestra que hay significancia en todos los sitios analizados ($p < 0.05$). Sisal tuvo menores concentraciones en el muestreo de septiembre con respecto de los muestreos de abril, mayo y julio. Progreso muestra que mayo es estadísticamente menor con respecto a abril, julio y septiembre, Chicxulub expone mayores concentraciones en el mes de septiembre con respecto a los demás muestreos (*Figura 23*).

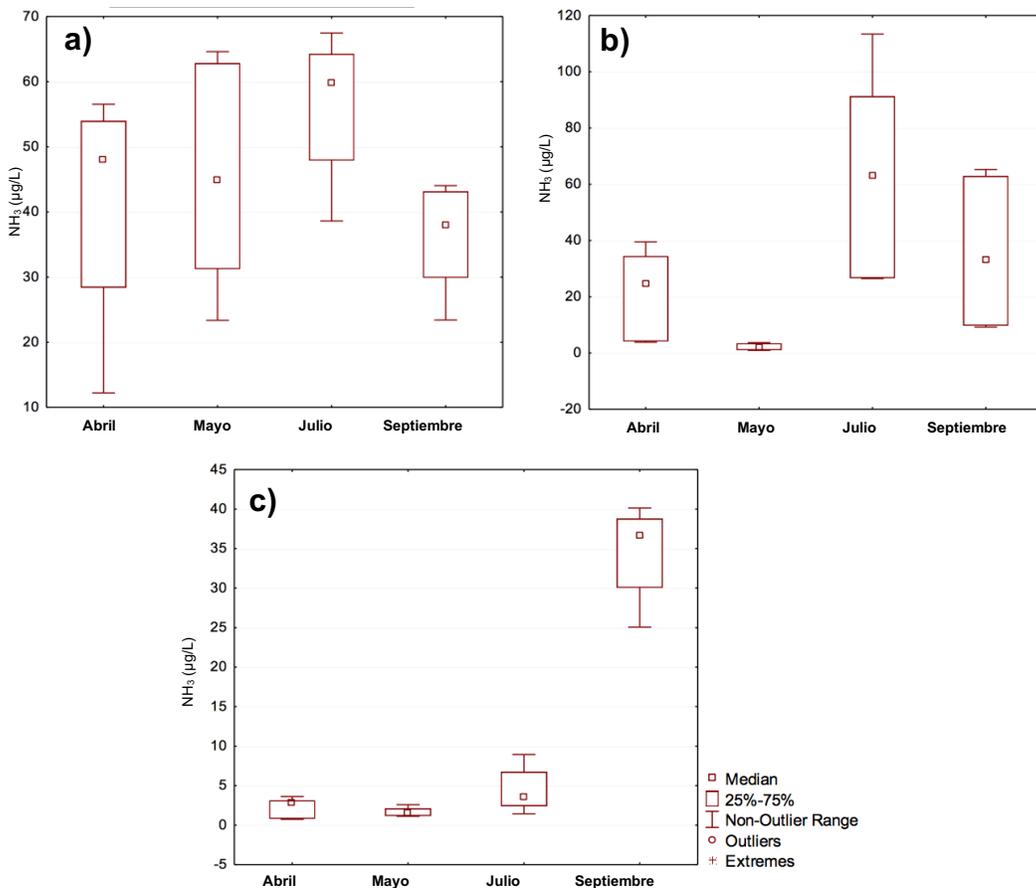


Figura 23: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del amoníaco (NH_3 $\mu\text{g/L}$) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

Las concentraciones de amoníaco son influenciadas por el pH y la temperatura (Bower y Bidwell, 1978), pero además es importante tomar en cuenta las salinidades que presentó cada sitio, por lo que fue necesario calcular la fuerza molal iónica que es causada por la salinidad (Khoo *et al.*, 1977; Whitfield, 1974), por lo cual este compuesto está relacionado con el pH, la temperatura y la salinidad, esta última en menor proporción.

En Sisal se puede observar que la temperatura y el amoníaco se comportan de manera similar (Figura 11a y 23a), cuando aumenta la temperatura aumentan las concentraciones de NH_3 . En Progreso el pH es el que se comporta de forma similar con el amoníaco, lo que indicaría que la mayor influencia en este sitio fue por el potencial de hidrógeno. Al igual que en Progreso, las concentraciones de amoníaco en Chicxulub son más influenciadas por los pH presentados, además el bajo

contenido de oxígeno y las hipersalinidades del sitio pudieron ser otro factor que provocó los bajos niveles de amoníaco en abril, mayo (secas) y julio (lluvias); además de que los microorganismos necesitan oxígeno para el proceso de nitrificación (Andrade *et al.*, 2015; Arroyo *et al.*, 2012; Behrendt, 2014) y la salinidad provoca una disminución temporal de la tasa de amonificación en humedales salinos (Whitfield, 2010).

Según el criterio para la protección de la vida acuática costera CE-CCA-001/89, las concentraciones de amoníaco deben ser menores a 10 µg/L (de N en la molécula), en Sisal todas las concentraciones superaron el límite establecido (10.1 a 56.2 µg/L de N), Progreso presentó la mayoría de concentraciones fuera del criterio (22 a 94.5 µg/L de N) (DOF, 1989) en los meses de abril (secas), julio, y septiembre (lluvias); en Chicxulub septiembre (lluvias) fue el mes donde las concentraciones de NH₃ sobrepasaron la norma (20.8 a 33.4 µg/L de N). Las altas concentraciones se podrían explicar por que en Sisal hay un constante aporte de materia orgánica proveniente de los manglares y las condiciones benefician a la formación de NH₃; en el caso de Cx ocurre lo contrario, se observa menos materia orgánica proveniente de arboles y el pH es más ácido dando preferencia a la formación del NH₄, además el mes de septiembre conllevó más lluvias y favoreció la mezcla, lo que ocasionaría una mejora en el pH y menos salinidad. El factor que pudo determinar el comportamiento de Progreso también es el pH, ya que presentó rangos que favorecen al NH₃. Por otro lado, los altos niveles de amoníaco afectan a la salud de los peces en diferentes niveles, las posibles afectaciones de este compuesto nitrogenado a *Fundulus grandissimus* son discutidas en los resultados

9.3 Comparación de Variables Ambientales e índices.

9.1.2.3 Nitritos

Los valores medios de nitritos de Sisal, Progreso y Chicxulub se muestran en la *figura 24*, en los tres sitios los nitritos medidos se comportaron de la misma forma. Chicxulub fue el que presentó concentraciones un poco más altas (52.9 a 366.4 µg/L). Las concentraciones más altas se presentaron en el mes de mayo, 268.0 µg/L en Sisal, 269.0 µg/L en Progreso y 366.4 µg/L en Chicxulub. Las concentraciones

más bajas fueron en el mes de septiembre en los tres sitios, 50.4 $\mu\text{g/L}$ en Sisal, 51.9 $\mu\text{g/L}$ en Progreso y 52.9 $\mu\text{g/L}$ en Chicxulub.

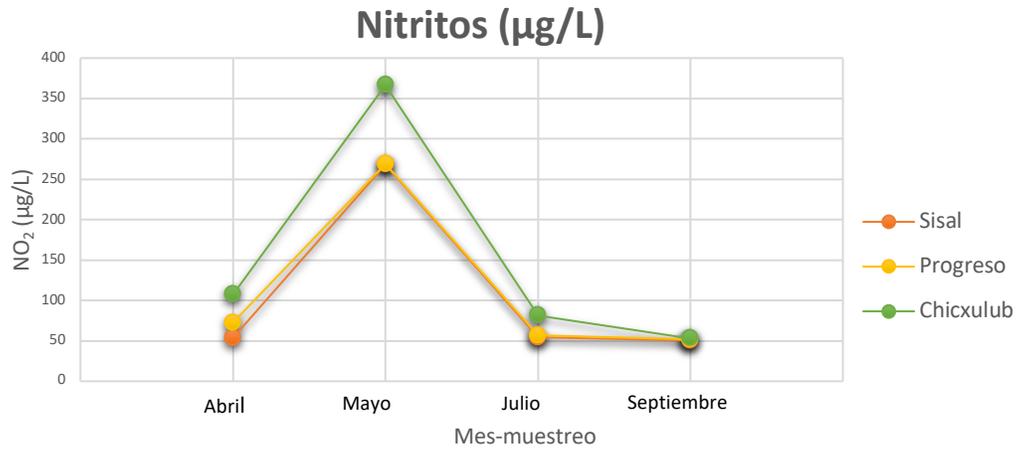
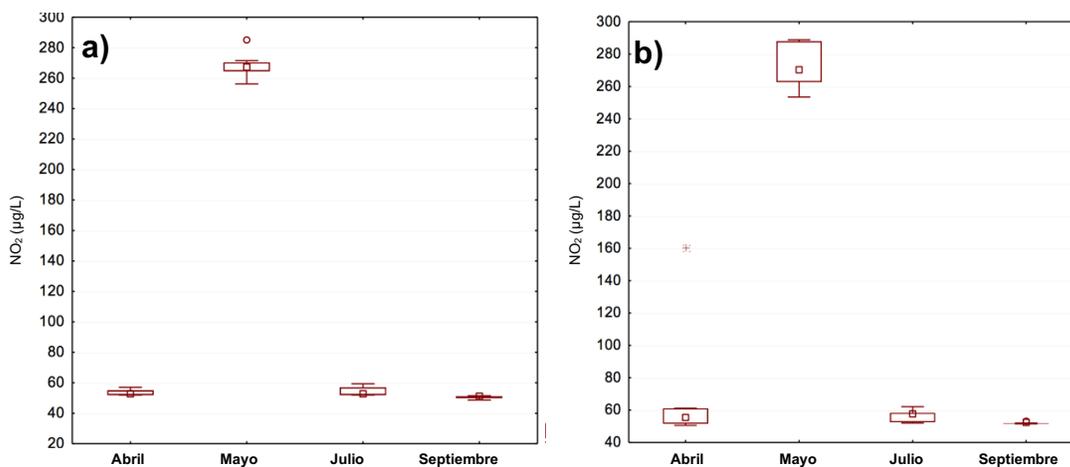


Figura 24: Concentraciones medias de nitritos (NO_2 $\mu\text{g/L}$) presentadas en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

La prueba de contraste Kruskal-Wallis demostró diferencia significativa ($p < 0.05$) en los tres sitios estudiados. Las concentraciones del mes de mayo fueron altas y estadísticamente diferentes con respecto a los meses de abril, julio y septiembre en los tres sitios analizados (Figura 25).



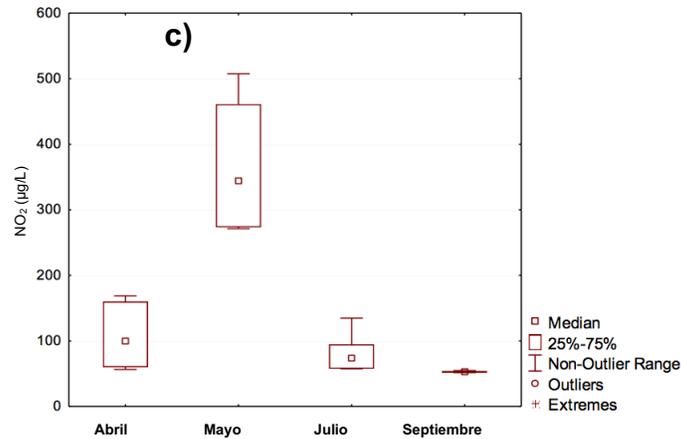


Figura 25: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de nitritos (NO_2^- $\mu\text{g/L}$) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

Las concentraciones de NO_2^- (15.1 a 154.3 $\mu\text{g/L}$ de N en la molécula) encontradas en todos los sitios sobrepasan los límites que establece el criterio CE-CCA-001/89 (DOF, 1989), para la protección de la vida de agua marina (2 $\mu\text{g/L}$ de N), los posibles efectos en los peces *F. grandissimus* se discuten 9.3 Comparación de Variables Ambientales e índices.

Se observa que el mes de mayo, mes de secas, es el que presenta mayores concentraciones en los tres sitios, puede ser que las condiciones en Sisal y Progreso fueron óptimas para que microorganismos nitrificantes transformaran el amonio (NH_4^+) en nitrito, ya que el hay suficiente OD y los pH se encuentran cerca de la neutralidad (7.2-8) (Arroyo *et al.*, 2012; Kroupova *et al.*, 2005), en el caso de Chicxulub no podemos suponer que el proceso que se lleva a cabo es la nitrificación debido a las condiciones de anoxia del sitio, por lo que probablemente ocurrió una reducción disimilativa de nitrato (DNRA) y asimismo pudo ocurrir una liberación de NH_3 (Andrade *et al.*, 2015; Behrendt, 2014; Giblin *et al.*, 2013; Rütting *et al.*, 2011; Stein y Klotz, 2016).

Además, en una investigación previa en Progreso se registraron concentraciones de 6.44 a 72.68 $\mu\text{g/L}$ de nitritos (Herrera-Silveira *et al.*, 2012), en comparación con los valores que se obtuvieron en este estudio en los tres sitios (S, P, Cx), el mes de mayo fue el que presentó las diferencias de concentraciones más altas (diferencias de 180.7 a 434.7 $\mu\text{g/L}$), esto podría confirmar que las condiciones ambientales en

mayo en los tres sitios fueron determinantes para la nitrificación y/o la DNRA. Asimismo, Herrera-Silveira (2006) dice que las altas concentraciones de nitritos podrían reflejar los aportes de materia orgánica procedentes de las aguas residuales que llegan a la ciénaga. Por otro lado, el proceso de desnitrificación puede conducir a la acidificación del ambiente debido a que se produce ácido nitroso cuando el NO_3^- pasa a amoníaco (Arroyo *et al.*, 2012), esta podría ser la razón por la cual en Progreso y Chicxulub hay pH ligeramente menos alcalinos en los meses de abril y mayo (secas).

9.1.2.4 Nitratos

Las concentraciones medias de los nitratos se observan en la *figura 26*. En Progreso en el mes de mayo la concentración de nitratos estuvo muy abajo del límite de detección de la técnica ($5.64 \mu\text{g/L}$), por lo que se consideró que no hubo presencia de este compuesto, también en este sitio se obtuvo la concentración más alta en el mes de julio ($543.7 \mu\text{g/L}$). Sisal fue el sitio donde la variación entre muestreos fue menor (de 101.1 a $343.7 \mu\text{g/L}$).

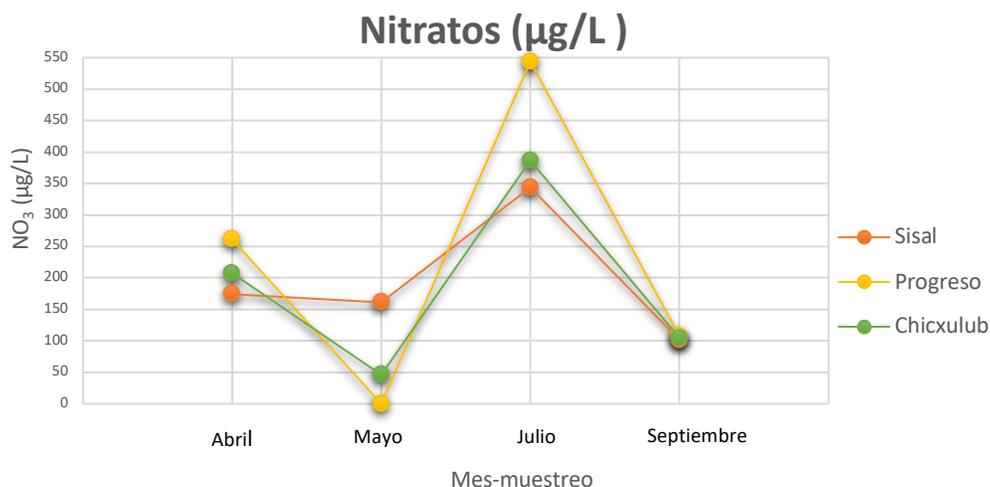


Figura 26: Concentraciones medias de nitratos ($\text{NO}_3 \mu\text{g/L}$) presentadas en las ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los meses de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

El contraste entre los muestreos demuestra diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tres sitios (*Figura 27*). En Sisal septiembre fue diferente al mes de abril y julio. En

Progreso mayo presenta menores concentraciones y contrasta con los demás meses; además septiembre es diferente de mayo y julio. En Chicxulub en mayo, una de las concentraciones de nitratos fue más alta de la media (166.16 $\mu\text{g/L}$); sin embargo, la mediana del muestreo es significativamente menor a los meses de abril (secas), julio y septiembre (lluvias).

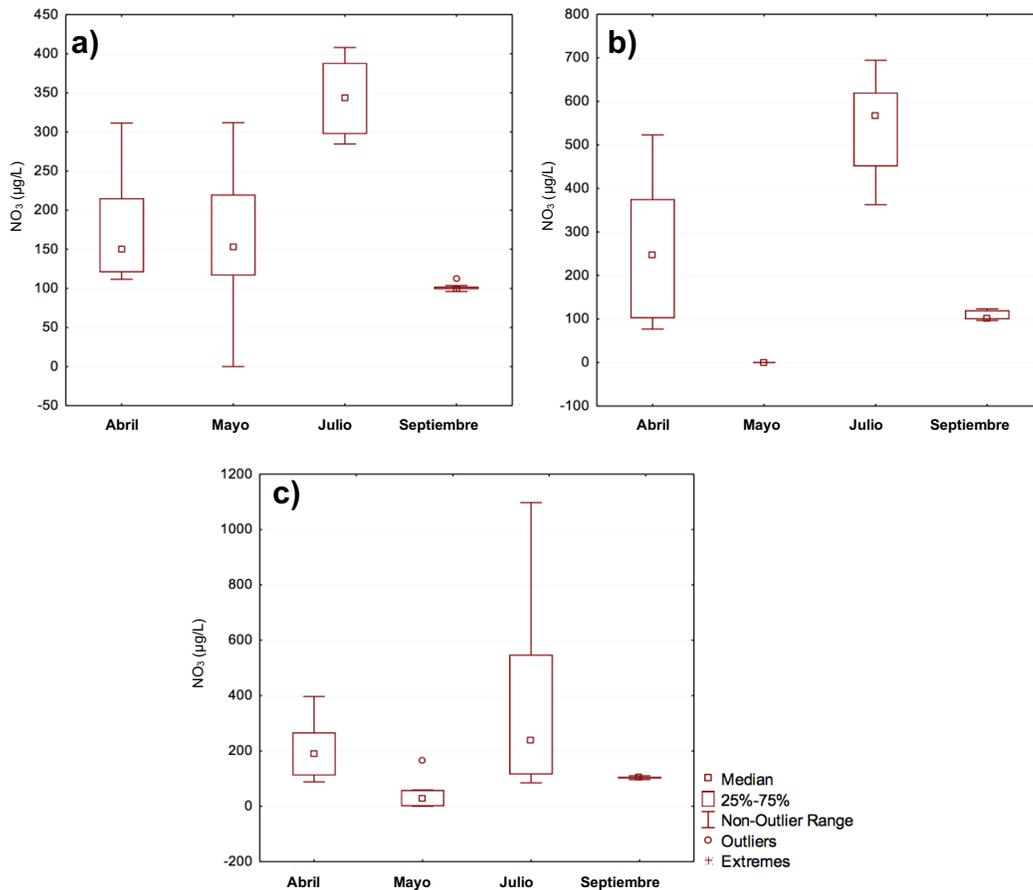


Figura 27: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de nitratos ($\text{NO}_3^- \mu\text{g/L}$) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

El nitrato en el muestreo de mayo (secas); en algunas estaciones de Sisal y Chicxulub y en todas las estaciones de Progreso, no se detectó; esto podría deberse a que el proceso de nitrificación se quedó estancado en la producción de nitritos, ya que en el mismo muestreo los nitritos presentaron las más altas concentraciones. Herrera-Silveira *et al.* (2012) también registró previamente los nitratos en la Ciénaga de Progreso, obteniendo concentraciones de 272.8 a 954.8 $\mu\text{g/L}$ y un valor de referencia de 279 $\mu\text{g/L}$; al comparar con las concentraciones obtenidas en P (0 a

694.4 $\mu\text{g/L}$ de N), Cx (0 a 1097.4 $\mu\text{g/L}$ de N) y S (0 a 407.9 $\mu\text{g/L}$ de N), se observa que los valores superiores en P y S entraron dentro del rango registrado, pero todos los valores mínimos fueron menores.

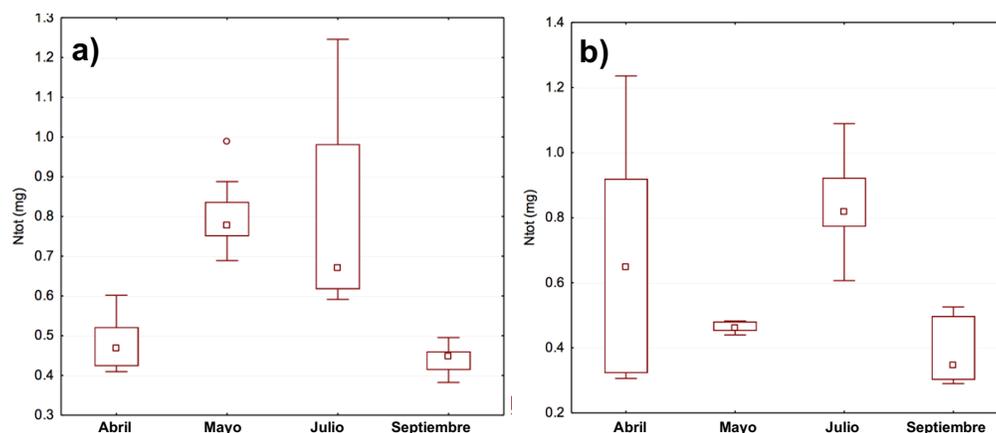
Según el criterio las concentraciones de nitratos aceptados para las condiciones óptimas de la vida acuática marina deben ser menores o iguales a 40 $\mu\text{g/L}$ (de N), en contraste con el criterio (CE-CCA-001/89, 1989) algunas estaciones muestreadas sobrepasaron el límite establecido, en Sisal las concentraciones que salieron de la norma se presentaron en julio principalmente y fueron de 41.1 a 92.1 $\mu\text{g/L}$ (de N), en Progreso también fue el mes de julio el que presentó más concentraciones altas, seguido de abril (79.5 a 156.7 $\mu\text{g/L}$ de N), y para Chicxulub se presentó la misma situación a Progreso (52.6 a 123.7 $\mu\text{g/L}$ de N). En Sisal las temperaturas y el OD del sitio podrían haber sido determinantes en las concentraciones de NO_3 , ya que al tener suficiente oxígeno los microorganismos son capaces de oxidar el NO_2 y el NAT para producir nitratos. Para el caso de P puede ser que el proceso de desnitrificación o de DNRA haya disminuido por la buena cantidad de OD presente y como fue mencionado anteriormente el nitrito pudo ser oxidado a nitrato. En Cx podría haberse llevado una nitrificación hasta NO_3 y posteriormente el proceso se detuviera por las condiciones ambientales, además que el proceso de asimilación de NO_3 por heterótrofos no fuera óptimo. Otra causa podría ser explicada por Bronk *et al.* (2010), quien observó que el aumento de la salinidad contribuía a una menor concentración de NO_3 y NO_2 ; cuando aumentaba la salinidad se liberaba NH_4 lábil, asimismo Herrera-Silveira (2006), reporta que las aguas subterráneas de Yucatán tienen altos contenidos de nitratos y que los humedales con mayores aportes de agua dulce presentaran más nitratos, esto podría verse reflejado en las concentraciones de NO_3 y las salinidades en Sisal y Progreso; sin embargo, en Chicxulub las condiciones no mostraron este tipo de relación, una razón por la cual se presentaron bajas concentraciones de NO_3 en Cx, es que se podría estar llevando un proceso de desnitrificación y/o ANAMMOX (Kartal *et al.*, 2011; Plummer *et al.*, 2015; Rich *et al.*, 2018; Stein y Klotz, 2016).

Los efectos de las concentraciones de nitratos registradas en los peces *F. grandissimus* se discute en 9.3 Comparación de Variables Ambientales e índices.

9.1.2.5 Nitrógeno total en agua

Además de todos los compuestos nitrogenados medidos se realizó un calculo en miligramos de todo el nitrógeno contenido en agua, las concentraciones totales para cada sitio se encuentran en la tabla 7. Las mayores concentraciones de nitrógeno se observaron en Chicxulub en los meses de mayo (0.96) y julio (0.89).

Según la prueba de Kruskal-Wallis, en Sisal el nitrógeno total del mes de abril fue menor del de mayo, el de mayo difirió con abril y septiembre, septiembre contrastó con mayo y julio ($p < 0.05$), las concentraciones más altas se observaron en el mes de julio. En Progreso en el mes de julio las medias fueron mayores a los otros meses muestreados, sin embargo, la concentración más alta se observó en el mes de abril. En Chicxulub abril contrastó con mayo y septiembre, mayo con abril y septiembre, septiembre con los otros meses (*Figura 28*). En los tres sitios, se observó que las concentraciones de nitrógeno total en agua fueron estadísticamente diferentes entre meses, lo que podría significar que los aportes de materia orgánica a las ciénagas fueron diferentes entre cada muestreo y por lo tanto no se observa uniformidad entre muestreos de la misma temporada.



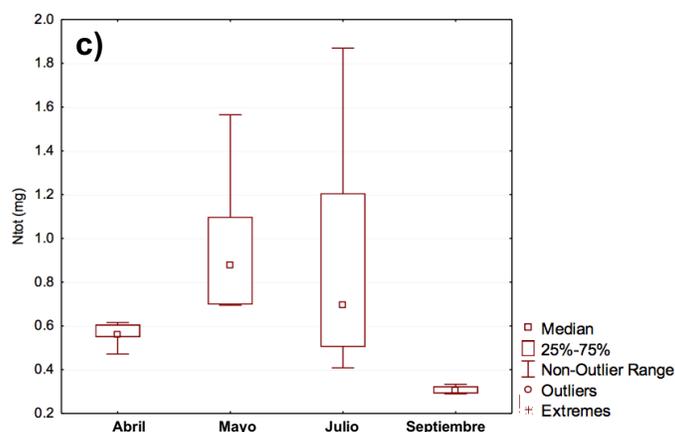


Figura 28: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del nitrógeno total en agua (Ntot mg/L) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

Tabla 7: Concentraciones de medias de nitrógeno total del agua (Ntot mg/L) y nitrógeno orgánico en sedimento (N mg/g) en ciénagas de Sisal, Progreso y Chicxulub en los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre de 2018.

Sitio	N en agua o sedimento	Abril	Mayo	Julio	Septiembre
Sisal	Ntot (mg/L) en agua	0.4796 ± 0.06	0.8006 ± 0.09	0.7969 ± 0.27	0.4402 ± 0.03
	N (mg/g) en sedimento	0.0455 ± 0.06	0.2105 ± 0.22	0.2058 ± 0.11	0.0583 ± 0.02
Progreso	Ntot (mg/L) en agua	0.6803 ± 0.35	0.4629 ± 0.01	0.8376 ± 0.16	0.3839 ± 0.10
	N (mg/g) en sedimento	1.04 ± 1.02	0.6633 ± 0.35	1.3833 ± 0.92	2.9267 ± 1.59
Chicxulub	Ntot (mg/L) en agua	0.5605 ± 0.05	0.9687 ± 0.32	0.8957 ± 0.55	0.3081 ± 0.01
	N (mg/g) en sedimento	0.10 ± 0.07	0.24 ± 0.14	0.27 ± 0.12	2.0433 ± 0.29

9.1.3 Nitrógeno orgánico y materia orgánica en sedimento.

9.1.3.1 Nitrógeno orgánico

El contenido de nitrógeno orgánico (mg/g) en sedimentos se puede observar en la *tabla 7*; en esta se puede ver que los niveles más bajos de nitrógeno se observaron en Sisal (0.045 a 0.21 mg/g); para Progreso el N orgánico varió de 0.066 a 2.92 mg/g siendo los valores más altos registrados en cada mes muestreado. El muestreo con las concentraciones más altas de nitrógeno fue septiembre en Progreso y Chicxulub.

Mediante la prueba Kruskal-Wallis se observó que el contenido de nitrógeno en Sisal tuvo diferencias del mes de julio (de 0.005 a 0.246 mg/L más) en comparación a septiembre ($p < 0.05$). En Progreso y Chicxulub septiembre fue contrastante con los muestreos de abril, mayo y julio, presentado medianas más grandes (*Figura 29*). Los valores obtenidos de p en la prueba Kruskal-Wallis de todas las variables ambientales y en cada sitio de estudios se observan en la *tabla 8*.

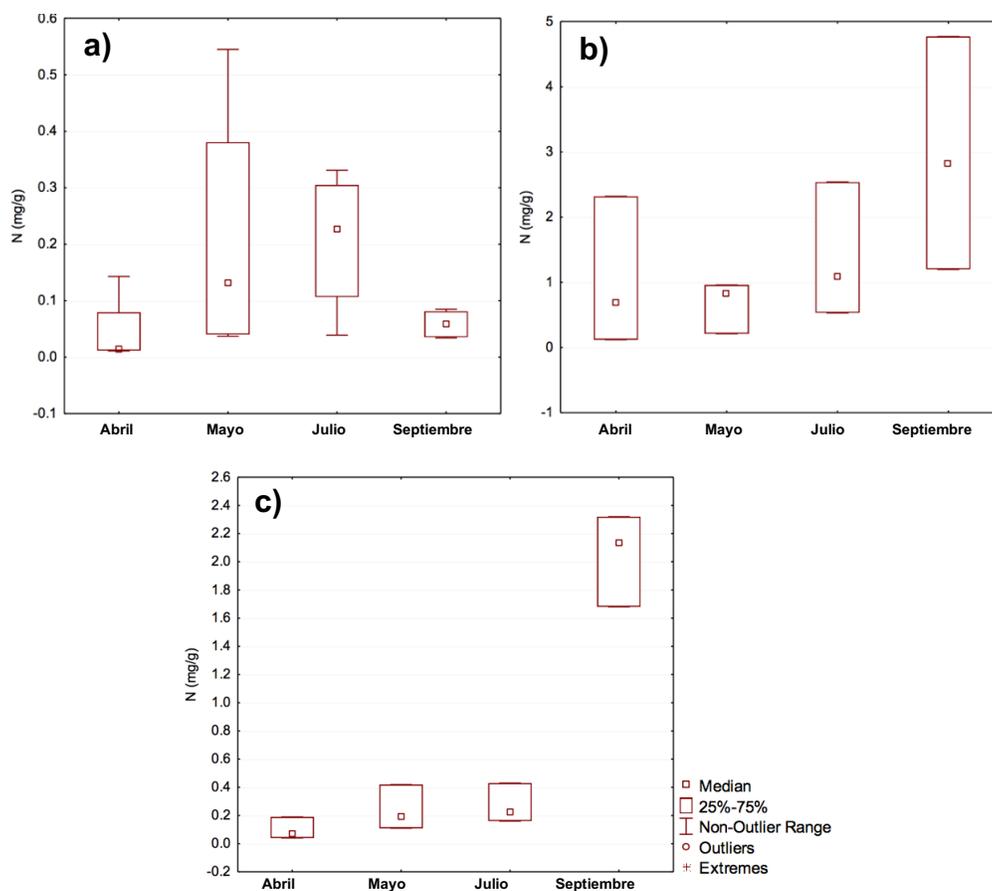


Figura 29: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del nitrógeno orgánico en sedimento (N mg/g) por muestreo en a) Sisal ($p < 0.05$), b) Progreso ($p < 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

Tabla 8: Valores del estadístico *p* de la prueba KW-H en el contraste de muestreos (abril, mayo, julio y septiembre) de las variables ambientales en cada sitio (Sisal, Progreso y Chicxulub).

	SISAL	PROGRESO	CHICXULUB
Temperatura (°C)	0.2804	0.0004**	0.0002**
pH	0.0820	0.0004**	0.00007**
Oxígeno disuelto (mg/L)	0.4970	0.0991	0.0025**
Salinidad	0.0154**	0.0231**	0.00007**
Profundidad (cm)	0.4439	0.9940	0.3695
Ion amonio (µg/L)	0.0023**	0.0692	0.0010**
Amoniaco (µg/L)	0.0470**	0.0015**	0.0013**
Nitritos (µg/L)	0.00001**	0.0013**	0.0002**
Nitratos (µg/L)	0.0001**	0.0002**	0.0102**
Nitrógeno total en agua (mg/L)	0.00003**	0.0110**	0.0008**
Nitrógeno orgánico en sedimento (mg/g)	0.0033**	0.0118**	0.0008**
Relación carbono orgánico/nitrógeno orgánico	0.1610	0.2592	0.0420**

Significante (**)

Las cantidades de nitrógeno en sedimento podrían indicar si la materia orgánica se está degradando y liberando nitrógeno inorgánico al ambiente acuático o los microorganismos están reteniendo el nitrógeno en el suelo. Al comparar las cantidades de nitrógeno orgánico en suelo (N mg/g o SON) y nitrógeno inorgánico en agua (N_{tot} mg/L o DIN) en Sisal se observaron mayores concentraciones de DIN que de SON, esto podría significar que el proceso que predomina es el de mineralización, que permite la transformación del SON en nitrógeno inorgánico (Reddy *et al.*, 2010).

Para el caso de Progreso las concentraciones de SON son mayores a las de DIN, por lo que podría significar que los aportes de materia orgánica a la ciénaga son mayores que los de Sisal, y que las condiciones ambientales, como la salinidad, provocan que el nitrógeno se mantenga en el sedimento, lo cual también podría causar que los microorganismos tengan una menor tasa de mineralización de la materia orgánica (Whitfield, 2010).

En Chicxulub, de abril a julio se observa mayores concentraciones de DIN que de SON, sin embargo, en el mes de septiembre la situación es inversa; esto podría ser porque en los primeros meses el pH presente fue ligeramente más ácido que en el último muestreo, como menciona Ray *et al.* (2015) esto pasa ya que la degradación

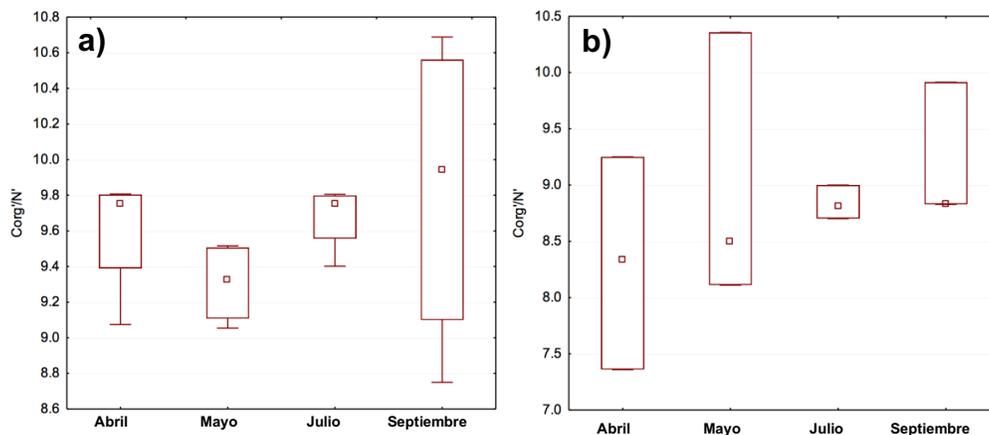
del nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico es dependiente de la hidrólisis, la cual esta sometida al pH. Además, Li *et al.* (2007) observó que en suelos salinos cuando el pH aumenta, el nitrógeno orgánico disminuye, en otro estudio sobre los efectos de la salinidad en el ciclo del nitrógeno encontraron que la mineralización a corto plazo se reduce cuando el sedimento es expuesto a la salinidad (35 ppm); esto podría explicar el comportamiento del SON/DIN en Chicxulub.

9.1.3.2 Relación carbono/nitrógeno orgánico

Por otro lado, la relación C/N en Sisal, Progreso y Chicxulub se muestra en la *tabla 9*. Se contrastaron los valores de C/N para evaluar si hubo cambios a lo largo de los muestreos, los valores de p obtenidos del test Kruskal-Wallis muestran que en Sisal y Progreso no hay un cambio significativo de la relación C/N ($p > 0.05$), mientras que para Chicxulub muestra que en septiembre (lluvias) la relación de C/N aumentó significativamente ($p < 0.05$) (*Figura 30*).

Tabla 9: Relación carbono-nitrógeno (C/N o Corg/N) presente en el sedimento de cada sitio.

Mes	Abril	Mayo	Julio	Septiembre
Sisal	9.59 ± 0.32	9.30 ± 0.21	9.67 ± 0.17	9.82 ± 0.83
Progreso	8.31 ± 0.84	8.98 ± 1.07	8.83 ± 0.13	9.19 ± 0.55
Chicxulub	9.45 ± 1.27	9.03 ± 0.10	9.11 ± 0.33	9.95 ± 0.16



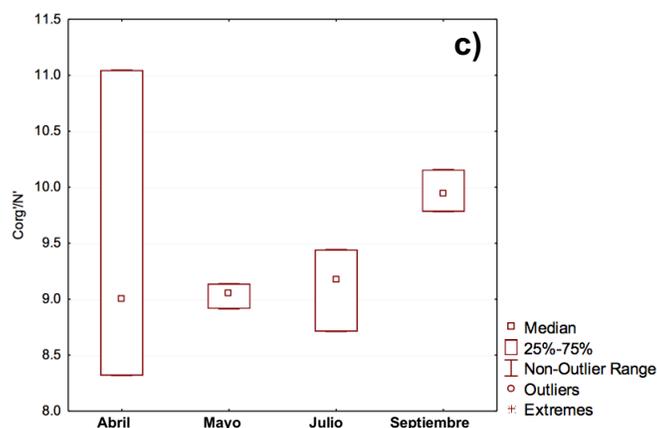


Figura 30: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de la relación carbono orgánico/nitrógeno orgánico en sedimento (C_{org}/N) por muestreo en a) Sisal ($p > 0.05$), b) Progreso ($p > 0.05$) y c) Chicxulub ($p < 0.05$).

La evaluación del porcentaje de materia orgánica en este estudio corresponde a la relación C/N del sedimento, esta relación puede usarse para determinar las fuentes de estos compuestos y el estado de la producción/degradación de la materia orgánica (Guiñez *et al.*, 2010; Silva y Ortiz, 2002). Los valores de la relación C/N de los sitios evaluados han sido reportados para fitoplancton (Guiñez *et al.*, 2010; Meyers, 1994) y materia detrítica recientemente asentada (Escobar-Briones y García-Villalobos, 2009), además García-Navarro *et al.* (2016) obtuvo porcentajes de materia orgánica de 6.6 a 10.4 en marismas del Golfo de México; estos datos podrían significar los mayores aportes de la MO en Sisal, Progreso y Chicxulub son de tipo autóctono, es decir que la mayor producción de la MO en la zona es proporcionada por las plantas y microorganismos de la ciénaga. Por otro lado, Fuentes (2000) reportó una relación C/N parecida a las obtenidas en los sitios evaluados (9.27) que indicaría que la tasa de degradación de la MO es mínima y tiende al equilibrio. Además, Niggeman *et al.* (2007) dice que el aumento en las relaciones de C/N en sedimento refleja la remineralización preferencial de compuestos nitrogenados, comparando con este estudio solamente el muestreo de septiembre (lluvias) en Cx muestra un aumento en la mineralización del nitrógeno del sedimento, esto podría deberse a que los niveles de salinidad bajaron y el pH mostró más alcalinidad; ya que en P y S no hubo diferencias entre muestreos, podemos inferir que los niveles de C/N se encuentran en balance, es decir que la producción y la degradación de la materia orgánica en el sistema es equivalente.

9.2 Material biológico

De los cuatro muestreos realizados en este estudio, solo se tomaron en cuenta tres muestreos (mayo, julio y septiembre) para el análisis biológico, para asegurar que los datos finales fueran los más óptimos, ya que los peces de abril fueron usados con fines de estandarización de las soluciones fijadoras del método histológico.

El total de peces evaluados fue 26, veinte peces fueron capturados de la Ciénaga de Sisal y seis de Progreso. En Chicxulub no se obtuvieron organismos para los muestreos de abril, mayo, julio y septiembre. En Progreso en el mes de mayo y julio no se obtuvieron organismos en las estaciones, P1 y P2, mientras que en el muestreo de septiembre solo se obtuvieron organismos en Sisal en la estación S1.

Para los estudios biológicos, solo se analizaron los organismos de los sitios de Sisal (S) y Progreso (P), debido a que no se lograron capturar organismos en Chicxulub durante los meses de mayo, julio y septiembre. En Progreso, tampoco se lograron capturar peces en septiembre, esto puede relacionarse con el hecho de que, siendo un mes donde las lluvias fueron más constantes, el nivel de agua aumentó en toda la ciénaga, lo que permitió que los peces se distribuyeran en otras partes del humedal y dificultara su captura en los sitios de muestreo. Ceballos *et al.* (2016) menciona que la especie prefiere hábitats con alta transparencia, si bien la turbidez no fue una variable que se midió en este estudio, a simple vista se observó que en el mes de septiembre el agua de la ciénaga era mas turbia que los anteriores muestreos, seguramente debido a la resuspensión de partículas por la temporada de lluvias, e incluso en algunos sitios se había presencia de espuma.

En Chicxulub la ausencia de peces podría estar relacionada con los bajos niveles de oxígeno, la temperatura y con las altas salinidades. Cabe destacar que en julio no se obtuvo ningún tipo de pez y fue el mes donde se registró una de las temperaturas más altas, la mayor salinidad y uno de los menores niveles de oxígeno disuelto. Colín-García *et al.* (2019) afirma que los *F. grandissimus* son sensibles a las altas temperaturas y que estas tienen efecto en la distribución biogeográfica de

la especie, ellos encontraron peces hasta en temperaturas de 33.3°C, esto podría explicar la ausencia de peces en el sitio Chicxulub ya que las temperaturas registradas llegaron hasta los 38.3°C. Por otra parte, en el estudio realizado por Álvarez (2016) se observó que la especie se distribuía en salinidades de 3 a 44 ppm, en el presente estudio se observaron peces *F. grandissimus* en salinidades de 2.4 a 41.9 ppm (en Sisal las más bajas y en Progreso las altas), por lo que la hipersalinidad presentada en Chicxulub, incluso de tipo salmuera, (46.8 a 260 ppm) fueron otro factor que determinó la ausencia de estos peces en el sitio.

Para cada aspecto biológico evaluado se realizó un test de normalidad por Shapiro Wilk. Debido a que el índice hepatosomático, el índice gonadosomático, el índice histopatológico de branquia y el FDI no fueron normales ($p < 0.05$) (Tabla 10), se decidió realizar las pruebas de contraste por Kruskal-Wallis (Tabla 11 y 13).

Tabla 10: Valores de p en la prueba de normalidad Shapiro Wilk.

Efecto	Por sitio		Por sexo		Por muestreo				
	P	S	H	M	S _{may}	S _{jul}	S _{sep}	P _{may}	P _{jul}
Long	0.2221	0.2683	0.3687	0.3730	0.2969	0.4984	0.4590	0.8624	0.0768
Peso	0.2415	0.1381	0.1345	0.0902	0.2626	0.2141	0.0864	0.5857	0.3672
K	0.4332	0.8393	0.7411	0.2517	0.7778	0.3057	0.9691	0.6956	0.4459
IHS	0.2443	0.3361	0.0362*	0.8222	0.3443	0.8373	0.0023*	0.1054	0.1309
IGS	0.0097*	0.0139*	0.1443	0.00001*	0.0063*	0.3531	0.1046	0.0102*	.0076*
IH_{branquia}	0.6674	0.0089*	0.0304*	0.1938	0.0177*	0.0026*	0.3297	0.3631	0.4632
IH_{higado}	0.9131	0.4495	0.2507	0.1494	0.2988	0.9845	0.2593	0.7804	0.3631
IH_{total}	0.9926	0.187	0.1183	0.5124	0.8797	0.9845	0.0442*	0.7804	0.4632
FDI	0.0000	0.0019	0.0962	0.0174	0.0022	0.5316	0.0396	0.0000	ND
ISP	0.9807	0.3806	0.2602	0.2053	0.4645	0.7484	0.3854	0.6489	0.4632

* datos no normale, ND=datos no detreminados

8.2.1 Índices morfométricos y organosomáticos

8.2.1.1 Longitud y peso de los peces

La longitud total (cm) de los peces *Fundulus grandissimus* varió de 11 cm a 17.4 cm. Las hembras presentaron una media de 15.17cm y los machos 13.2 cm. Por sitio Sisal la media fue de 14.9 cm y Progreso 13.1cm. El peso húmedo de los peces vario de 16.08 a 61.64 gramos. Por género los machos obtuvieron una media de

29.7g y las hembras 44.2 g. Por sitio, la media de Sisal fue 41.9 g, en Progreso fue 30.0 g.

La prueba Kruskal-Wallis mostró que la mediana de la longitud entre sitios fue significativamente diferente ($p < 0.05$), lo que probaría que los organismos encontrados en Sisal fueron estadísticamente más grandes que los de Progreso. En el contraste, la longitud entre sexos también se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) donde las hembras fueron más grandes en comparación con los machos. El peso húmedo de los *Fundulus grandissimus* por sitios no mostró diferencia estadística ($p > 0.05$); sin embargo, entre sexos si se expuso diferencia ($p < 0.05$), siendo las hembras las más pesadas, seguramente esto se debió al grado de desarrollo de sus gónadas (Figura 31).

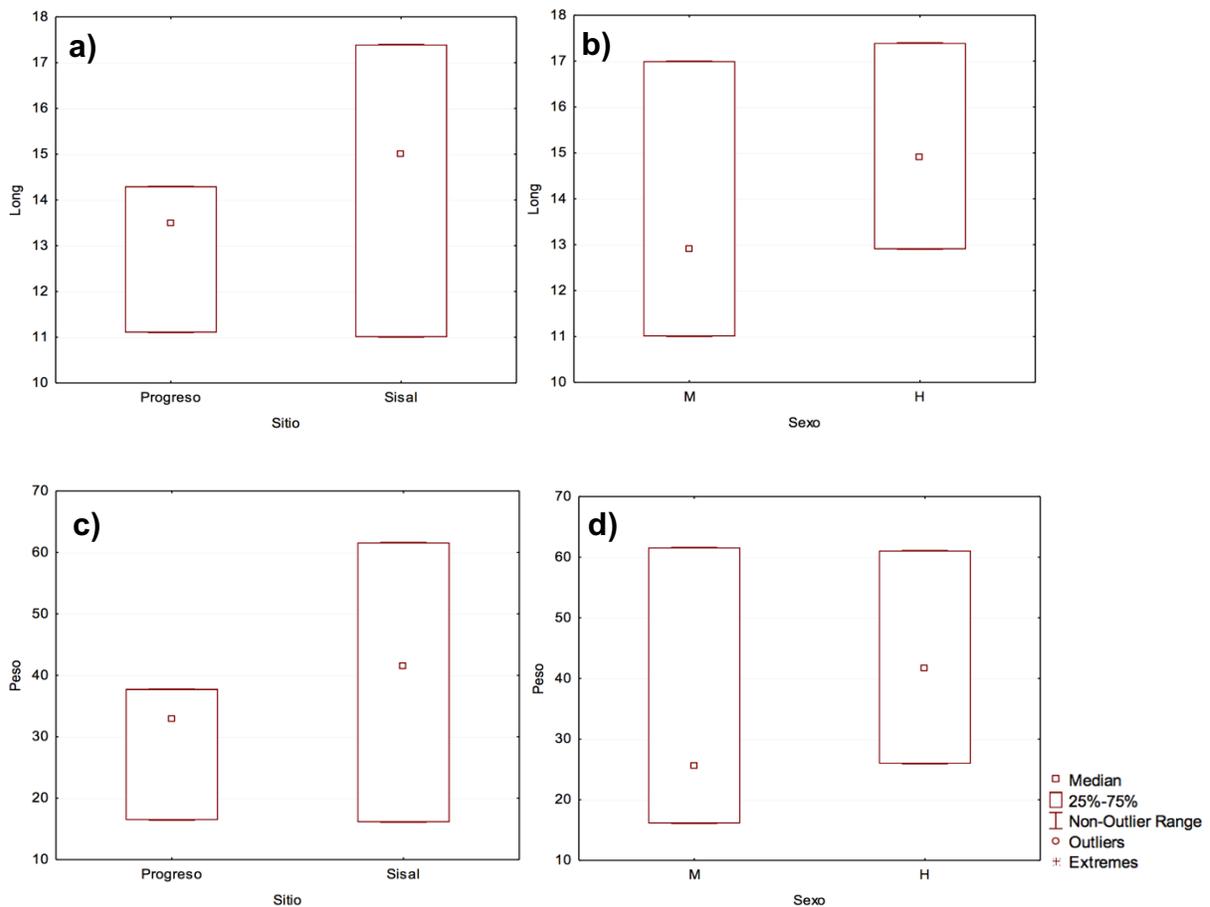


Figura 31: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H de la longitud (Long en cm) por a) sitio ($p < 0.05$) y b) sexo ($p < 0.05$). Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del peso (g) por a) sitio ($p > 0.05$) y d) sexo ($p < 0.05$). Machos (M), hembras (H).

Para conocer si a lo largo de los muestreos la longitud y el peso fueron diferentes también se realizó una prueba Kruskal-Wallis. La longitud mostró que los peces de Sisal en el muestreo de septiembre fueron más largos en comparación con los muestreos de mayo y julio de los dos sitios ($p < 0.05$). El peso se comportó de la misma forma, siendo los organismos de Sisal obtenidos en septiembre los más pesados ($p < 0.05$) (Figura 32). La diferencia en la talla y peso de los peces de Sisal en septiembre se podría deber a que todos los peces recolectados fueron hembras en algún estado de desarrollo gonadal avanzado. Las tallas de *F. grandissimus* registradas en estudios previos en Sisal fueron de 5.1 a 21.7 cm y los pesos fueron de 2.3 a 125.4 g (Álvarez, 2016). Los peces recolectados en este estudio estuvieron en un rango medio de talla y peso con respecto a los encontrados en anteriormente, lo que podría significar que fueron peces maduros, pero aún no alcanzaban su talla máxima.

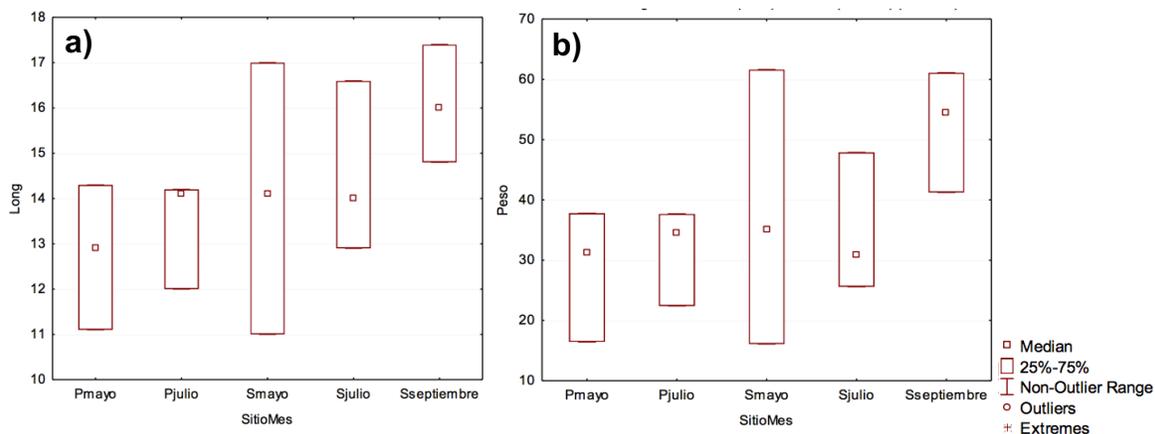


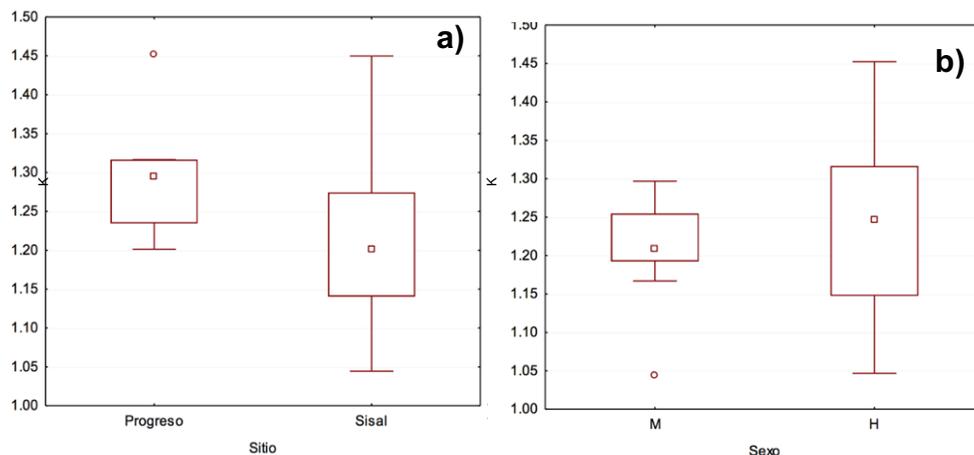
Figura 32: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H por sitio*mes de colecta de a) la longitud (Long en cm) y b) peso (g) ($p < 0.05$). Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

8.2.1.2 Factor de condición

El factor de condición (K) permite conocer el estado nutricional en el que se encuentran los peces, además de aportar información sobre las estrategias de crecimiento y reproducción (Valencia-Satan y Valencia-Santana, 2015). Los valores tomados por el factor de condición fueron de 1.04 a 1.45. Los machos tuvieron un valor mínimo de 1.04 y máximo de 1.29; las hembras fueron de 1.04 a 1.45. Por sitio

Sisal fue el que presentó el valor más bajo de K, el cual perteneció a un macho, el valor máximo en el sitio fue 1.44; Progreso tuvo un K mínimo de 1.20, además el valor máximo del sitio también fue el máximo presentado, y fue para una hembra.

Para hacer las comparaciones entre, sitio, sexo y muestreos, se uso el estadístico de contraste Kruskal Wallis, el factor de condición por sitios y sexo no fue estadísticamente diferente ($p > 0.05$), lo que significa que los peces tuvieron tallas homogéneas entre machos y hembras, y entre Sisal y Progreso. Por muestreos el factor de condición, manifestó diferencias significativas ($p < 0.05$); donde el muestreo de julio fue diferente entre Sisal y Progreso, este muestreo en Sisal fue el que presentó las K más pequeñas y a su vez fue el más diferente con respecto a los otros muestreos en Sisal y Progreso (*Figura 33*). Estos resultados podrían deberse a una menor disponibilidad de alimento en Sisal en el mes de julio (*Barisci et al., 2015*), aunque también parece que se debe a una pérdida en el peso de las hembras después del desove (*Jakes-Cota et al., 2017*) y/o a la disminución de peso de las gónadas como se indicará más adelante. Los datos de K nos indican en general que entre sitios y entre sexos, los peces estaban en las mismas condiciones nutricionales, esto por si solo muestra que los peces tienen condiciones de salud similares, pero además en los análisis de los índices (IH_{total} , FDI, ISP) la comparación de las poblaciones será más efectiva porque parece ser que los peces están en el mismo rango de edad.



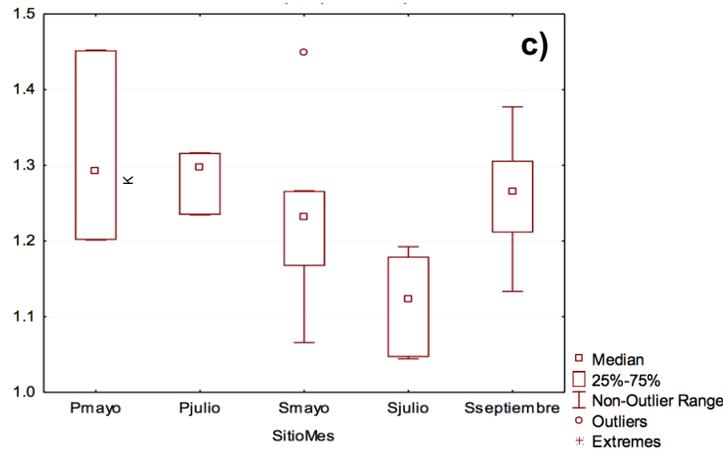


Figura 33: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del factor de condición (K) por: a) sitio ($p > 0.05$), b) sexo ($p > 0.05$) y c) sitio*muestreo ($p < 0.05$). Machos (M), hembras (H); Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

9.2.1.3 Índice hepatosomático

El índice de hígado (IHS) permite conocer la condición fisiológica y los requerimientos energéticos de los peces (González y Oyarzún, 2002). El IHS varió de 1.15 a 2.74, el valor mínimo y el máximo pertenecieron a dos hembras de Sisal. Progreso tuvo un IHS de 1.50 a 2.28, por sexo los machos variaron de 1.24 a 2.14.

Para contrastar por sitio, sexo y mes de muestreo se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, la cual describe que no hay diferencias del IHS en Progreso y Sisal ($p > 0.05$). La prueba de contraste por sexo mostró diferencia de medianas entre machos y hembras ($p < 0.05$), siendo el IHS de las hembras estadísticamente mayor. En los diferentes meses no se observó diferencia estadística de IHS ($p > 0.05$) (Figura 34). Estos resultados podrían indicar que las hembras tienen altos requerimientos energéticos para lograr la maduración de sus gónadas, ya que el hígado es el encargado de segregar vitelogeninas necesarias para la maduración de los óvulos, además almacena gran cantidad de lípidos y glucógenos (Martín, 2013; Rodríguez, 1992). Para validar este índice como indicativo de salud general del pez es necesario realizar más estudios con respecto a la relación que guardan con el índice histopatológico de hígado y en total, además con respecto a las

enfermedades y parásitos encontrados en *F. gradissimus*, ya que estas posibles relaciones no se valoraron en esta investigación.

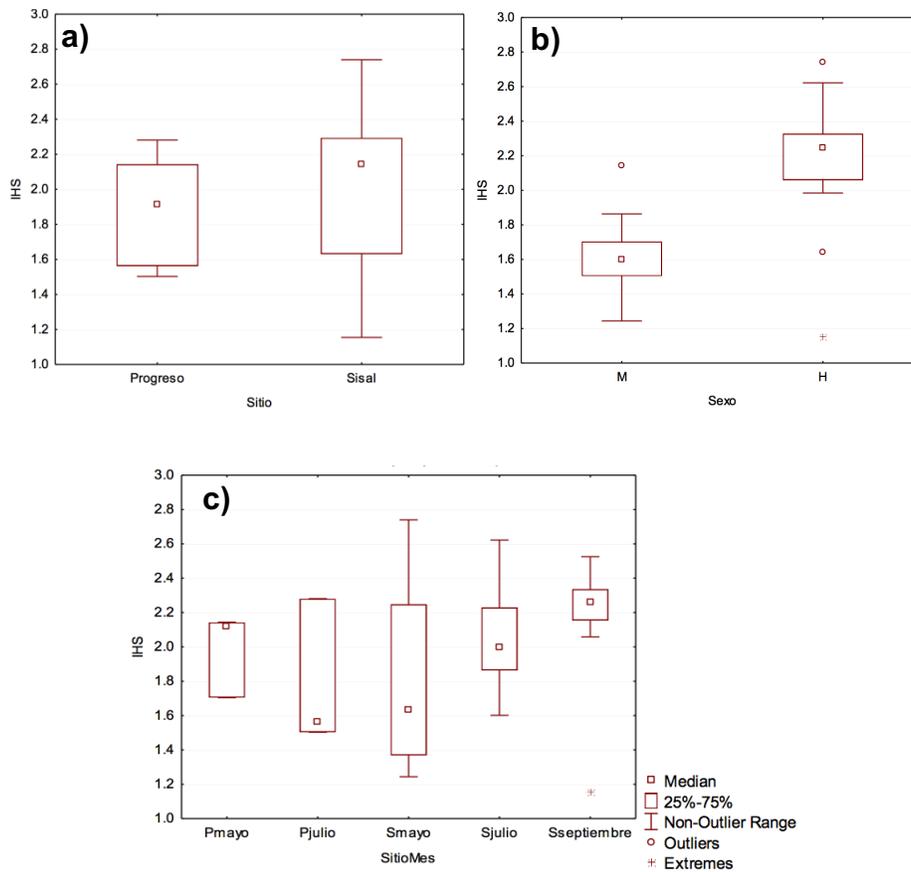


Figura 34: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del índice hepatosomático (IHS) por: a) sitio ($p > 0.05$), b) sexo ($p < 0.05$) y c) sitio*mes de muestreo ($p > 0.05$). Machos (M), hembras (H); Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

9.2.1.4 Índice gonadosomático

El índice gonadosomático (IGS) fue de 0.15 a 14.94, el valor mínimo se presentó en Sisal, el máximo en Progreso y correspondieron gónadas de hembras. Debido a que los datos de IGS no tuvieron distribución normal ($p < 0.05$), los análisis de contraste se realizaron por la prueba de Kruskal-Wallis. Entre sitios no se observó diferencia significativa ($p > 0.05$), se obtuvo diferencia del IGS entre machos y hembras ($p < 0.05$), siendo las gónadas de los machos las más pequeñas. Para el contraste de las medianas de los muestreos se observa que los IGS de septiembre en Sisal

son significativamente más altos ($p < 0.05$) en comparación con los IGS de Sisal en mayo y julio, esto se puede deber a que los ejemplares de estos muestreos solo fueron hembras cuya gónada es más grande y pesada (Figura 35).

Según, Rosales (1997) el IGS máximo está relacionado con la temporada antes de desove de las hembras, por lo cual los valores altos de IGS obtenidos en mayo en Progreso y septiembre en Sisal podrían reflejar un estado avanzado de maduración gonadal de algunas de las hembras de *F. grandissimus*. Para toda especie es necesario perpetuarse, si los peces pueden reproducirse están asegurando su prevalencia en el ecosistema, por lo cual, que se encontraran hembras de *F. grandissimus* fecundadas significaría que las condiciones ambientales les permiten reproducirse y por lo tanto sería indicativo de salud de la población muestreada.

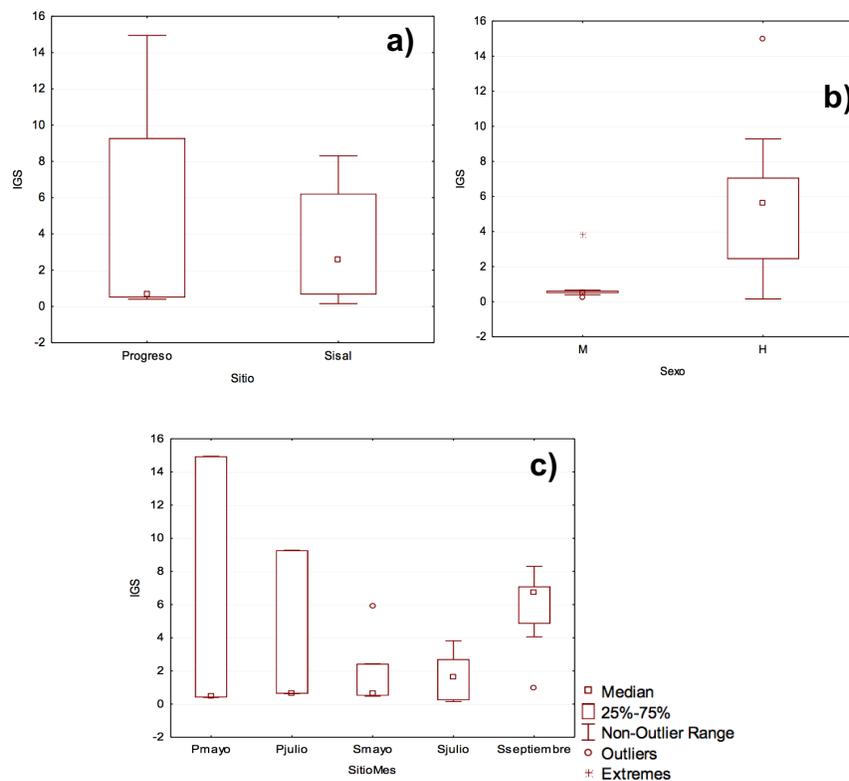


Figura 35: Gráficas de caja y bigote del contraste KW-H del índice gonadosomático (IGS) por: a) sitio ($p > 0.05$), b) sexo ($p < 0.05$) y c) sitio * muestreo ($p < 0.05$). Machos (M), hembras (H); Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

Tabla 11: Valores de p para la prueba de contraste KW-H por sitio, sexo y sitio*muestreo de la longitud (cm), peso (g), factor de condición (K), índice hepatosomático (IHS) e índice gonosomático (IGS).

	POR SITIO	POR SEXO	POR SITIO*MUESTREO
Longitud (cm)	0.0356**	0.0252**	0.0437**
Peso (g)	0.0884	0.0191**	0.0376**
K	0.0515	0.5715	0.0287**
IHS	0.4289	0.0011**	0.4369
IGS	0.7609	0.0009**	0.0864

**diferencias significativas

9.2.2 Histopatología

9.2.2.1 Histopatología de branquia

Tomando en cuenta el protocolo de Bernet *et al.* (1999) en branquia se encontraron disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos e inflamación; y en hígado se encontraron disturbios circulatorios, cambios regresivos e inflamación.

En los tejidos de branquia de *Fundulus grandissimus* el desprendimiento del epitelio respiratorio y la fusión incompleta de lamelas secundarias por hiperplasia se observaron en el 100% de los organismos, en diferentes grados (*Figura 36 y 37*). El desprendimiento del epitelio respiratorio pertenece a la reacción patrón de cambios regresivos y es una lesión temprana relacionada con contaminantes químicos, este tipo de lesión implica una disminución de la superficie donde se realiza el intercambio gaseoso y la osmorregulación (Javed *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2014). La hiperplasia es un cambio de tipo progresivo, la fusión lamelar por esta condición se da debido a que provoca el incremento de células y disminuye el espacio entre las lamelas (Maharajan *et al.*, 2016, Santos *et al.*, 2014).

La presencia de mucosidad y células calcáreas se observó en la mayoría de los organismos analizados (25 o 96%), las células calcáreas son responsables de la producción del moco que funciona como regulador de iones y protege a las lamelas del daño mecánico e inmunológico (Genten *et al.*, 2009). Todos los machos presentaron esta condición y en hembras el 96% (*Figura 37 a y c*).

La hipertrofia fue más común en hembras (70.5%) que en machos (22.2%) y tuvo una prevalencia total de 53%, esta alteración es de tipo progresivo, se caracteriza por el aumento del tamaño celular (Hadi y Alwan, 2012), esta alteración causó una fusión incompleta de lamelas secundarias (*Figura 37c*).

El aneurisma, también llamada telangiectasia, es una reacción de tipo circulatorio, se presentó principalmente en las lamelas secundarias y el tejido de soporte, se define como una acumulación de sangre que dilata los vasos sanguíneos (Ismail *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2014), esta alteración llega a romper el epitelio lamelar, posteriormente el tejido comienza un proceso de necrosis (*Figura 37c*). Los aneurismas se presentaron con mayor frecuencia en machos (55.5%) que en hembras (41.1%) y la prevalencia total fue 46.16%.

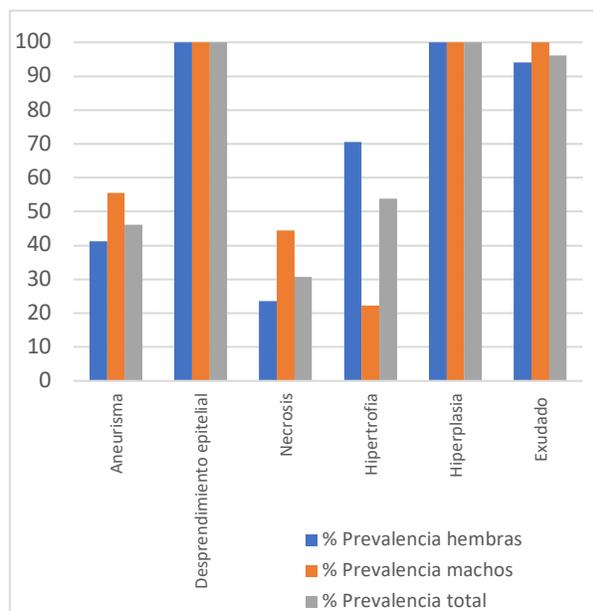


Figura 36: Prevalencia de alteraciones en branquia, hembras, machos y total.

La necrosis, perteneciente a los cambios regresivos, es la muerte celular causada por un daño agudo, se caracteriza por núcleos y membranas celulares poco claros o ausentes (Maftuch *et al.*, 2018). Fue la alteración menos presentada (31%) y fue más común en machos (44%) que en hembras (23%)(*Figura 37d*).

Además de las alteraciones evaluadas con el protocolo de Bernet *et al.* (1999), se observó que las branquias de los peces obtenidos en Sisal fueron parasitadas por trematodos, esto no ocurrió en Progreso, posiblemente por el grado de daño en que se encontraron las branquias.

Las alteraciones encontradas en branquia se resumen en la *Tabla 12*. Al observar la prevalencia de las alteraciones entre Sisal y Progreso, los aneurismas estuvieron

en el 45% de los peces de Sisal y en el 67% de los de Progreso; el desprendimiento del epitelio respiratorio fue del 100% para los dos sitios; la fusión de lamelas por hipertrofia se presentó más en Sisal (60%) que en Progreso (33%); la fusión lamelar por hiperplasia fue más común en Sisal (100%) que en Progreso (83%); la necrosis que es la alteración con mayor peso, es decir, es la alteración más grave que se presentó en las branquias, prevaleció en el 15% de los peces de Sisal y en el 83% de los de Progreso; los aneurismas estuvieron en el 45% de los peces de Sisal y en el 67% de los de Progreso; por último, el exudado tuvo alta prevalencia en los dos sitios, 95% en Sisal y 100% en Progreso. En general las prevalencias de las alteraciones en branquia fueron más frecuentes (3 de 7 alteraciones) en Progreso que en Sisal (1 de 7).

Tabla 12: Alteraciones encontradas en branquia e hígado de *F. grandissimus* y su prevalencia por sitio.

	Histopatología	Sisal	Progreso
Branquia	• Aneurismas	45%	67%
	• Desprendimiento del epitelio respiratorio	100%	100%
	• Necrosis	15%	83%
	• Fusión de lamelas por hipertrofia	60%	33%
	• Fusión de lamelas por hiperplasia	100%	83%
	• Moco /exudado	95%	100%
Hígado	• Hemorragia	20%	33%
	• Hiperemia	85%	83.3%
	• Aneurismas	100%	100%
	• Alteraciones en arquitectura y estructura	5%	0%
	• Alteraciones del plasma (Vacuolas hialinas, lipidosis, esteatosis)	40%	100%
	• Depósitos	40%	67%
	• Necrosis	45%	33%
	• Exudado (macrófagos y granulomas)	90%	67%
	• Infiltración	0%	17%

Las branquias son órganos que están en contacto directo con el ambiente, por lo cual son sensibles a los cambios que se presentan, como los niveles de pH, la salinidad y los contaminantes (Van der Oost *et al.*, 2003). Los daños registrados en branquia de *F. grandissimus* pueden tener múltiples causas, la fusión de lamelas por hiperplasia e hipertrofia, el desprendimiento epitelial y la mucosidad son alteraciones que permiten al órgano protegerse de los agentes externos, ya que disminuyen la superficie de contacto con los contaminantes y la distancia de difusión de los fluidos sanguíneos, la mucosidad contiene glicoproteínas que son capaces de atrapar xenobióticos evitando la entrada de estos al epitelio (Maharajan *et al.*, 2016; Naeemi *et al.*, 2013; Nero *et al.*, 2006a). Todas estas alteraciones podrían provocar una deficiencia en el intercambio gaseoso y por ende causar hipoxia en los peces (Nero *et al.*, 2006a), conjuntamente la branquia se vuelve vulnerable a la invasión de patógenos (Mokhtar, 2017).

Por otro lado, Pereira *et al.* (2013) menciona que cuando la calidad del agua disminuía, las branquias presentaban mayores índices de fusión lamelar y desprendimiento epitelial. En el caso de la hipertrofia las hembras podrían haber presentado más este tipo de alteración debido a que tener tallas más grandes ($p < 0.05$) sus las branquias tener mayor superficie de contacto con el ambiente, o que el metabolismo de las hembras es más susceptible a los agentes externos.

Todas las alteraciones mencionadas pueden significar una respuesta temprana a los cambios del medio, puede ser de contaminación de tipo orgánica (Fanta *et al.*, 2003), sales, metales pesados (Hadi y Alwan, 2012), exceso de nutrientes (Pereira *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2014), y productos de la degradación de hidrocarburos (Ismail *et al.*, 2009; Nero *et al.*, 2006b). Por otra parte, Pereira *et al.* (2013) observó que los aneurismas fueron las alteraciones que representaban mejor la calidad de agua de los sitios, siendo más común en áreas consideradas muy contaminadas por diferentes xenobióticos como pesticidas y nitratos (Barisic *et al.*, 2015; Xing *et al.*, 2012); comparando con los resultados obtenidos, Progreso presentó mayor prevalencia de aneurismas, lo que podría significar que el sitio esta más contaminado que Sisal. Por último, la necrosis es una alteración de tipo irreversible

que esta asociada con la exposición a sustancias tóxicas, principalmente metales pesados como el aluminio, hierro y cobre (Hadi y Alwan, 2012; Lujic *et al.*, 2013; Vasanthi *et al.*, 2013), entre sitios Progreso presentó más prevalencia de esta afectación, lo que significaría que las condiciones ambientales del sitio, como la salinidad, el pH, los compuestos nitrogenados y otro tipo de variables no medidas, ejercieron mayor estrés a las branquias.

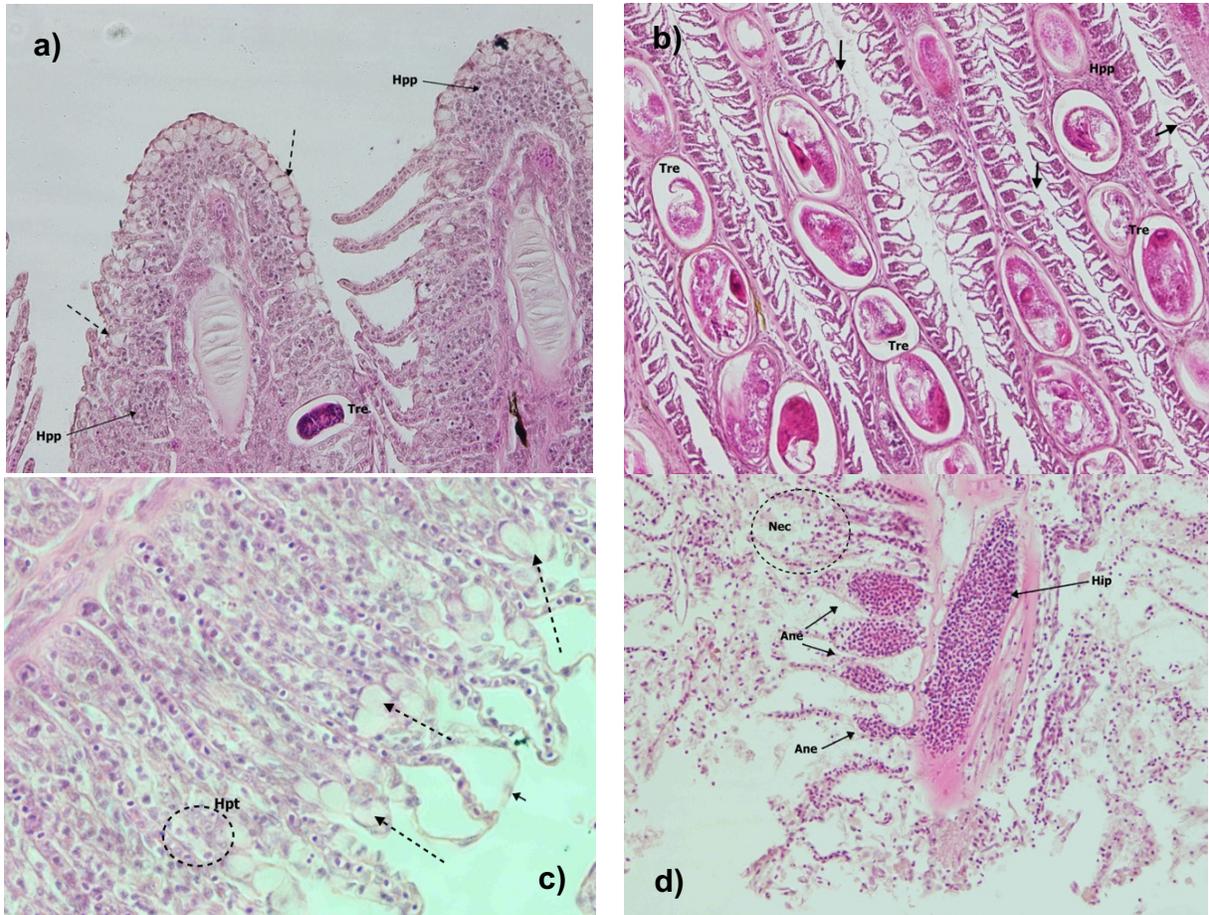


Figura 37: Histopatología de branquia de *F. grandissimus*. a) Fusión de lamelas secundarias por hiperplasia (Hpp), presencia de moco (flechas punteadas) y trematodo (Tre); tinción H&E, magnificación 20x. b) Desprendimiento epitelial de lamelas secundarias (flechas cortas), hiperplasia (Hpp) y numerosos trematodos (Tre) en tejido de soporte; tinción H&E, magnificación 10x. c) Desprendimiento epitelial (flecha corta), fusión de lamelas secundarias por hipertrofia (Hpt) y moco (flechas punteadas); tinción H&E, magnificación 40x. d) Congestión sanguínea en tejido de soporte (Hip), aneurismas en lamelas secundarias (Ane) y necrosis de lamelas secundarias (Nec); tinción H&E, magnificación 20x.

9.2.2.2 Histopatología hígado

Las reacciones encontradas en hígado fueron disturbios circulatorios, cambios regresivos e inflamación. Las alteraciones con mayor prevalencia fueron aneurismas (100%) y alteraciones del plasma (100%), en esta última se observó diferentes grados de degradación del plasma, la esteatosis que es una acumulación microvesicular de lípidos y se presenta en pequeñas vacuolas dispersas a lo largo de todo el tejido parenquimal y la lipidosis que son agrupaciones de vacuolas grandes de lípidos (Costa *et al.*, 2009), además en algunos organismos se observó una grave degeneración del plasma de los hepatocitos (degeneración hidrópica) (*Figura 39 c*). Las dos alteraciones se presentaron en la misma proporción de machos y hembras.

También se encontró exudado en la mayoría de las muestras (84.61%), esta alteración corresponde a la reacción patrón de inflamación y son los fluidos que se exudan de la sangre y los vasos linfáticos (Bernet *et al.*, 1999), se presentó en machos y hembras de forma similar (88.88 y 82.35%) (macrófagos y granulomas), aunque fue una alteración prevalente esta no fue grave, en cuestión de que el porcentaje de hígado afectado fue mínimo.

La hiperemia es la congestión debido a un aumento de sangre en el capilar sanguíneo (Naeemi *et al.*, 2013) por lo que forma parte de los disturbios circulatorios (*Figura 39 d*), se presentó en el 84.61% de las muestras y afectó más a machos (88.88%) que a hembras (82.35%).

En el 46.15% de los organismos se encontraron depósitos, los cuales son acumulaciones intercelulares de sustancias (Bernet *et al.*, 1999), en machos el 66.66% y en hembras el 35.29% lo presentaron.

Se observaron pequeñas áreas con necrosis en el parénquima del hígado (*Figura 39 c*), el 42.3% de los organismos lo presentaron, a pesar de que la extensión del daño fue mínima es una afección que representa gravedad para el órgano; la prevalencia fue mayor para machos (55.55%) que para hembras (35.29%).

La hemorragia, parte de los disturbios circulatorios, tuvo una ocurrencia de 23.07% de las muestras, se manifiesta como sangre fuera de las arterias o venas (Bernet *et al.*, 1999), el 23.52% de las hembras y el 22.22% de los machos fueron afectados por ella.

Las alteraciones en hígado con menos frecuencia fueron las alteraciones de la arquitectura celular y la infiltración (3.84%); la primera, perteneciente a cambios regresivos, se distinguió como un desarreglo de los hepatocitos que bordeaban el tejido hepático y solo se encontró en el hígado de una hembra (5.88%); la segunda, parte de la reacción de inflamación, solo la presentaron machos (11.11%). En la alteración de inflamación se integró, lo que se identificó como cuerpos eosinófilos, es decir cuerpos citoplasmáticos altamente teñidos de rosa (Figura 39 f).

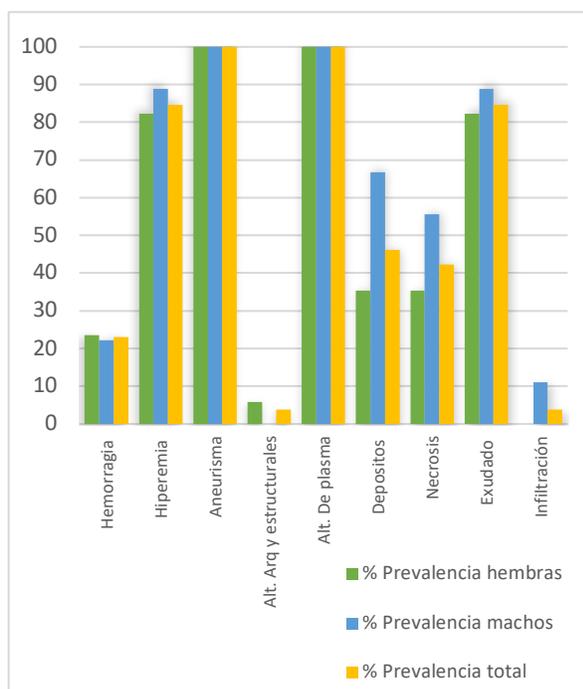


Figura 38: Prevalencia de alteraciones en hígado, para hembras, machos y total

Por último, se observaron hígados con perforaciones causadas por nematodos (Anexo VI), Bernet *et al.*, (1999) no incluye una alteración específica para parásitos, por lo cual en esta sección no se habla en particular de ellos (ver FDI e índices histopatológicos).

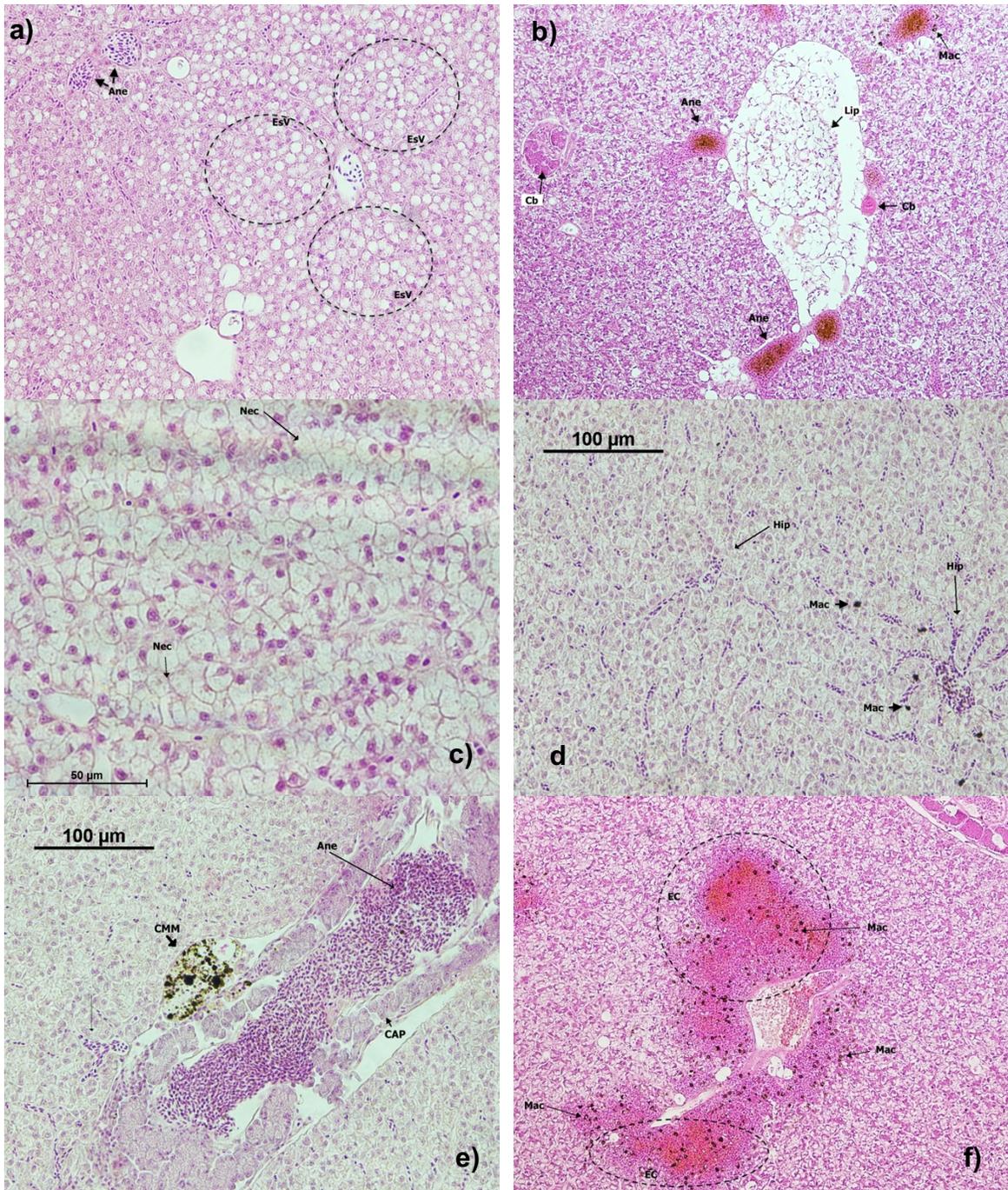


Figura 39: Histopatología de hígado de *Fundulus grandissimus*. a) Hígado con pequeñas vesículas de grasa (esteatosis) en todo el parenquima (EsV), dilatación de los vasos sanguíneos (Ane); tinción H&E, magnificación 20x. b) Alteración del plasma por acumulación de grasa (Lipidosis=Lip), acumulación y dilatación de los vasos sanguíneos con presencia de exudado y alrededor de la lipidosis (Ane), presencia de pequeños macrófagos alrededor de los aneurismas (Mac), conductos biliares (Cb); tinción H&E, magnificación 10x. c) Severa degeneración del citoplasma, se observa la migración de los hepatocitos cerca de los sinusoides; pequeños espacios con necrosis (Nec); tinción H&E, magnificación 40x. d) Congestión sanguínea (Hip), formación de

macrófagos cerca de los vasos congestionados (Mac); tinción H&E, magnificación 20x. e) acumulación sanguínea (Ane), formación de centros melanomacrófagos (CMM) alrededor de las células pancreáticas (CAP); tinción H&E, magnificación 20x. f) Cuerpos eosinófilos (EC) y macrófagos (Mac) que se encuentran alrededor de un conducto sanguíneo; tinción H&E, magnificación 10x.

La prevalencia de las alteraciones en hígado se observa en la *tabla 12*. La hemorragia fue más prevalente en los hígados de peces de Progreso (33%) que los de Sisal (20%); la hiperemia se presentó en 85% de peces de Sisal y el 83.3% de los de Progreso; los aneurismas tuvieron 100% de prevalencia para los dos sitios; la alteración de la arquitectura solo se presentó en el 5% de los peces en Sisal; las alteraciones de plasma prevalecieron en el 45% de organismo de Sisal y en el 100% de los de Progreso; los depósitos aparecieron en el 40% de los peces de Sisal y el 67% de los de Progreso; la prevalencia para la necrosis fue del 45% en Sisal y 33% en Progreso; el exudado se presentó en un 90% en Sisal y un 67% en Progreso; por último, la infiltración; que junto con la necrosis son las alteraciones con factores de importancia más altos (=3, según Bernet *et al.*, 1999), se presentó en el 17% de los peces en Progreso.

El hígado es el órgano metabólico de más importancia, los daños encontrados en él producen una importante perturbación en su fisiología (Javed *et al.*, 2016), del mismo modo por las biotransformaciones que realiza, es un órgano susceptible a tumorigénesis (Wolf y Wheeler, 2018).

Las alteraciones en el plasma de los hepatocitos, principalmente la lipidosis, ha sido observada en peces expuestos a plaguicidas y temperaturas bajas (Salazar-Lugo *et al.*, 2011), la lipidosis y la esteatosis pueden ser causadas por las demandas metabólicas del hígado. Palacios *et al.* (2015) encontró los dos tipos de alteración del plasma en sitios con cargas altas de materia orgánica, menciona que las principales causas del almacenamiento de grasa en el hígado son el exceso de lípidos y nutrientes en la dieta de los peces, además de que en periodos de ayunos los peces tienen a almacenar la energía de esta forma.

Por otro lado, Costa *et al.* (2009) describe a la degeneración de grasa (lipidosis y esteatosis) como un tipo de falla en el metabolismo de los lípidos y la síntesis de proteínas como consecuencia a la exposición a contaminantes, por ejemplo, pesticidas (Fanta *et al.* 2003; Xing *et al.*, 2012), metales pesados (van Dyk *et al.*, 2007) y aguas residuales con altas cargas de nitrógeno y fosfato; además la presencia de estas vacuolas podría ser un mecanismo del hígado para reducir la disponibilidad de contaminantes lipofílicos (Ruíz-Picos *et al.*, 2012).

Las alteraciones en el plasma se presentaron en todos los organismos, lo que significa que las condiciones ambientales son igual de adversas para machos y hembras de los dos sitios; o puede ser que los *F. grandissimus* tienen un metabolismo que provoca la acumulación de lípidos en el hígado. Por otro lado, la degeneración hidrópica de los hepatocitos, la necrosis y los aneurismas en hígado han sido relacionados con la contaminación por metales pesados (van Dyk *et al.*, 2007; Vasanthi *et al.*, 2013). Además, la necrosis también es asociada con el estrés oxidativo y la inhibición del metabolismo de carbohidratos causados por la exposición a pesticidas, metales pesados y aguas residuales (Rautenberg *et al.*, 2015). La alteración en la arquitectura de los hepatocitos solo se presentó una vez, esta pudo ser consecuencia del alto grado de alteración del plasma por degeneración hidrópica (*Figura 39 c*).

La hiperemia provoca un mayor flujo sanguíneo que es el que permite la biodetoxicación de los hepatocitos, a su vez, una hiperemia severa puede provocar hemorragias; estas alteraciones se presentan cuando el flujo sanguíneo al hígado incrementa a causa de un posible daño en el órgano (Bhuvaneshwari *et al.*, 2015; Javed *et al.*, 2016). Rautenberg *et al.* (2015), observó una prevalencia más alta de hiperemia en temporada de secas; este tipo de alteración se ha observado en presencia de metales pesados y pesticidas (Bhuvaneshwari *et al.*, 2015; Hadi y Alwan, 2012; Maharajan *et al.*, 2016).

El tipo de exudado presentado en los hígados de *F. grandissimus* fueron gránulos de color amarillo-café por lo cual se considera que son restos de bilis que quedó estancada, según Fanta *et al.*, (2003) y Hadi y Alwan, (2012) estas acumulaciones

de bilis indicarían en posible daño metabólico. Esta afectación fue más prevalente en el sitio de Sisal, lo que podría indicar que el estrés en ejercido en el sitio afecta al metabolismo de *F. grandissimus*. Por otro lado, los depósitos observados fueron de sustancias de color marrón, estas pudieron ser acumulaciones de hierro o de algún tipo de metal pesado, en particular la acumulación de hierro se ha asociado con la toxicidad por nitritos (Kroupova *et al.*, 2005).

La infiltración y la presencia de macrófagos por lo regular son respuestas a patógenos, (Feist *et al.*, 2015), por lo que estas afectaciones pudieron ser provocadas por la alta presencia de cestodos en la cavidad celómica y de nematodos en hígado y cavidad celómica. También se ha relacionado a los melanomacrófagos con la desintoxicación, reciclaje de sustancias endógenas y exógenas, y la presencia de parásitos especialmente trematodos y nematodos (Camargo y Martínez, 2007; Cuevas *et al.*, 2015), en este estudio se observaron nematodos y cestodos en la cavidad celómica, por lo que la presencia infiltración en los hígados de *F. grandissimus* podría ser causada por los parásitos y/o la presencia de contaminantes en el agua de las ciénagas de Sisal y Progreso. Con respecto a las inclusiones eosinofilas, no se sabe que es exactamente lo que las causa, sin embargo se cree que pueden contener material peptídico absorbido de células degeneradas, además de tener una posible relación con la cirrosis hepática, tejido muy dañado y exposición a contaminantes orgánicos como hidrocarburos aromáticos (HAP) y bifenilos policlorados (PCB) (Costa *et al.*, 2009; Rautenberg *et al.*, 2015).

Todos los daños observados en hígado pueden tener multiples causas, entre ellas las altas cargas de materia orgánica proveniente de descargas de aguas residuales y la presencia de parásitos.

9.2.2.3 Índices histopatológicos

El índice histopatológico de branquia tuvo una puntuación mínima de 7, se presentó en un *Fundulus grandissimus* macho de Sisal; y una puntuación máxima de 18, perteneciente a un pez macho de Progreso. Progreso obtuvo un valor promedio de

13.83 ± 3.18 y Sisal una media de 10.35 ± 4.13. Al separar la población por sexo, las hembras obtuvieron un IH_{branquia} promedio de 10.82 ± 3.73 y los machos 11.77 ± 2.06.

El índice histopatológico de hígado alcanzó un valor mínimo de 3 en una hembra de Sisal; el máximo de 11 se repitió en tres organismos, un macho de Progreso, una hembra y un macho de Sisal. Progreso presentó una media de 7.66 ± 2.42 y Sisal fue de 7.15 ± 2.3. Por sexo se obtuvo una media de 6.58 ± 2.26 para hembras y 8.55 ± 1.81 para machos.

La obtención del índice histopatológico total dio como resultado un valor mínimo de 13 y un máximo de 29. La media de los valores obtenidos en Progreso fue 21.50 ± 5.16 y la de Sisal fue 17.50 ± 3.12; por sexo la media fue de 17.41 ± 3.39 para hembras y 20.33 ± 4.44 para machos. El valor mínimo del IH_{Total} pertenece a dos hembras de Sisal, el valor máximo fue para un macho de Progreso.

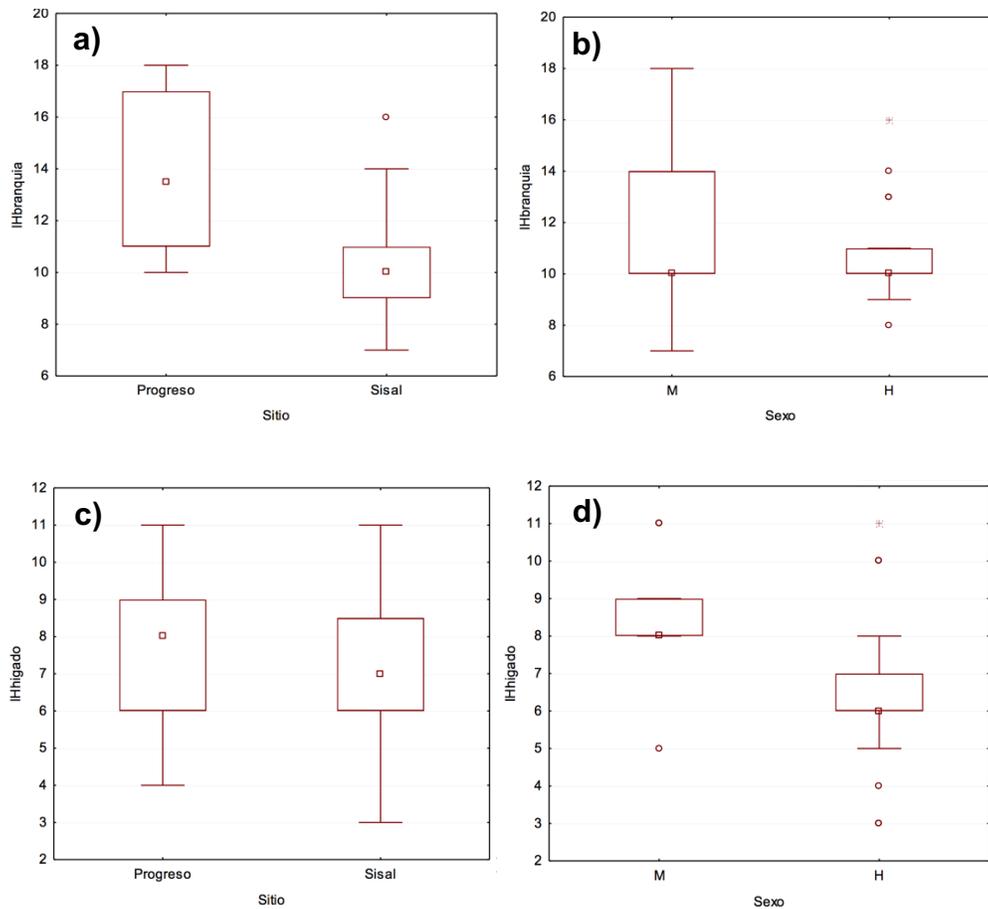
Para comparar los índices histopatológicos entre sitios, sexo y meses de muestreo se realizó la prueba Kruskal-Wallis. El efecto por sitio muestra que el índice histopatológico de branquia tiene una diferencia significativa de las medias entre Sisal y Progreso ($p < 0.05$). El índice histopatológico de hígado no muestra diferencia entre sitios ($p > 0.05$). El índice histopatológico total no presentó diferencia significativa para el efecto de sitio ($p > 0.05$), es decir, aunque las puntuaciones del índice fueron mayores para Progreso que para Sisal, estadísticamente los daños histopatológicos en los *F. grandissimus* fueron similares entre los dos sitios (*Figura 40*).

En la comparación por efecto sexo, el IH_{branquia} no mostró diferencia entre machos y hembras ($p > 0.05$). El $IH_{\text{hígado}}$ manifestó una diferencia significativa ($p < 0.05$) para el efecto sexo, en donde se observa que los machos se vieron más afectados que las hembras. El índice histopatológico total no presentó diferencias entre machos y hembras ($p > 0.05$) a pesar de que uno de los índices de órgano evaluado si las tuvo; por lo que a nivel organismo no se manifestó un efecto por sexo (*Figura 40*).

Tabla 13: Valores de p en la prueba Kruskal Wallis (KW-H), en los contrastes por sitio, sexo y muestreo*sitio de los índices histopatológicos (IH_{branquia} , $IH_{\text{hígado}}$ y IH_{Total}) y de salud (FDI y ISP).

	POR SITIOS	POR SEXO	POR SITIO*MUESTREO
IH_{BRANQUIA}	0.0096**	0.6585	0.0338**
$IH_{\text{HÍGADO}}$	0.5592	0.0222**	0.9476
IH_{TOTAL}	0.0812	0.1161	0.2882
FDI	0.0053**	0.2270	0.0333**
ISP	0.0589	0.6464	0.0604

**diferencia significativa



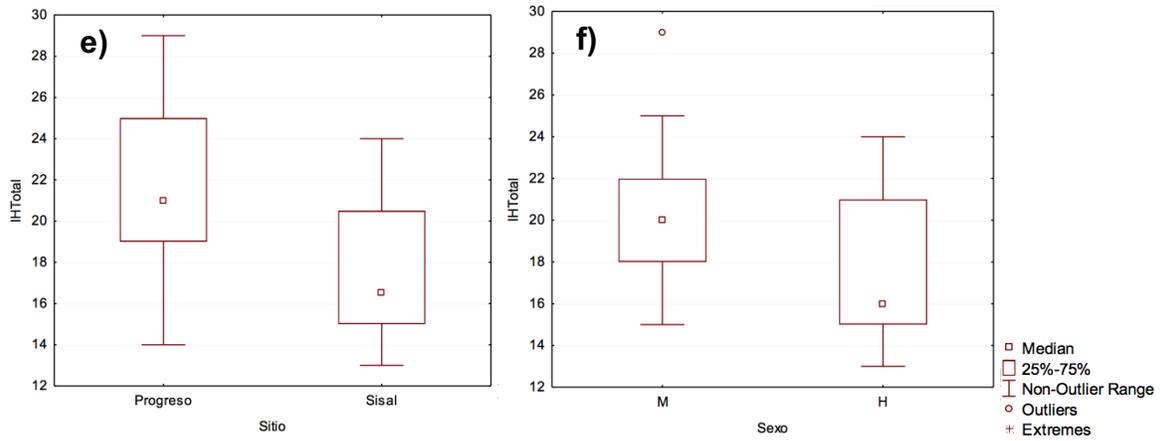
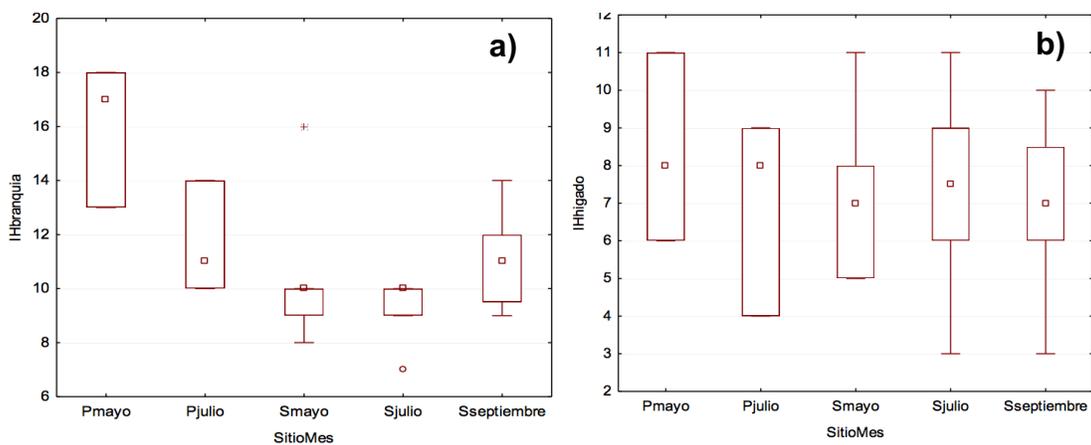


Figura 40: Gráficas de caja y bigote de los contrastes de medianas de los índices histopatológicos. Contraste entre Progreso y Sisal de a) índice histopatológico de branquia ($IH_{branquia}$) ($p < 0.05$), c) índice histopatológico de hígado (IH_{higado}) ($p > 0.05$), y e) índice histopatológico total (IH_{total}) ($p > 0.05$). Contraste entre machos (M) y hembras (H) de b) índice histopatológico de branquia ($IH_{branquia}$) ($p > 0.05$), d) índice histopatológico de hígado (IH_{higado}) ($p < 0.05$) y f) índice histopatológico total (IH_{total}) ($p > 0.05$).

Además, para el efecto muestreo entre los dos sitios $IH_{branquia}$ fue significativamente diferente ($p < 0.05$). Los valores de Progreso en el mes de mayo fueron más altos que los valores de Sisal*mayo, Progreso*julio, Sisal*julio y Sisal*septiembre, en la figura 41 a) se observa que Progreso*mayo es diferente de Sisal*mayo y Sisal*julio. El efecto muestreo no fue significativo para los índices histopatológicos de hígado y total ($p > 0.05$) (Figura 41 b y c).



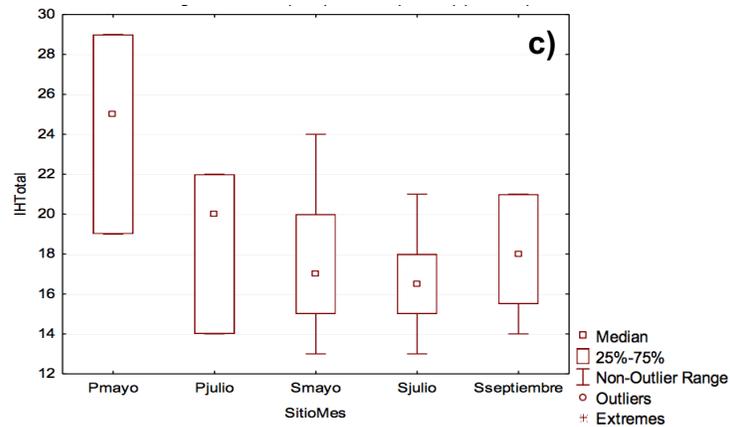


Figura 41: Gráficas de caja y bigote de los contrastes de medianas de los índices por sitio *muestreo. Contraste de a) índice histopatológico de branquia ($IH_{branquia}$) ($p < 0.05$); b) índice histopatológico de hígado (IH_{higado}) ($p > 0.05$); c) índice histopatológico total (IH_{total}) ($p > 0.05$). Muestras de Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); muestras de Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el índice histopatológico de la branquia ($IH_{branquia}$) no se registró efecto del sexo de los peces, lo que indica que las presiones exógenas y endógenas son iguales para machos y hembras. En la comparación de los sitios, Progreso registró un $IH_{branquia}$ más alto. El contraste entre sitios por mes de muestreo reafirmó que las branquias de los peces obtenidos en Progreso sufrieron mayor daño en los dos muestreos donde se encontraron peces, esto indicaría que los xenobióticos presentes en el agua de Progreso ejercen mayor presión en este órgano blanco.

Los altos niveles de $IH_{branquia}$ en Progreso se deben a que el 83% de los peces presentaron necrosis, alteración que es grave para el órgano y es causada por múltiples estresores, siendo los metales pesados los que se reportan como los más relacionados a esta afectación (Hadi y Alwan, 2012; Lujic *et al.*, 2013; Vasanthi *et al.*, 2013).

Otro dato interesante anteriormente mencionado, es que la presencia de aneurismas se relaciona con mala calidad en el agua (Pereira *et al.*, 2013; Xing *et al.*, 2012) y en Progreso presentó más prevalencia, por lo cual también afectó al resultado del índice.

De los contaminantes evaluados, los que pudieron tener más influencia en la branquia son el nitrito, por las altas concentraciones en las que se encontró, valores que sobrepasan los niveles de seguridad para ambientes acuáticos. Se ha reportado que cuando los peces son expuestos a altas concentraciones y por tiempos prolongados se acumula en sangre y branquias (Kroupova *et al.*, 2005), dificulta el transporte de oxígeno, causa la muerte celular a causa de hipoxia y por lo tanto afecta la estructura de la branquia.

Además, el amoníaco ha sido relacionado con la destrucción del epitelio branquial; la cual fue una alteración que se presentó en diferentes niveles de gravedad en todo los *F. grandissimus* evaluados, y con la proliferación de células epiteliales (hiperplasia) (Oliveira y Fernandes, 2014), esta afectación también tuvo un 100% de prevalencia en los dos sitios estudiados. Salim *et al.* (2013) observó que al exponer a peces *Danio rerio* a diferentes concentraciones de amoníaco las branquias presentaron hipertrofia, hiperplasia, aneurismas entre otras alteraciones, además, el índice de branquia tendía a incrementar con las concentraciones altas de amoníaco. Por lo que podemos inferir que los daños y los valores del IH_{branquia} observados reflejan la contaminación causada por amoníaco y otros compuestos nitrogenados. Lo anterior muestra a Progreso como el sitio más contaminado con respecto a Sisal, además podemos decir que la branquia funciona como un buen biomarcador de efectos primarios de contaminación acuática por compuestos nitrogenados (Santos *et al.*, 2014; Van der Oost *et al.*, 2003).

Para el índice histopatológico de hígado no registró efecto por sitio, ni temporada; sin embargo, se observó que los machos presentaban $IH_{\text{hígado}}$ más altos con respecto a las hembras, esto podría implicar que los hígados de los machos son más susceptibles al ambiente. Las alteraciones que se presentaron con más frecuencia en machos y que afectaron al índice histopatológico son la necrosis (55.5%), la infiltración (11.1%), que tienen niveles altos de severidad (3 y 2 respectivamente); los depósitos (66.6%), hiperemia (88.8%) y exudado (84.4%). En el análisis histopatológico se observaron acumulaciones de color marrón en la

sangre de las venas en el 46.1% de los individuos, siendo los machos los que más presentaron este tipo de alteración.

Por otro lado, la hiperemia y el exudado se pueden asociar al exceso de nitritos en el agua, ya que al formar metahemoglobina, y en consecuencia causar hipoxia por deficiencia del transporte de oxígeno, la circulación sanguínea aumentaría para poder compensar la falta de oxigenación del órgano, como señalan Aggergaard y Jensen (2001) que sucede en los peces *Oncorhynchus mykiss*, los cuales presentaron vasodilatación inducida por nitritos, posiblemente por el efecto del óxido nítrico (reducido a partir del NO_2 en sangre). En el caso del exudado, se considera que es exceso de bilis, esto tiene relación con la desintoxicación que realiza el metabolismo de los peces, los cuales son capaces de reducir el nitrito a nitrato el cual es excretado por medio de bilis u orina (Kroupova *et al.*, 2005).

La infiltración, la necrosis y las alteraciones del citoplasma podrían haber sido ocasionadas por los parásitos encontrados en cavidad celómica, en particular los nematodos, Pilla *et al.* (2014) menciona que la vacualización de los hepatocitos puede ser el resultado de un desequilibrio en la tasa de síntesis y de liberación de sustancias en las células, causadas probablemente por los metabolitos y secreciones del parásito, además observó dilatación y congestión sanguínea de sinusoides y melanomacrófagos con contenido de bilis. Olivero *et al.* (2013) también observó infiltración, esteatosis y necrosis en hígados de *Mugil incilis* parasitados por nematodos y trematodos, por lo que los helmintos que parasitaron a *F. grandissimus* pudieron ser otra de las causas de las alteraciones observadas en la estructura del tejido hepático.

Otra posible razón de que los hígados de machos estuvieran más afectados es el tamaño de estos, ya que estadísticamente fueron más pequeños (IHS, $p < 0.05$) que el de las hembras, por lo que se recomienda realizar estudios sobre la relación que guarda el IHS con el $\text{IH}_{\text{hígado}}$, y realizar otras investigaciones sobre el metabolismo que permitan conocer si el IHS es determinante en la integridad del $\text{IH}_{\text{hígado}}$.

Los resultados estadísticos del índice histopatológico total mostraron que no tuvo efecto sitio, sexo y sitio*muestreo. Según el coeficiente de Spearman (*Anexo VII*) el IH_{total} de los individuos de Progreso estuvo fuertemente relacionado con el $IH_{branquia}$ (0.94), el $IH_{hígado}$ lo afectó un poco menos (0.81), por lo que podemos decir que la salud, medida mediante histopatología, de los individuos de Progreso fue fuertemente determinada por los daños en branquia. El coeficiente de Spearman en Sisal (*Anexo VII*) mostró que el $IH_{hígado}$ fue el que más afectó al resultado del IH_{total} (0.83), por lo cual podemos decir que las alteraciones en hígado determinaron el estado de salud, medido con histopatología, de los *F. grandissimus* en Sisal. Por lo que a pesar de que hubo efecto sitio y sitio*muestreo en el $IH_{branquia}$, este efecto no se refleja en el IH_{total} , del mismo modo a pesar de que el $IH_{hígado}$ tuvo efecto sexo este no es observado en el IH_{total} (*Figura 42*), estos resultados podrían significar que a pesar que la integridad de la branquia y el hígado está siendo comprometida, el daño aún no es determinante para que el estatus la salud general de los individuos de *F. grandissimus* sea diferente entre sexos y sitios.

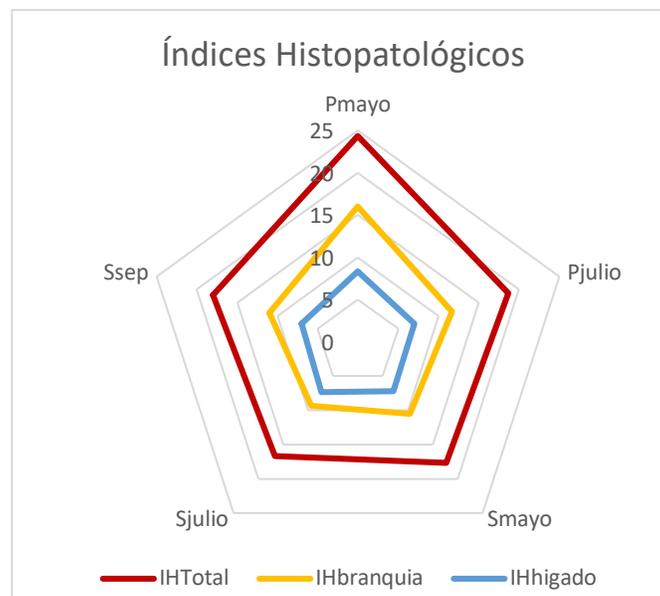


Figura 42: Gráfica radial de las puntuaciones obtenidas en cada sitio y muestreo. Sisal=Smayo, Sjulio, Ssep; Progreso=Pmayo, Pjulio.

Además, los compuestos nitrogenados parecen tener efectos en la histopatología de los órganos, branquia e hígado, y podría ser que los efectos aún sean respuestas

primarias a la exposición, ya que solo se evaluaron dos órganos sería aconsejable analizar otros órganos diana, para determinar si la salud del pez cambia por los efectos sinérgicos.

9.2.3 FDI

Al analizar la prevalencia de las enfermedades en los peces *F. grandissimus*, la incidencia de los parásitos, cestodos y nematodos; tuvo una prevalencia del 100%. Esto contribuyó a que los parásitos tuvieran los factores de mayor peso específico (7 y 6.9 para cestodos y nematodos, respectivamente) con respecto al resto de los padecimientos identificados y por lo tanto, representan el mayor riesgo para la salud de la especie.

Las alteraciones que afectaron menos a los peces analizados fueron el daño en aletas y la ulceración de piel, estas afecciones solo se presentaron en Sisal, al igual que los trematodos en branquias (*Tabla 14*).

Por otro lado, en la prevalencia de enfermedades entre machos y hembras se observó que la ulceración en piel (5.8%), el daño en aletas (5.8%) y la asimetría en branquias (35.2%) afectó solo a hembras. La pigmentación branquial fue más prevalente en hembras (35.2%) que en machos (22.2%). Los trematodos en hembras estuvieron presentes en el 88.2% y en machos en el 55.5%, los cestodos y los nematodos tuvieron el 100% de prevalencia en hembras y machos (*Figura 43 y 44*).

Los valores del FDI variaron de 13.9, puntaje obtenido por tres machos y dos hembras de Progreso, a 40.1 que fue presentado en un macho de Sisal. El valor medio de FDI en Sisal fue 27.05 y el de Progreso fue 16.86; por género las hembras tuvieron una media de 25.7 y en los machos fue 22.81.

Tabla 14: Prevalencia de enfermedades en *Fundulus grandissimus* en Sisal y Chicxulub.

Enfermedad	Ulceración de piel	Daño en aletas	Asimetría branquial	Pigmentación branquial	Cestodos	Nematodos	Trematodos
% Prevalencia en Sisal	5	5	20	40	100	100	100
% Prevalencia en Progreso	0	0	16.66	0	100	100	0
% Prevalencia total	3.84	3.84	19.23	30.79	100	100	76.92

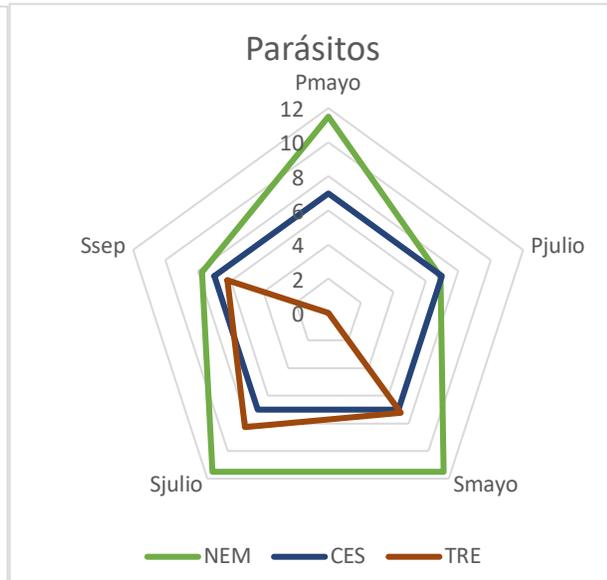
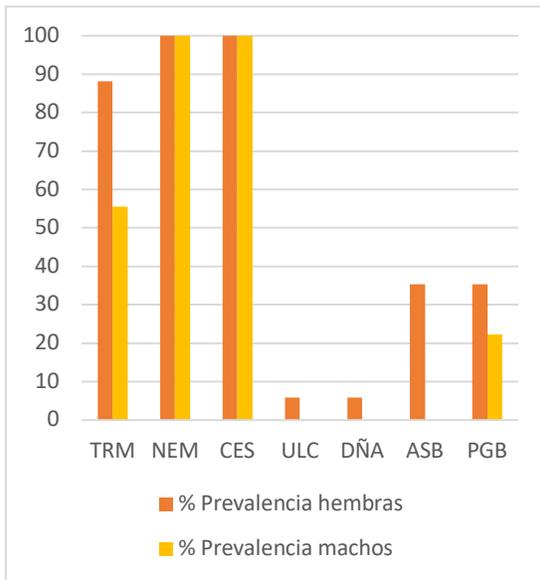


Figura 43: Prevalencia de enfermedades para hembras, machos de *F. grandissimus*. Trematodos (TRE), nematodos (NEM), cestodos (CES), ulceración en piel (ULC), daño en aleta (DÑA), asimetría branquial (ASB), pigmentación branquial (PGB).

Figura 44: Presencia de parásitos helmintos en el pez *Fundulus grandissimus*, por sitio y muestreo. Sisal= Smayo, Sjulio, Ssep; Progreso=Pmayo, Pjulio.

Se comparó el FDI por sitio, por sexo y por muestreo*sitio con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. En el efecto sitio fue visible una diferencia significativa ($p < 0.05$), donde Progreso presentó los niveles de FDI más bajos (Figura 45). En la comparación entre machos y hembras no se observó diferencia de las medias ($p > 0.05$), lo que indica que el sexo no fue determinante en el grado de enfermedad de los peces. Por último, en la comparación por muestreo y sitio se observó que los peces colectados en el mes de julio en Progreso fueron los más sanos y se

diferenciaron ($p < 0.05$) de los peces colectados en Sisal durante los tres meses analizados (Smayo, Sjulio, Sseptiembre).

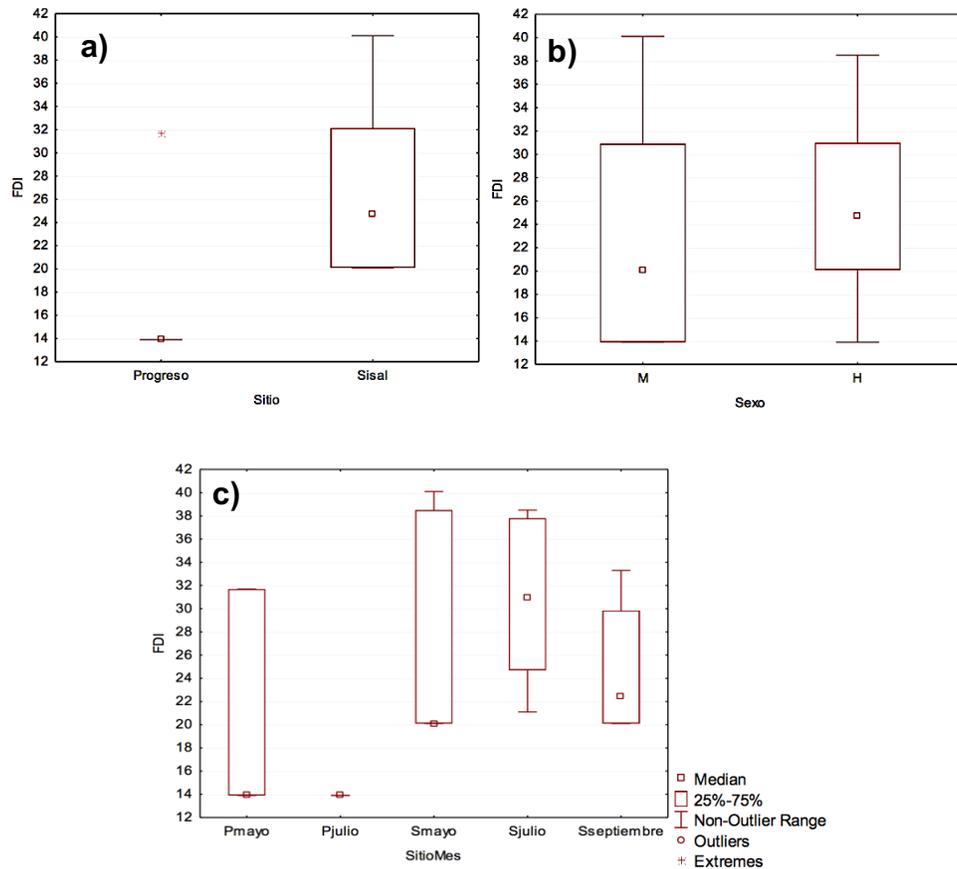


Figura 45: Gráficas de caja y bigote del contraste del FDI por a) sitio ($p < 0.05$), b) sexo ($p > 0.05$) y c) sitio*muestreo ($p < 0.05$). Machos (M); hembras (H); muestreos de Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); muestreos de Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

La prevalencia de las enfermedades fue fundamental para la descripción del FDI, porque el hecho de que un padecimiento este presente en la mayoría de los individuos es señal de que esa enfermedad esta incidiendo, y por lo tanto, afectando más a la población. Por lo tanto, los porcentajes de prevalencia mayores fueron los que determinaron el resultado del FDI (Figura 43 y 44).

La prevalencia de parásitos helmintos en *F. grandissimus* había sido previamente analizada para una población de peces del 2014 (Mora-Domínguez *et al.*, 2018), en esa evaluación encontraron nematodos (*Glossocercus caribaensis*) y cestodos

(género *Contraecum*) en el 100% de los individuos, estos datos muestran que las prevalencias de nematodos y cestodos en *F. grandissimus* no han cambiado, lo cual afirma que los helmintos son relevantes en la salud de estos peces, ya que son una enfermedad que ha afectado antiguamente a la especie.

De acuerdo a los resultados del FDI, los peces de Sisal mostraron estar más enfermos que los de Progreso, esto se debió a que la población Sisal presentó más enfermedades de las consideradas para el cálculo del FDI, que la población de Progreso, estas fueron: trematodos, pigmentación branquial, ulceración en piel y daño en aletas.

Es posible que las condiciones de Sisal permitan el desarrollo del ciclo de vida y por lo tanto la transmisión de trematodos branquiales. Además, la pigmentación branquial podría ser influida por la presencia de los trematodos, ya que al igual que estos parásitos solo se presentó en Sisal.

La ulceración en piel pudo ser causada por una infección o un traumatismo, al igual el daño en aletas podría verse influenciado por una infección pero también ha sido una enfermedad observada en ambientes con bajas concentraciones de nitratos (30 mg/L de N) en el pez *Oncorhynchus mykiss* (Davidson *et al.*, 2014).

La ausencia de trematodos en Progreso podría indicar baja calidad del agua en el sitio, ya que Huspeni *et al.* (2005) menciona que los aumentos de temperatura, cambios de salinidad, pH extremos, contaminantes orgánicos y metales pesados, pueden impedir la transmisión de trematodos de vida libre (miracidios y cercarías), ya que estos son susceptibles a estos tóxicos ambientales. Por lo tanto, ecosistemas que presenten calidad de agua deficientes, impiden la transmisión de trematodos al primer (molusco) y/o segundo (pez) hospedero.

La evaluación del FDI en *Fundulus grandissimus*, realizada en el presente estudio reporta por primera vez la parasitosis por trematodos en branquias, la asimetría branquial y la pigmentación branquial. Las prevalencias de las parasitosis por cestodos y nematodos fueron previamente descritas por Mora-Domínguez *et al.*

(2018); los daños en aleta y la ulceración en piel son enfermedades comunes en peces y fueron descritas en el protocolo de Bucke *et al.*, (1996) para la evaluación de peces *Limanda limanda*, especie base para la creación del FDI. Por lo que es necesario realizar evaluaciones constantes en los *F. grandissimus* y ajustes al FDI para observar cualquier cambio en los factores que afectan la salud de los peces. Lang y Wosniok (2008) sugieren que para un monitoreo exploratorio es necesario conocer sobre enfermedades existentes en zonas cercanas a la que será analizada, para un mejor criterio en la evaluación del FDI; para este estudio se tomaron como base enfermedades de peces marinos del Golfo de México y otras enfermedades comunes en peces (Austin y Newaj-Fyzul, 2017; Bucke *et al.*, 1996; Kar, 2016; FAO, 2011; Leatherland *et al.*, 2010; Rodger, 2010; Ward *et al.*, 2017; Zorita y Cuevas, 2014). Las parasitosis por *Glossocercus caribaensis* y especies del género *Contracaecum* se ha observado en otros peces de la región y de la familia *Fundulus* (Méndez, 2013; Ortega- Olivares *et al.*, 2013; Ortega-Olivares *et al.*, 2014; Vidal *et al.*, 2002) y en aves (Vidal *et al.*, 2002), lo que sugiere que estos parásitos son relevantes para los peces de la zona. Para una descripción detallada de las enfermedades en *F. grandissimus* es necesario realizar estudios más especializados, en particular la descripción de las parasitosis y los efectos en estos peces.

De acuerdo a la información anterior, y a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se recomienda reconsiderar la participación de los parásitos dentro del FDI, debido a que, por un lado, aquellos organismos cuyo hígado fue perforado por los nematodos fueron los que presentaron los daños histológicos más severos (aneurismas; alteraciones del plasma como, lipidosis y esteatosis severas; exudado como, centros de melanomacrófagos y granulomas), de la misma manera que los organismos con trematodiasis en las branquias, presentaron con más frecuencia hipertrofia e hiperplasia. Sin embargo, los organismos cuya cavidad celómica presentó una elevada prevalencia de parásitos, no necesariamente presentaron daños estructurales e histológicos en sus órganos. Además, como se mencionó anteriormente, los parásitos también son sensibles a la condiciones del ambiente acuático, por lo que la ausencia de trematodos en Progreso pudo haber sido a causa

de los niveles hipóxicos del ambiente (4.09 ± 3.1 mg/L OD), a la alta salinidad (40.81 ± 8.1). De la misma forma, en este sitio se registró el daño más grave (necrosis) en branquias, lo que implica que el ambiente no solo afectó a la transmisión de trematodos sino también a la calidad estructural del tejido branquial.

9.2.4 Índice de Salud de *Fundulus grandissimus* (ISP).

El valor máximo observado del ISP fue para un macho de Sisal (56.50) y el valor mínimo fue para un hembra de Progreso (27.90). Por sitio Progreso presentó una media de 38.36 y Sisal 44.55; comparando por género los machos tuvieron una media de 43.14 y las hembras 43.11.

Para comparar por sitio, por género y por sitio*mes de muestreo, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis. Como resultado del contraste entre Sisal y Progreso, se observó que el primero poseyó los puntajes más altos del ISP, sin embargo, la prueba estadística no muestra una diferencia significativa ($p > 0.05$) entre sus datos. Al efectuar el análisis entre los géneros, los valores medios del ISP entre machos y hembras son muy similares ($p > 0.05$), por lo que se descarta que el sexo implique un efecto para la salud o la enfermedad medida por el ISP de los *Fundulus grandissimus*.

En la comparación de sitio*muestreo se observó que el muestreo de Progreso en julio, el ISP obtuvo las puntuaciones más bajas. Además, en Sisal el muestreo de septiembre fue ligeramente diferente con julio. Estos resultados mostrarían que los peces más sanos fueron los del muestreo de julio en Progreso y que a pesar que hay diferencia en la salud de la especie entre mayo y julio en este sitio, estadísticamente la mediana no es contrastante ($p > 0.05$). Asimismo, en Sisal los organismos de *F. grandissimus* de septiembre mostraron una ligera disminución en los valores del índice de salud (ISP), lo que sugiere una mejor condición de salud, con respecto a los organismos evaluados en mayo y julio del mismo sitio. Si se compara el ISP del mismo mes en los dos sitios, en mayo y julio no existieron diferencias significativas en ambos sitios ($p > 0.05$). El mes de septiembre no se

puede contrastar entre los sitios debido a que en Progreso no fue posible la captura de organismos (Figura 46).

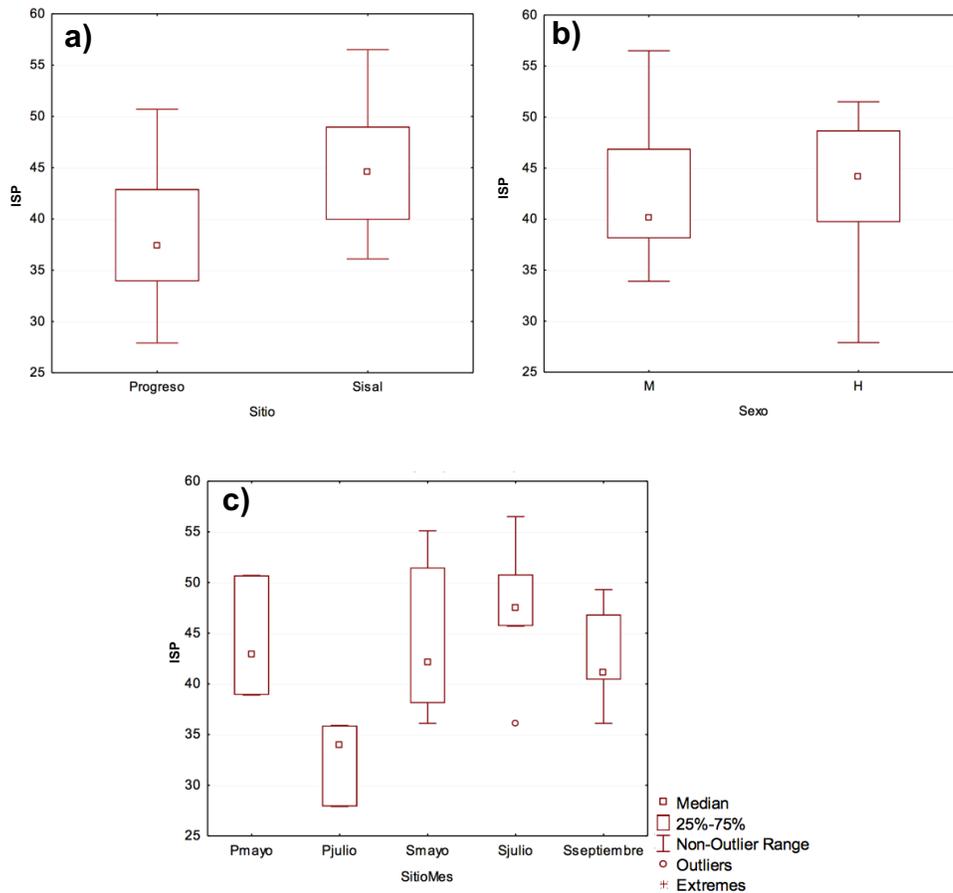


Figura 46: Gráficas de caja y bigote del contraste por a) sitio ($p>0.05$), b) sexo ($p>0.05$) y c) sitio*muestreo ($p>0.05$) del índice de salud de peces (ISP). Machos (M); hembras (H); muestreos de Progreso en mayo (Pmayo) y julio (Pjulio); muestreos de Sisal en mayo (Smayo), julio (Sjulio) y septiembre (Sseptiembre).

Por último, se observó en que tipo de salud caía el ISP de cada organismo estudiado, en Sisal dos machos y dos hembras se encontraron en el rango de salud aceptable y los dieciséis peces restantes estuvieron en el rango de buena salud. En Progreso una hembra estuvo dentro del nivel aceptable y los otros cinco ejemplares entraron en la clasificación de buena salud (Figura 47 a). Si se comparan los estados de salud (ISP) entre sitios por el porcentaje que los peces representaron, se observa que los peces en estado de salud bueno fueron el 80% del total en Sisal y el 83.33% en Progreso, mientras que los peces con salud aceptable representaron el 20% del total en Sisal y el 16.66% del total en Progreso (Figura 47 b), por lo que

se puede inferir que el ISP de los *F. grandissimus* en los sitios Sisal y Progreso se encuentran en un estado de salud similar. Por sexo se observa que el porcentaje de machos dentro de salud buena fue del 77.7%, el 33.3% fue aceptable; las hembras estuvieron en su mayoría dentro de la categoría de buena salud (82.3%), y el 17.6% en salud aceptable (*Figura 47c*), estos datos podrían indicar que las condiciones de salud entre hembras y machos son similares. Por último, en sitio*muestreo se observa que todos los peces de septiembre en Sisal y julio en Progreso presentaron buen estado de salud (*Figura 47d*).

Las comparaciones del ISP no mostraron diferencias entre las poblaciones, Sisal y Progreso, por sitio, por sexo o por muestreo, por lo que mostró el coeficiente de Spearman (*Anexo VII*), el ISP de Sisal fue más afectado por el análisis de enfermedades (FDI) con una relación de 0.85, mientras el IH_{total} no tuvo influencia (0.18); mientras que el ISP de Progreso no se relacionó significativamente con el FDI (0.65) y el IH_{total} (0.42). Es posible que el ISP se neutralizara por las respuestas del FDI (donde Sisal muestra tener poblaciones más enfermas) por los valores no estadísticamente diferentes obtenidos del IH_{total} . Los resultados finales muestran que el estado de salud de los peces, medido por ISP, entre las poblaciones de Sisal y Progreso son muy similares, entrando en la categoría de bueno a aceptable, lo que significaría que las condiciones de las ciénagas tienen condiciones que permiten un desarrollo aceptable de los *F. grandissimus*. A pesar de estos resultados es importante considerar el tamaño de la muestra en cada sitio ya que en Progreso la cantidad de organismos colectados fue visiblemente menor (6) que en Sisal (20); por lo tanto, se sugiere complementar la evaluación del ISP con la de la densidad de peces colectados.

El ISP es una integración de dos índices (IH_{total} y FDI) que miden la salud de los peces de diferentes maneras; el IH_{total} lo hace a través de las sumas de las condiciones histopatológicas de dos o más órganos evaluados, al analizarse más órganos el índice puede mostrar resultados diferentes; en FDI analiza enfermedades externas o macroscópicas; por lo que el análisis de este índice (ISP) es una base para estudios de este tipo en la región. Además, el biomonitoreo en

especies de la región es relevante debido a que hay un constante crecimiento de la población y la infraestructura turística en la costa norte de Yucatán lo que implicará que los humedales costeros recibirán más presión, ejercida por las descargas de aguas residuales y otros contaminantes (García de Fuentes *et al.*, 2011).

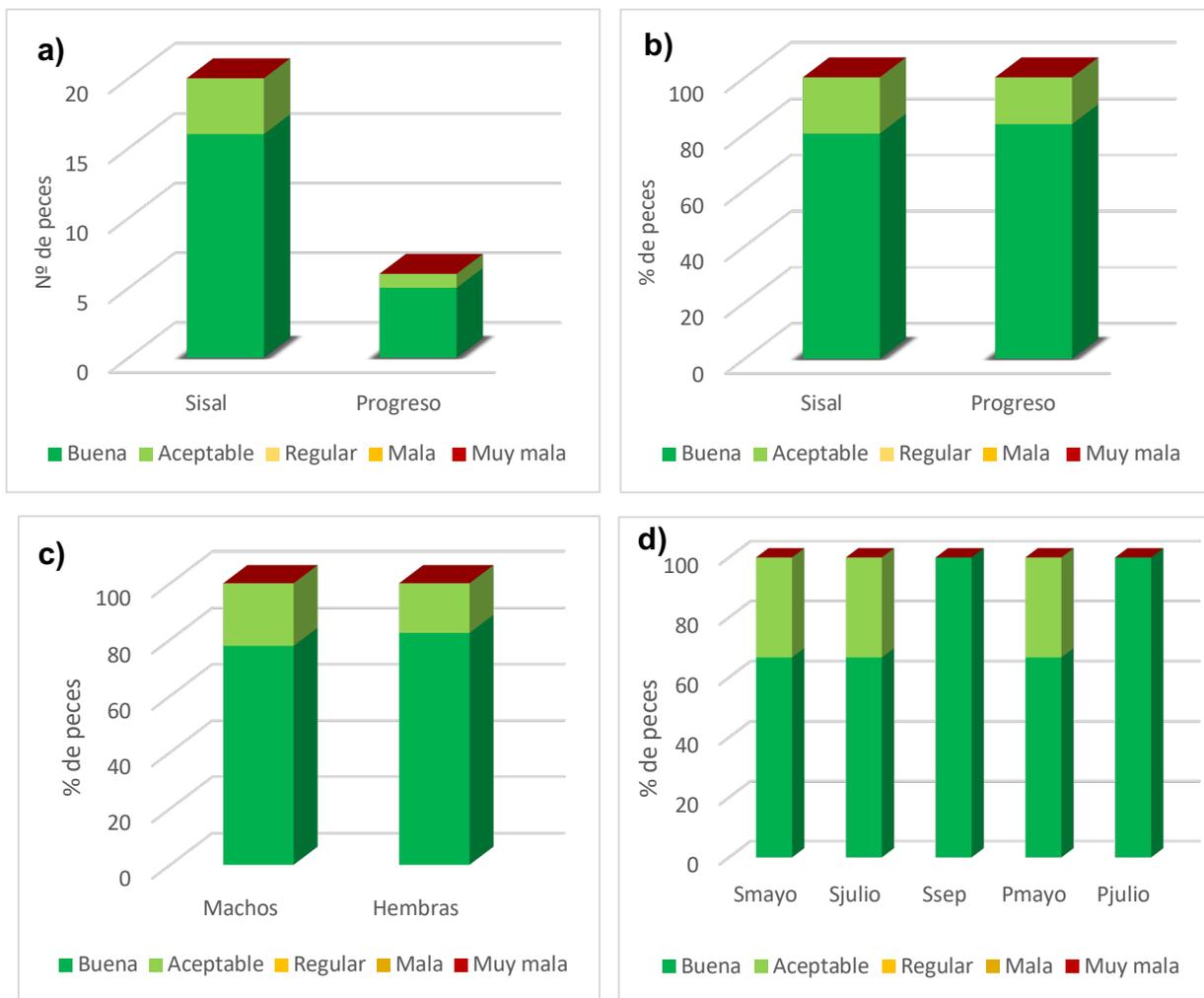


Figura 47: Gráficas del estado de ISP de los peces *Fundulus grandissimus* en Sisal y Progreso. a) Número de peces por sitio y el estado de salud (ISP) en el que se encontraron. b) Porcentaje de peces por sitio y el estado de salud (ISP) en el que se encontraron. c) Porcentaje de machos y hembras y estado de salud ISP en el que se encontraron. d) Porcentaje de peces por sitio*muestreo y estado de salud ISP.

9.3 Comparación de Variables Ambientales e Índices

Debido a la escases de los peces en Progreso, no fue posible el análisis de regresión de los índices (IH_{Total}, FDI, ISP) con las variables ambientales. Los índices, de salud (ISP), de enfermedad (FDI) y el índice histopatológico total (IH_{Total}) de Sisal se relacionaron con las variables ambientales: temperatura del agua (°C), salinidad, saturación de O₂ (%); oxígeno disuelto (mg/L), pH, profundidad del agua (cm); los compuestos nitrogenados: ion amonio (NH₄ (µg/L)), amoniaco (NH₃ (µg/L)), el nitrito (NO₂ (µg/L)), el nitrato (NO₃ (µg/L)); y con la relación carbono-nitrógeno (Corg'/N').

Los resultados de la rutina DISTLM de los índices de histopatología (IH_{total}) y salud (FDI e ISP) se muestran en las tablas 15-20. En el caso del índice histopatológico total, la prueba marginal muestra cuanto influyen individualmente las variables en el estado histopatológico del pez *Fundulus grandissimus*. Por sí solo, el amoniaco explicaría el 20.5% del IH_{total}, la temperatura el 15.67%, el pH un 17.8%, el OD 11.4%, la salinidad el 20.3% y la profundidad 11.1%, siendo todas estadísticamente significantes (p<0.05) para los niveles del IH_{total} encontrados en la ciénaga de Sisal (Tabla 15). La prueba secuencial del modelo DISTLM muestra el efecto conjunto de las variables ambientales sobre el IH_{total} (Tabla 16); en conjunto las variables que explican más la variación del IH_{total} son el amoniaco con un 21.4% y el oxígeno disuelto con un 16.25% (p<0.05), en total las variables explicarían el 41.23% (R²=0.4123) de los resultados obtenidos en el IH_{total} de los *F. grandissimus* de Sisal.

Tabla 15: Prueba marginal de la rutina (DISTLM) del IH_{total} contra las variables ambientales. Las variables significativas están resaltadas en negritas.

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
NH ₄ (µg/L)	0.1257	0.9383	0.353	0.0240
NH₃ (µg/L)	1.0701	9.8063	0.004	0.2051
NO ₂ (µg/L)	0.0100	0.0736	0.784	0.0019
NO ₃ (µg/L)	0.3493	2.7269	0.104	0.0669
Temperatura (°C)	0.8178	7.0650	0.011	0.1567
pH	0.9302	8.2460	0.003	0.1783
OD (mg/L)	0.5955	4.8969	0.032	0.1141
Salinidad	1.0620	9.7126	0.005	0.2035
Profundidad (cm)	0.5832	4.7834	0.032	0.1118
Corg'/N'	0.1669	1.2564	0.284	0.0320

Tabla 16: Prueba secuencial del modelo de regresión múltiple (DISTLM) del IH_{total} con las variables ambientales. $R^2=0.41236$. Las variables significativas en negritas

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
NH_4 ($\mu g/L$)	0.1257	0.9383	0.343	0.0240
NH_3 ($\mu g/L$)	1.1208	10.445	0.007	0.2148
NO_2 ($\mu g/L$)	0.0008	0.0075	0.93	0.0001
NO_3 ($\mu g/L$)	0.0385	0.3433	0.585	0.0073
Temperatura ($^{\circ}C$)	0.0080	0.0694	0.777	0.0015
pH	0.0045	0.0379	0.854	0.00086
OD (mg/L)	0.8481	8.8404	0.004	0.1625
Salinidad	0.0002	0.0029	0.954	5.64E-05
Profundidad (cm)	0.0042	0.0414	0.872	0.00081
Corg/N'	1.70E-05	0.00016	0.99	3.26E-06

Para el caso del índice de enfermedad FDI la prueba marginal muestra que, de manera individual, el amónico explica el 34.3% del estado de salud de *F. grandissimus* representado en el FDI, el nitrito el 17.6%, la temperatura un 26.2%, el pH 15.9%, el oxígeno disuelto 14.6%, la salinidad 12.82%, y la profundidad de la ciénaga el 26% (Tabla 17). En conjunto, el amoniaco es la variable que aporta más a la variación del FDI con un 34.6%, seguida del oxígeno disuelto con 5.5%, profundidad 2.7% y salinidad con 1.5%, aunque la única variable significativa fue el amoniaco ($p < 0.05$) (Tabla 18). El R^2 del análisis múltiple fue de 0.45551, lo que indica que las variables evaluadas simultáneamente explicarían el 45.5% del FDI presentado por los *F. grandissimus* de Sisal.

Tabla 17: Prueba marginal de la rutina (DISTLM) del FDI contra las variables ambientales. Las variables significativas están resaltadas en negritas.

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
NH_4 ($\mu g/L$)	0.0095	0.0191	0.892	0.0005
NH_3 ($\mu g/L$)	6.5129	19.839	0.001	0.343
NO_2 ($\mu g/L$)	0.1240	0.2498	0.614	0.0065
NO_3 ($\mu g/L$)	3.3521	8.1465	0.008	0.1765
Temperatura ($^{\circ}C$)	4.9861	13.532	0.001	0.2625
pH	3.0231	7.195	0.016	0.1592
OD (mg/L)	2.7737	6.5003	0.01	0.1460
Salinidad	2.4346	5.5888	0.018	0.1282
Profundidad (cm)	4.9397	13.362	0.001	0.2601
Corg/N'	0.8016	1.675	0.197	0.04221

Tabla 18: Prueba secuencial del modelo de regresión múltiple del FDI con las variables ambientales. $R^2=0.45551$. Las variables significativas resaltadas en negritas.

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
<i>NH₄</i> (µg/L)	0.0095	0.0191	0.892	0.0005
NH₃ (µg/L)	6.5699	19.59	0.002	0.346
<i>NO₂</i> (µg/L)	0.0653	0.1905	0.666	0.0034
<i>NO₃</i> (µg/L)	0.0259	0.0737	0.803	0.0013
<i>Temperatura</i> (°C)	0.0192	0.0532	0.833	0.0010
<i>pH</i>	0.0841	0.2274	0.639	0.0044
<i>OD</i> (mg/L)	1.0486	3.0052	0.088	0.0552
<i>Salinidad</i>	0.3015	0.8604	0.347	0.0158
<i>Profundidad</i> (cm)	0.5244	1.5218	0.24	0.0276
<i>Corg/N</i>	0.0004	0.0013	0.978	2.45E-05

Por último, según la prueba individual, las variables ambientales que más influyeron significativamente ($p < 0.05$) en el ISP (índice que incorpora la histopatología total y el FDI) fueron el amoníaco con el 22.4%, los nitritos con el 12.8%, la temperatura con el 16.5% y la profundidad con el 19.9% (Tabla 19). En la prueba secuencial podemos observar que el amoníaco es el que aporta significativamente ($p < 0.05$) la mayor proporción de explicación, con un 22.2% y esta es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Tabla 20). Al final, todas las variables explican el 31.1% ($R^2=0.31164$) del estado de salud evaluado con el ISP.

Tabla 19: Prueba marginal de la rutina (DISTLM) del ISP contra las variables ambientales. $R^2= 0.31164$.

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
<i>NH₄</i> (µg/L)	0.0151	0.0707	0.793	0.00185
NH₃ (µg/L)	1.8356	11.004	0.004	0.22455
<i>NO₂</i> (µg/L)	0.0199	0.0931	0.781	0.00244
NO₃ (µg/L)	1.0482	5.5894	0.029	0.12823
Temperatura (°C)	1.3522	7.5319	0.009	0.16542
<i>pH</i>	0.5964	2.9906	0.086	0.07295
<i>OD</i> (mg/L)	0.6573	3.323	0.093	0.08041
<i>Salinidad</i>	0.3228	1.5625	0.199	0.03949
Profundidad (cm)	1.6311	9.4721	0.005	0.19953
<i>Corg/N</i>	0.2344	1.1218	0.287	0.02867

Tabla 20: Prueba secuencial del modelo de regresión múltiple (DISTLM) del ISP con las variables ambientales. R²=0.31164.

Variable	SS (trace)	Pseudo-F	P	Prop.
NH ₄ (µg/L)	0.0151	0.0707	0.803	0.0018
NH₃ (µg/L)	1.8219	10.637	0.004	0.2228
NO ₂ (µg/L)	0.0116	0.0660	0.819	0.0014
NO ₃ (µg/L)	5.09E-05	0.0002	0.982	6.22E-06
Temperatura (°C)	0.0163	0.0881	0.786	0.0020
pH	0.0342	0.1799	0.692	0.0041
OD (mg/L)	0.0563	0.2901	0.578	0.0068
Salinidad	0.2034	1.0483	0.344	0.0248
Profundidad (cm)	0.3880	2.0688	0.149	0.0474
Corg'/N'	0.0003	0.0019	0.962	4.63E-05

Las tres pruebas marginales muestran que diversas variables influyeron (temperatura, pH, OD, salinidad y profundidad principalmente) en los índices. Cuando se realiza la prueba secuencial, es decir, la prueba de todas las variables contra cada índice, solo el amoníaco fue significativo en las correlaciones; esto podrá ser porque las otras variables medidas son las que influyen sobre las concentraciones de amoníaco y esa relación se ve reflejada en la vinculación individual.

La relación del índice histopatológico total con las variables ambientales señala que el amoníaco y el oxígeno disuelto son determinantes para la integridad histopatológica de las branquias y el hígado. El oxígeno disuelto estuvo presente en concentraciones de 2.2 a 11.3 mg/L, las concentraciones debajo de los 3 mg/L son perjudiciales para los peces, estos bajos niveles probablemente provocaron que el flujo de sangre aumentara para mejorar el intercambio gaseoso (oxigenación), tal vez esta fue una de las causas por las que se observaron alteraciones circulatorias en hígado y branquia de los *Fundulus grandissimus*. Camargo y Alonso (2006) mencionan que la disminución de OD puede provocar más susceptibilidad al amoníaco y ser más tóxico para los peces, por lo que el OD y el NH₃ pudieron tener un efecto sinérgico y aumentar las alteraciones en branquia e hígado de *F. grandissimus*.

En general, el amoníaco mostró tener relación con los tres índices IH_{total} , FDI y ISP, además las concentraciones cuantificadas (19.48 a 56.23 $\mu\text{g/L}$ de NH_3 -N) sobrepasaron los límites establecidos para la protección de la vida marina. Este compuesto nitrogenado ha sido reportado como un tóxico importante en peces ya que al ser un compuesto no ionizado puede difundirse fácilmente por las membranas epiteliales llegando a afectar al sistema nervioso central (Wang *et al.*, 2015). Además, altos niveles de amonio en el ambiente conllevan a un aumento del amonio en la sangre de los peces, y por lo tanto cuando las branquias tratan de realizar el intercambio de Na^+ a NH_4^+ , la difusión de NH_3 hacia el agua es disminuida (Kaushik, 2000).

En la relación con el IH_{total} se sabe que concentraciones altas de NH_3 dañan estructuras branquiales y provocan desprendimiento del epitelio branquial, aneurismas, hipertrofia e hiperplasia (Oliveira y Fernandes, 2014; Salim *et al.*, 2013). Además, el hígado, es el órgano encargado de la desintoxicación, el exceso de amoníaco en la sangre de los peces llega al hígado en donde es sintetizado y eliminado, pero también puede ser acumulado por lo que alteraciones como los depósitos o el exudado podrían estar relacionados con esto. El amoníaco también puede causar disrupción en los vasos sanguíneos y la osmorregulación de estos órganos (Camargo y Alonso, 2006) por lo que las alteraciones circulatorias, como los aneurismas, las hemorragias, hiperemia podrían tener como causal el exceso de amoníaco.

En la relación con el FDI, se cree que el amoníaco causa represión del sistema inmune y esto facilita la presencia de enfermedades parasitarias y bacterianas (Alves y Oliveira, 2014; Camargo y Alonso, 2006), como los trematodos branquiales, los nematodos y cestodos en cavidad celómica observados en *F. grandissimus*. De igual forma la ulceración en piel, la asimetría branquial y la pigmentación branquial pudieron ser provocadas por bacterias (Austin y Newaj-Fyzul, 2017; Mitchell y Rodger, 2011). También la pigmentación branquial y la asimetría branquial podrían haber sido graves aneurismas y fusión de lamelas, que fueron observados a simple vista y estas alteraciones son producidas por las altas concentraciones de NH_3 .

Por último, el ISP conjuntó las alteraciones observadas en histopatología y las enfermedades descritas en el FDI, como estas tuvieron relación con las altas concentraciones de amoníaco, el ISP también mostró una alta relación ($p < 0.05$)

De los demás contaminantes evaluados, los niveles de nitrito se presentaron fuera del criterio para la vida acuática marina (DOF, 1989). De acuerdo con Costa *et al.* (2008) la concentración letal media en *Trachinotus marginatus* es de 37550 a 116680 $\mu\text{g/L}$ de NO_2 -N a diferentes salinidades (5 a 30) y menciona diversos estudios donde se han observado tolerancias de 31000 a 36000 μg de NO_2 en peces de marinos; además, menciona que las concentraciones de cloruro en aguas salinas provocan una reducción en la asimilación de NO_2 a la branquia e intestino de los peces. En el presente estudio, los *F. grandissimus* estuvieron expuestos a concentraciones de 14.83 a 87.9 $\mu\text{g/L}$ de NO_2 -N, lo que implicaría que las concentraciones de nitritos no afectan a los peces, y aunque la tolerancia en cada especie es diferente, estas concentraciones no representaron gravedad en *F. grandissimus*, y esto se confirma en la vinculación con los índices (IHtotal, FDI e ISP), ya que no hubo una correlación individual significativa ($p > 0.05$) en la prueba marginal, ni en conjunto en la prueba secuencial para cualquier índice.

Según el criterio, la mayoría de las concentraciones de nitratos sobrepasaron el límite aceptado para la vida marina (41.5-92.11 $\mu\text{g NO}_3$ -N), en la prueba marginal el NO_3 es relacionado con el FDI y el ISP ($p < 0.05$), por lo que es posible que las concentraciones de NO_3 provocaran algunas afecciones en los peces, Davidson *et al.* (2014) reportó que a concentraciones iguales o menores a 30000 $\mu\text{g NO}_3$ -N los peces *Oncorhynchus mykiss* presentaban erosión en la aleta caudal, la cual fue una de las enfermedades observadas en *F. grandissimus* aunque en baja prevalencia. Al final, la prueba secuencial no muestra que la relación sea significativa, esto se puede explicar por la poca prevalencia de la erosión en aletas y además porque la molécula es poco permeable en branquia y por lo tanto es menos tóxica que otros compuestos nitrogenados, especialmente en aguas saladas (Camargo *et al.*, 2005). De acuerdo a estos resultados es probable que el compuesto nitrogenado al que es

más susceptible el pez *Fundulus grandissimus*, es al amoniaco presente en el ambiente acuático.

10. CONCLUSIONES

- ◆ La calidad del agua, según el criterio para la vida acuática costera CE- CCA-001/89, de las ciénagas Sisal, Progreso y Chicxulub en los meses de abril, mayo, julio y septiembre de 2018 fue de regular a mala.
- ◆ Las enfermedades de la sardinilla gigante de la ciénaga Sisal fueron: a) Ulceraciones en piel, b) Daño en aletas, c) Asimetría branquial, d) Pigmentación branquia, e) Parasitosis por nematodos en cavidad celómica, f) Parasitosis por cestodos en cavidad celómica, g) Parasitosis por trematodos en branquias. Para los organismos de Progreso fueron: a) Asimetría branquial, b) Parasitosis por nematodos en cavidad celómica, c) Parasitosis por cestodos en cavidad celómica,
- ◆ Las alteraciones histopatológicas en las branquias de los peces de Sisal y Progreso, fueron aneurismas, desprendimiento del epitelio respiratorio, necrosis, exudado (mucosidad), hipertrofia e hiperplasia que causaron fusión lamelar.
- ◆ Las alteraciones histopatológicas en hígado de los peces de Sisal y Progreso, fueron hemorragia, hiperemia, aneurismas, alteraciones en la arquitectura-estructura celular, alteraciones en el plasma de los hepatocitos (lipidosis, esteatosis, degeneración hialina), depósitos, necrosis, infiltración y exudado.
- ◆ El IH_{branquia} de los *F. grandissimus* en Sisal fue de 7 a 16, en los organismos de Progreso fue de 10 a 18 y entre estos sitios son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). El $IH_{\text{hígado}}$ para Sisal fue de 3 a 11, el de Progreso fue de 4 a 11 y no mostraron diferencia estadística ($p > 0.05$). El IH_{total} fue de Sisal fue de 13 a 24, el de Progreso de 14 a 29; sin embargo, no tuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$). Por lo que concluimos que el órgano que es más susceptible a las variaciones ambientales es la branquia.
- ◆ La prevalencia de las enfermedades fue 100% para parasitosis por cestodos y nematodos, 76.9% para parasitosis por trematodos, 30.7% para

pigmentación branquial, y 3.8% para ulceración de piel y daño en aletas. Las enfermedades que más afectan al estado de salud, medido por FDI, fueron las parasitosis.

- ◆ La relación con las variables ambientales medidas, con los índices de Sisal (IH_{total} , FDI, ISP), mostraron que el amoniaco es el compuesto nitrogenado más relacionado con los indicadores de estado de salud del pez *Fundulus grandissimus*.
- ◆ La ausencia de sardinilla gigante en Chicxulub pudo deberse a las condiciones ambientales extremas que se registraron durante el estudio: bajos los niveles de oxígeno disuelto (0.45 a 4.3 mg/L), altas temperaturas (hasta 38.3°C) y la hipersalinidad (46.8 a 260 ppm).
- ◆ El estado de salud, medido por ISP, de los *Fundulus grandissimus* de las ciénagas de Sisal y Progreso fue de bueno a aceptable.
- ◆ El estado de las ciénagas de Sisal y Progreso, medido por ISP de *F. grandissimus*, es aceptable.

SUGERENCIAS

- ◆ Se propone analizar el efecto de las condiciones ambientales sobre los parásitos, especialmente los trematodos, ya que las bajas incidencias en peces no necesariamente indican un mejor estado de salud de los peces, sino que el parásito es afectado por las condiciones ambientales (ej. alta salinidad, hipoxia).
- ◆ Se sugiere el estudio de los *F. grandissimus* a otros niveles, como los reproductivos y de crecimiento; además del biomonitoreo constante de salud.
- ◆ Se recomienda realizar estudios sobre la relación que guarda el IHS con el $IH_{hígado}$, y realizar otras investigaciones sobre el metabolismo que permitan conocer si el IHS es determinante en la integridad del hígado, y por lo tanto este modifique los valores de los índices histopatológicos. También sobre la relación de los otros índices morfométricos (K) y organosomáticos (IGS, IHS) con los índices de salud FDI y ISP.

- ◆ Se sugiere la evaluación del ISP en otras especies de peces pertenecientes a los mismos sitios, con el fin de validar el índice obtenido en esta investigación y mejorar la estandarización del mismo.
- ◆ Se recomienda la evaluación de otros xenobióticos en agua y sedimentos de los humedales en estudio, como plaguicidas, metales pesados e hidrocarburos, ya que a causa de las actividades económicas que se realizan en es Yucatán, los peces de *F. grandissimus* pudieran también estar expuestos a ellos, e influir en su condición de salud.

11. BIBLIOGRAFIA

Abarca, F. J. y Herzig, M. 2002. Manual para el manejo y la conservación de los humedales de México. México. SEMARNAT, DUMAC, PRONATURA, NAW.

Adams, S. M., Brown, A. M., y Goede, R.W. 1993. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. Transactions of the American Fisheries Society, 122, 63-73

Aggergaard, S. y Jensen, F. B. 2001. Cardiovascular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout. Journal of Fish Biology, 59,13-27.

Algar, C., y Vallino, J. J. 2014. Predicting microbial nitrate reduction pathways in coastal sediments. Aquatic microbial ecology, 71, 223-238.

Álvarez S. 2005. La descomposición de materia orgánica en humedales: la importancia del componente microbiano. Ecosistemas, 14 (2), 17-29.

Álvarez, C. J. 2016. Hábitos alimentarios de *Fundulus persimilis* Milles 1955 y *Fundulus grandissimus* Hubbs 1936 en la costa norte de Yucatán, México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de México.

Alves, E., y Oliveira, C. A. 2014. Pollution and fish health in tropical ecosystems. EUA. CRC Press, Taylor & Francis Group.

AMVA. 2013. Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. E. U. A. American Veterinary Medical Association.

Andrade, S., Erosa, G., y Nevárez, G. V. 2015. Amonio-oxidasas bacterianas y arqueales involucradas en el ciclo del nitrógeno. *Terra Latinoamericana*, 33 (3), 233-245.

Arceo-Carranza, D., Gamboa, E., Teutli-Hernández, C., Badillo-Alemán, M., y Herrera-Silveira, J. A. 2016. Los peces como indicador de restauración de áreas de manglar en la costa norte de Yucatán. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87, 489-496.

Armienta, M. A., Rodríguez, R., Villaseñor, G., Ceniceros, N., Cruz O., y Aguayo A. 2011. Contaminación del agua subterránea por arsénico en Zimapán, Hidalgo. Necesidad de una solución integral. En Oswald Spring U. (Coord.). *Retos de la investigación del agua en México* (329-334 pp). México. UNAM, Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias.

Arroyo, V. M., Millán, C., Laurel, A., y Aguilar, A. 2012. Proyecto interno HC-1209.1: Acoplamiento de mecanismo de DBO en un modelo de CFD para cuerpo de agua. México. IMTA-SEMARNAT.

Au, D. W. T. 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin* 48, 817-834.

Austin B., y Austin, D.A. 2007. *Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish*. Reino Unido. Springer y Praxis Publishing.

Austin, B., y Newaj-Fyzul, A. 2017. *Diagnosis and control of diseases of fish and shellfish*. Reino Unido. John Wiley & Sons Ltd.

Baker, A., y Spencer, R. G. M. 2004. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Science of the Total Environment*, 333, 217-232.

Barbour, M. T., Gerritsen, J., Zinder, B. D., y Stribling, J. B. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*. Segunda edición. EPA 841-B41-99-002. U. S. Environmental Protection Agency. Office of Water. Washington, D.C.

Barisic, J., Dragun, Z., Ramani, S., Marijic, V. F., Krasnici, N., Coz-Rakovac, R., Kostov, V., Rebok, K., y Jordanova, M. 2015. Evaluation of histopathological alterations in the gills of Vardar chub (*Squalius vardarensis* Karaman) as an indicator of river pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 118, 158-166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.027>

Batllori-Sampedro, E., y Flebes-Patrón, J. L. 2007. Cambio de la salinidad de la laguna costera de Chabihau, Yucatán, México. *Ingeniería hidráulica en México*, XXII(3), 61-69.

Batllori, E. 2007. Salinización de la ciénaga yucateca. *Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán. Números*, 241-242, 18-32.

Behrendt, A. 2014. Competition between dissimilatory nitrate reduction to ammonium and denitrification in marine sediments. Tesis de Doctorado. Universidad de Brmen, Alemania.

Beltrán-Álvarez, R., Ramírez-Lozano, J., y Sánchez-Palacios, J. 2012. Comportamiento de la temperatura y el oxígeno disuelto en la presa Picachos, Sinaloa, México. *Hidrobiológica*, 22 (1), 94-98.

Benjumea, C. A., y Wills, A. 2007. Evaluación de la estratificación térmica y su relación con el oxígeno disuelto del agua en la ciénaga Cachimbero, municipio de Cimitarra, Santander. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 41, 48-65.

Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., y Wahli, T. 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22, 25-34.

Bhuvaneshwari R., Padmanaban K., y Babu Rajendran R. 2015. Histopathological alterations in muscle, liver and gill tissues of zebra fish *Danio Rerio* due to environmentally relevant concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) and heavy metals. *Ins. J. Environ. Res.*, 9(4), 1365-1372.

Billard, R. 1991. Cap IV: Cultivo de peces. En Barnabé, G. *Acuicultura Vol. II*. España. Ediciones Omega.

Blazer, V. S. 2002. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiology and Biochemistry* 26, 85-101.

Bower, C. E., y Bidwell, J.P. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. *J. Fish Res. Board Can.*, 35, 1012-1016.

Bronk D., Roberts Q., Sanderson M., Canuel E., Hatcher P., Mesfioui R., Filippino K., Mulholland M., Love N. 2010. Effluent Organic Nitrogen (EON) Bioavailability and Photochemical and Salinity-mediated release. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 5830–5835.

Bucke, D., Vethaak, D., Lang, T., y Møllergaard, S. 1996. Common diseases and parasites of fish in the North Atlantic: Training guide for identification. ICES, *Techniques in marine environmental sciences*, N° 19. 27 pp.

Cajaraville, M. P., Bebianno, M. J., Porte, C., Sarasquete, C., y Viarengo, A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *The Science of the Total Environment* 247, 295-311.

Camargo, J. A. y Alonso, A. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad de agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas* 16 (2), 98-110.

Camargo, J. A., Alonso, A., y Salamanca, A. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere* 58, 1255-1267.

Camargo, J. A., y Alonso, A. 2006. Review article: Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32, 831-8549.

Camargo, M. M. P. y Martínez, C. B. R. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5(3), 327-336.

Capó, M. 2007. Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. España. Tébar.

Ceballos, G., Díaz, E. Martínez, L., y Espinosa, H. 2016. Los peces dulceacuícolas de México en peligro de extinción. 1er edición. México. FCE, UNAM, IE, CONABIO, CONANP, SECSA.

Cedillo, C., Rosales, L. M., y Constantino, F. 2001. Notas de investigación: Linfocitosis en peces tetra fantasía (*Parambassis baculis*) de la ciudad de México. Vet. Méx., 32 (1), 73-77.

Chew, S. F., y Ip, Y. K. 2014. Excretory nitrogen metabolism and defence against ammonia toxicity in air-breathing fishes. Journal of Fish Biology, 84, 603-638.

Chovanec, A., Hofer, R., y Schiemer, F. 2003. En Markert, B.A., Breure, A.M., y Zechmeister H.G. Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications (639- 679 pp). Países Bajos. ELSEVIER.

Colín-García, N. A., Chiappa-Carrara, X., Campos, J. E., Arena-Ortíz, M. L., y Hurtado, L. A. 2019. Differential gene expression of heat shock protein in response to thermal stress, in two *Fundulus* species endemic to the Gulf of Mexico. Revista Mexicana de Biodiversidad 90: e902663.

Comisión Nacional de la Biodiversidad (CONABIO). 2009. Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª ed. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2016. Atlas del agua en México 2016. México. SEMARNAT, CONAGUA. [Acceso 31 de agosto de 2018] http://201.116.60.25/publicaciones/AAM_2016.pdf

Compton, J. E., Harrison, J. A., Dennis, R. L., Greaver, T. L., Hill, B. H., Jordan, S. J., Walker, H., y Campbell, H. V. 2011. Ecosystem services altered by human changes in the nitrogen cycle: a new perspective for US decision making. Ecology Letters, 14, 804-815.

Costa, L. F., Miranda-Filho, K.C., Severo, M. P., y Sampaio, L. A. 2008. Tolerance of juvenile pompano *Trachinotus marginatus* to acute ammonia and nitrite exposure at different salinity levels. Aquaculture, 285, 270-272.

Costa, P. M., Diniz, M. S., Caeiro, S., Lobo, J., Martins, M., Ferreira, A. M., Caetano, M., Vale, C., DelValls, T. A., y Costa, M. H. 2009. Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to a contaminated estuarine sediment: A weighted indices approach. *Aquatic Toxicology* 92, 202-212.

Cuevas, N., Zorita, I., Costa, P., Quincoces, I., Larreta, J., y Franco, J. 2015. Histopathological indices in sole (*Solea solea*) and hake (*Merluccius merluccius*) for implementation of the European Marine Strategy Framework Directive along the Basque continental shelf (SE Bay of Biscay). *Marine Pollution Bulletin* 94, 185-198.

Davidson, J., Good, C., Welsh, C., y Summerfelt, S. T. 2014. Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 59, 30-40.

De Dios, C. 2014. Ecología trófica de un gremio de aves piscívoras durante la temporada de reproducción en la costa de Yucatán. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de México.

Delgado, C., Pacheco, J., Cabrera, A., Batllori, E., Orellana, R., y Bautista, F. 2010. Quality of groundwater for irrigation in tropical karst environment: The case of Yucatán, México. *Agricultural Water Management*, 97, 1423–1433.

Diario de Yucatán. 2017. Tiradero en el Puerto. Vueltos basureros calles, manglares y playa de Progreso. Diario de Yucatán en línea. [Acceso 24 de septiembre de 2018] <http://yucatan.com.mx/merida/tiraderos-en-el-puerto>

Diario Oficial. 2010. Decreto número 285: donde se establece el área natural protegida denominada Reserva Estatal Ciénagas y manglares de la costa norte de Yucatán. [Acceso 30 de agosto de 2018] http://www.seduma.yucatan.gob.mx/areas-naturales/documentos/decreto_cienagas.pdf

DOF (Diario Oficial de la Federación). 1989. CE- CCA- 001/89. Criterios ecológicos de calidad del agua. 13 de diciembre de 1989.

DOF (Diario Oficial de la Federación). 2010. NOM-059-SEMARNAT-2010. Norma Oficial Mexicana, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora

y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. [Acceso 30 de diciembre de 2010] <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO2454.pdf>

DOGY (Diario oficial del Gobierno del estado de Yucatan). 2017. Programa de manejo del Área natural protegida Reserva Estatal Ciénagas y Manglares de la Costa Norte de Yucatán (PMRECMCNY). Gobierno del estado de Yucatán Año CXX, N° 33,400. [Acceso 30 de ago. de 2018] http://www.seduma.yucatan.gob.mx/areas-naturales/documentos/Pm_Cienagas.pdf

Duft, M., Schulte-Oehlmann, U., Weltje, L., Tillmann, M., y Oehlmann, J. 2003. Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Aquatic Toxicology* 64, 437-449.

Emerson, K., Rusoo, R. C., Lund, R. E. y Thurston, R. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32, 2379-2383.

Escobar-Briones, E., y García-Villalobos, F J. 2009. Distribution of total organic carbon and total nitrogen in deep-sea sediments from southwestern Gulf of Mexico. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 61(1), 73-86.

Fanta, E., Sant'Anna, F., Romão, S., Casagrande, A. C., y Freiburger, S. 2003. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54, 119-130.

FAO. 2006. La ganadería amenaza el medio ambiente. [Acceso 16 de agosto de 2018] <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2006/1000448/index.html>. 4 Mayo 2019.

FAO. 2011. Manual básico de sanidad piscícola. Paraguay. Ministerio de agricultura y ganadería.

Feist, S. W., Stentiford, G.D., Kent, M.L., Ribeiro Santos, A., y Lorange, P. 2015. Histopathological assessment of liver and gonad pathology in continental slope fish from the northeast Atlantic Ocean. *Marine Environmental Research* 106, 42-45.

Fernández, Y., y Sánchez, J. L. 2003. Efecto de una posible interacción sobre el crecimiento de *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813. *Boletín Inst. Esp. Oceanogr.*, 19 (1-4), 247-252.

Flebes-Patrón J L., Novelo, J.,y Batllori, E. 2009. Pruebas de reforestación de mangle en una ciénaga costera semiárida de Yucatán, México. *Maderas y Bosques*, 15 (3), 65-86.

Flores, J., Duran, R., y Ortíz J. 2010. Comunidades terrestres: comunidades vegetales terrestres. En Durán R. y Méndez, M. (Eds.). *Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán* (157-158 pp). México. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.

Fuentes, M. V. 2000. Nitrógeno, fósforo y cociente C/N en los sedimentos superficiales de la laguna Chacopata, Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 48 (1), 261-268.

Fuentes, R. M., Ramos, J. A., Jiménez, M. C., y Esparza, M. 2015. Caracterización de la materia orgánica disuelta en agua subterránea del Valle de Toluca mediante espectrofotometría de fluorescencia 3D. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 31(3),253-264.

Gallardo-Torres, A., Badillo-Alemán, M., Rivera-Felix, V., Rubio-Molina, J., Galindo-Santiago, C., Loera-Pérez, J., García-Galano, T., y Chiappa-Carrara, X. 2014. Catálogo de peces de la costa norte de Yucatán. México. CONCIYTEY-UNAM.

García de Fuentes, A., Xool, M., Euán, J. I., Munguía, A., y Cervera, M. D. 2011. La costa de Yucatán en la perspectiva del desarrollo turístico. *Corredor Biológico Mesoamericano México, Serie Conocimientos Núm. 9*. México. CONABIO.

García-Navarro, J., Bautista-Vargas, M. E., Pérez-Bravo, S. G., Carrillo-Loera, M. A. 2016. Determinación de la materia orgánica en sedimentos de lagunas costeras para la factibilidad del uso de una celda de combustible microbiana para generación de energía sostenible. *Revista de energía química y física*, 3 (7), 15-26.

García, E., 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Serie Libros 6. México. Instituto de Geografía, UNAM.

Genten, F., Terwinghe, E., y Danguy, A. 2009. Atlas of fish histology. EUA. Science Publishers.

Gernhöfer, M., Pawert, M., Schramm, M., Müller, E., y Tribskorn, R. 2001. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 8, 241-260.

Giblin, A. E., Tobias, C. R., Song, B., Weston, N., Banta, G. T., y Rivera, V. H. 2013. The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography*, 26 (3), 124-131.

Goessling, W., y North, T. E. 2011. Chapter 5. Hematopoietic stem cell development: using the zebrafish to identify the signaling networks and physical forces regulating hematopoiesis. *Methods in cell biology* 105, 117-137. DOI [10.1016/B978-0-12-381320-6.00005-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381320-6.00005-9)

González, C. A., y Vallarino, A. 2014. Los bioindicadores ¿una alternativa real para protección del medio ambiente?. En González, C. A., Vallarino, A., Pérez, J. C., y Low, A. M. (eds). *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental* (21-37 pp). México. ECOSUR, INECC.

González, P., y Oyarzún C. 2002. Variabilidad de índices biológicos en *Pinguipes chilensis valenciennes* 1833 (Perciformes, Pinguipedidae): ¿están realmente correlacionados?. *Gayana*, 66(2), 249-253.

Guiñez, M., Valdés, J., y Siffedine, A. 2010. Variabilidad espacial y temporal de la materia orgánica sedimentaria asociada a la Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO),

en un ambiente costero del norte de la corriente de Humboldt, bahía de Mejillones, Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38(2), 242-253.

Hadi, A. A., y Alwan, S. F. 2012. Histopatological changes in gills, liver and kidney of fresh water fish, *Tilapia zilli*, exposed to aluminum. *Int. J. Of Pharm. & Life Sci.*, 3 (11), 2071-2081.

Herranz, M., Bolivar, J. P., Liger, E., Payeros, J. y Pinilla, J. L. 2007. Procedimiento de toma de muestras de sedimentos para la determinación de la radiactividad ambiental. Informes Técnicos 11.2007. España. Consejo de Seguridad Nuclear.

Herrera-Silveira, J. A., Zaldivar-Jimenez, A., Teutli-Hernández C., Pérez-Ceballos, R., Caamal J., y Andueza T. 2012. Proyecto GH009. Rehabilitación de manglares en el estado de Yucatán sometidos a diferentes condiciones hidrológicas y nivel de impacto: el caso de Celestún y Progreso. México. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. SNIB-CONABIO.

Herrera-Silveira, J. A. 2006. Lagunas costeras de Yucatán (SE, México): investigación, diagnóstico y manejo. *Ecotropicos*, 19(2), 94-108.

Huchin, M. J., Del Río, R. E., Ávila, R., Cobos, J., Carrillo, A., y Cu, A. D. 2019. *Tilapia* gris cultivada (*Oreochromis niloticus*) como reservorio potencial de *Nocardia seriolae* bacteria patógena de la piscicultura marina. Memorias: 6º Simposium Internacional RECORECOS. doi [10.26359/recorecos2019](https://doi.org/10.26359/recorecos2019)

Huspeni, T. C., Hechinger, R. F., y Lafferty, K. D. 2005. Trematode parasites as estuarine indicators: Opportunities, applications, and comparisons with conventional community approaches. En Bortone, S. A. (Ed.). *Estuarine indicators* (297- 314 pp). EUA. CRC PRESS, EUA.

ICES. 2004. Biological effects of contaminants: Use of liver pathology of the European flatfish dab (*Limanda limanda* L.) and flounder (*Platichthys flesus* L.) for monitoring. Por Feist, S.W., Lang, T., Stentiford, G.D., y Köhler, A. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, No. 38. 42 pp.

INEGI. 2017. Anuario estadístico y geográfico de Yucatán 2017. México. INEGI.

Ip, Y. K., y Chew, S. F. 2018. Air-breathing and excretory nitrogen metabolism in fishes. *Acta Histochemical*, 120, 680-690.

Ismail, M F., Bishi, R M., El-shebly, A., Abdeen, S., y Elbaghdady, H. 2009. Histological study on the effects of gasoline on the gills of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Egypt J. Exp. Biol. (Zool.)* 5, 255-262.

Jabeen, G., Manzoor, F., Javid, A., Azmat, H., Arshad, M., y Fatima, S. 2018. Evaluation of fish health status and histopathology in gills and liver due to metal contaminated sediments exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100, 492–501.

Jakes-Cota, U., Tripp-Valdez, A., y López-Fuerte, F. O. 2017. Length-weight relationship and relative condition factor of the Stone Scorpionfish *Scorpaena mystes* in the central area of the Gulf of California, Mexico. *Hidrobiológica* 27(1), 127-129.

Javed, M., Ahmad, I., Usmani, N., y Ahmad, M. 2016. Studies in biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere* 151, 210-219.

Jiménez, O., Peña, M., Ramírez, C., Tapia, M., Guzmán, L. E., Montes, R., Catrejon, J., Álvarez, M., y Benítez, A. 2010. Guía para la identificación de parásitos y enfermedades de peces de ornato. México. CESAEM INAPESCA, UANL.

Kar, D. 2016. Epizootic ulcerative fish disease syndrome. Reino Unido. Academic Press-Elsevier.

Kartal, B., Keltjens, J. T., y Jetten, M. S. M. 2011. Metabolism and genomics of anammox bacteria. En Ward, B. B., Arp, D. J., y Klotz, M. G. *Nitrification* (181-200 pp). Washington, DC. ASM Press.

Kaushik, S. J. 2000. Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleosteos y crustáceos. En Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D, y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias*

del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. México. Noviembre 15-18, 1998.

Khoo, K. H., Culberson, C. H., y Bates, R G. 1977. Thermodynamics of the dissociation of ammonium ion in seawater from 5 to 40°C. *Journal of Solution Chemistry*, 6 (4), 281-290.

Kienzl, K., Riss, A., Vogel, W., Hackl, J., y Götz, B. 2003. Bioindicators and biomonitors for policy, legislation and administration. En Markert, B.A., Breure, A.M., y Zechmeister H.G. *Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications* (85-122 pp). Países Bajos. ELSEVIER.

Kraff, B., Strous, M., y Tegetmeyer, H. E. 2011. Microbial nitrate respiration-genes, enzymes and environmental distribution. *Journal of Biotechnology* 155, 104-117.

Kroupova, H., Machova, J., y Svobodova, Z. 2005. Nitrite influence on fish: a review. *Vet. Med.- Czech*, 50 (11), 461-471.

Landgrave, R., y Moreno-Casasola, P. 2012. Evaluación cuantitativa de la pérdida de humedales en México. *Investigación ambiental* 4(1), 19-35.

Lang, T. y Wosniok, W. 2008. The fish disease index: a method to assess wild fish disease data in the context of marine environmental monitoring. ICES CM 2008/D:01 13

Lang, T., Feist, S., Stentiford, G., Bignell, J., Vethaak, A. D., y Wosniok, W. 2017. Diseases of dab (*Limanda limanda*): Analysis and assessment of data on externally visible diseases, macroscopic liver neoplasms and liver histopathology in the North Sea, Baltic Sea and off Iceland. *Marine Environmental Research* 124, 61-69.

Leatherland, J. F., y Woo, P. T. K. 2010. *Fish diseases and disorders, Volume 2: Non-infectious disorders*. Reino Unido. CABI.

Li, X.G., Renegel, Z., Mapfumo, E., y Singh, B., 2007. Increase in pH stimulates mineralization of native organic carbon and nitrogen in naturally salt - affected sandy soils. *Plant Soil*, 290, 269–282.

Lloret, J., Shulman, G., y Love, M. 2014. Condition and health indicators of exploited marine fishes. Reino Unido. John Wiley & Sons, Ltd.

López-Aguiar, L. K. 2019. Cuantificación de nutrientes en agua a través de técnica colorimétrica por microplaca. En Robles-Mendoza, C. (Ed.). Manual para la valoración del estado de salud de peces y el análisis de su habitat. México. Las Prensas de Ciencias, UNAM (En revisión).

López, J. A., Vásquez, V. M., Gómez, L.R., y Priego, A. G. 2010. Humedales. En Florescano, E. y Ortiz, J. (Coord.) Atlas del patrimonio histórico y cultural de Veracruz (227-248 pp). México. Universidad Veracruzana, Gobierno del Estado de Veracruz: CONABIO.

Lujic, J., Marinovic, Z., y Miljanovic, B. 2013. Histological analysis of fish gills as an indicator of water pollution in the Tamis River. Acta Agriculturae Serbica, XVIII(36),133-141.

Maftuch, M., Sanoesi, E., Farichin, I., Saputra, B. A., Ramdhani, L., Hidayati, S., Fitriyah, N., y Prihanto, A. 2018. Histopathology of gill, muscle, intestine, kidney, and liver on *Myxobolus sp.*-infected Koi carp (*Cyprinus carpio*). J Parasit Dis, 42, 137-143.

Maharajan, A., Rufus Kitto, M., Paruruckumani, P. S., y Ganapiriya, V. 2016. Histopathology biomarker responses in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Blonch) exposed to copper. The Journal of Basic & Applied Zoology, 77, 21-30.

Markert, B. A., Breure, A. M., y Zechmeister H. G. 2003. Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications. Países Bajos. ELSEVIER.

Markert, B.A., Breure, A.M., y Zechmeister H.G. 2003. Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications. Países Bajos. ELSEVIER.

MARPOL. 1978. [Acceso 3 de mayo de 2019] <https://www.cetmar.org/documentacion/MARPOL.pdf>

Martín, C. R. 2013. Ciclo reproductivo de *Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810) en el suroeste del Golfo de México. Tesis de Maestría en Ecología y Pesquerías. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías, México.

Martínez, L.R. 1998. Ecología de los sistemas acuícolas. Bases para el desarrollo de la acuicultura. México. AGT.

Mathuriau, C., Mercado, N., Lyons, J., y Martínez, L. M. 2011. Los peces y macroinvertebrados como bioindicadores para evaluar la calidad de los ecosistemas acuáticos en México: estado actual y perspectivas. En Oswald Spring U. (Coord.). Retos de la investigación del agua en México (363- 374pp). México. UNAM, Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias.

Méndez, O. 2013. Diversity of helminths of freshwater fish in the oases of Baja California Sur, México. *The Biologist* (Lima),11(2), 287-305.

Meyers, P. A. 1994. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chemical Geology*, 114, 289-302.

Mitchell, S. O. y Rodger H. D. 2011. A review of infectious gill disease in marine salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*. Blackwell Publishing. doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01251.x

Moguel, Y. 2014. Contaminación afecta acuífero de Yucatán. *El Financiero* en línea. [Acceso 24 de Septiembre de 2018] <http://www.elfinanciero.com.mx/sociedad/contaminacion-amenaza-acuifero-de-yucatan>

Mokhtar, D. M. 2017 Fish Histology from cells to organs. EUA. AAP, CRC Press.

Montalvo-Estévez, J. F., García-Ramil, I. Á., Perigó-Arnaud, E., Albuquerque-Brook, O. C., y García-García, N. 2013. Calidad química del agua y sedimento en las bahías del archipiélago Sabana-Camagüey. *Revista Cubana de Química*, XXV(2), 123-133.

Mora-Domínguez, N., Durruty-Lagunares, C., Valenzuela-Jiménez, M., Gallardo-Torres, A., Osorio-Sarabia, D., Arceo-Carranza, D., Chiappa-Carrara, X., y Badillo-Alemán, M. 2018. Identificación y cuantificación de parásitos helmintos juveniles y adultos de la sarnillina gigante *Fundulus grandssimus* Hubss, 1936 de la

Costa Norte de Yucatán. XVI Congreso Nacional y VII Simposio Latinoamericano de Ictiología. México. SIMAC.

Mora, M A., Ríos, L., Ríos, L., y Almario, J. L. 2017. Impacto de la actividad ganadera sobre el suelo de Colombia. [Acceso 03 de mayo de 2019] <https://goo.gl/DjmG6m> <https://doi.org/10.25054/issn.2216-1325>.

Mosquera, Z., y Peña, E.J. 2012. Evaluación de la biodiversidad de las comunidades hidrobiológicas y su uso como bioindicadores en ecosistemas acuáticos. En Peña, E.J., Cantera, J.R., y Muñoz, E. (Comp.). Evaluación de la contaminación en ecosistemas acuáticos: estudio de caso en la laguna de Sonso, cuenca alta del río Cauca (198-220 pp). Colombia. Programa Editorial Universidad del Valle.

Mostofa K. M. G., Yoshioka, T., Mottaleb, A., y Vione D. (Eds.). 2013. Photobiogeochemistry of organic matter: principles and practices in waters environments. Alemania. Environmental Science and Engineering, Springer.

Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., y Blazer, V. 2007. Fish histology and Histopathology. USFWS-NCTC.

Naeemi, A., Jamili, S., Shabanipour, N., Mashinchian, A., y Shariati, S. F. 2013. Histopathological changes of gill, liver and kidney in *Caspian kutum* exposed to Linear Alkylbenzene Sulfonate. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12 (4), 887-897.

Nero, V., Farwell, A., Lee, L. E. J., Van Meer, T., MacKinnon, M. D., y Dixon, D.G. 2006a. The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: Gill and liver histopathology. Ecotoxicology and Environmental Safety 65, 252-264.

Nero, V., Farwell, A., Lister, A., Van Der Kraak, G., Lee, L. E. J., Van Meer, T., MacKinnon, M. D., y Dixon, D.G. 2006b. Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. Ecotoxicology and Environmental Safety 63, 365-377.

Niggemann, J., Ferdelman, T. G., Lomstein, B. A., Kallmeyer, J., y Schubert, C. J. 2007. How depositional conditions control input, composition, and degradation of organic matter in sediments from the Chilean coastal upwelling region. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71 (6), 1513-1527.

Novelo, I., Botello, A., Guzmán-García, X., y González-Márquez, H. 2014. Evaluación del biomarcador histológico en el ostión (*Crassostrea virginica*, Gmelin, 1791) de Tampamachoco, Veracruz, México. En Botello, A.V., Rendón, J., Benitez, J. A. y Gold-Bouchot. G. (eds.). Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias (55-70 pp). México. UAC, UNAM-ICMYL, CINVESTAV-Unidad Mérida.

Oliveira, C. A., y Fernandes, M. 2014. Histopathological markers in fish health assessment. Alves, E., y Oliveira, C. A. 2014. Pollution and fish health in tropical ecosystems (206-242 pp). EUA. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Olivero, J., Arroyo, B., y Manjarrez, G. 2013. Parasites and hepatic histopathological lesions in lisa (*Mugil incilis*) from Totumo mash, North of Colombia. *Rev. MVZ Córdoba*, 18 (1), 3288-3294.

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). 2001. Aggregated environmental indices: review of aggregation methodologies in use. ENV/EPOC/SE(2001)2/FINAL.

Ortega-Olivares, M. P., García-Prieto, L., y García-Varela, M. 2014. Gryporhynchidae (Cestoda: Cyclophyllidae) in Mexico: species list, hosts, distribution and new records. *Zootaxa*, 3795 (2), 1001-125.

Ortega-Olivares, M. P., Rosas-Valdez, R., y García-Varela, M. 2013. First description of adults of the type species of the genus *Glossocercus* Chandler, 1935 (Cestoda: Gryporhynchidae). *Folia parasitologica*, 60 (1), 35-42.

Ortiz-Gallarza, S. M., y Ortega-Rubio, A. 2014. Los organismos bentónicos como bioindicadores de la salud ecológica de los océanos. En González, C. A., Vallarino, A., Pérez, J. C., y Low, A. M. (eds). *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental* (171-192 pp). México. ECOSUR, INECC.

Palacios, S., Sandoval, N., Bueno, C., y Manchego, A. 2015. Estudio microbiológico e histopatológico en peces treta neón (*Paracheirodon innesi*) de la Amazonia Peruana. Rv Inv Perú, 26 (3), 469-483.

Pardiñas-Ramirez, F., y Robles-Mendoza, C. 2019 Componentes tóxicos de los residuos sólidos urbanos y vulnerabilidad de los ecosistemas costeros de la península de Yucatán. Memorias: 6º Simposium Internacional RECORECOS.

Peña, A., y Paco, O. 2003. El concepto general de enfermedad. Revisión, crítica y propuesta. Tercera parte: un modelo teórico de enfermedad. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 64(1), 55-62.

Peña, E. J., Cantera, J. R., y Muñoz, E. 2012. Evaluación de la contaminación en ecosistemas acuáticos, un estudio de caso en la Laguna de Sonso, cuenca alta del Río Cauca. Colombia. Ciencias naturales y exactas. Primera edición. Universidad del Valle.

Pereira, S., Pinto, A L., Cortes, R., Fortainhas-Fernandes, A., Coimbra, A. M., y Monteiro, S. M. 2013. Gill histopathological and oxidative stress evaluation in native fish captured in Portuguese northwestern rivers. Ecotoxicology and Environmental Safety, 90, 157-166.

Pérez, R., Pineda, R. L., y Medina, M. N. 2007. Integridad biótica de ambientes acuáticos. En Sanches, O., Herzig, M., Peters, E., Márquez, R. y Zambrano, L. (eds). Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México (71-111 pp). México. INE-SEMARNAT.

Pilla, S., Konathala, R., Ratnakala, M., y Sree, R. K. 2014. Histology and histopathology of the *Lutjanus johni* (Bloch, 1792) and *Lutjanus russelli* (Bleeker, 1849) from Visakhapatnam Coast, India. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 9 (3), 36-40.

Plummer, P., Tobias, C. y Cady, D. 2015. Nitrogen reduction pathways in estuarine sediments: Influences of organic carbon and sulfide. J. Geophys. Res. Biogeosci., 120, 1958–1972.

Primo, O. M. 2008. Mejoras en el tratamiento de lixiviados de vertedero en RSU mediante procesos de oxidación avanzada. Tesis de doctorado. Universidad de Cantabria, España.

RAE (Real academia española). 2019a. Salud. [Acceso 18 de diciembre 2019]
<https://dle.rae.es/salud>

RAE (Real academia española). 2019b. Enfermedad. [Acceso 15 de julio 2019]
<https://dle.rae.es/srv/fetch?id=FHA3D3L>

Ramsar y CONANP (Comisión nacional de áreas naturales protegidas). 2014. Política Nacional de Humedales. [Acceso 16 de mayo de 2018]
http://ramsar.conanp.gob.mx/docs/PNH_Consulta.pdf

Randall, D. J., y Tsui, T. K. N. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 45, 17-23.

Rautenberg, G. E., Amé, M. V., Monferrán, M. V., Bonansea, R. I., y Hued, A. C. 2015. A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquía River. *Ecological Indicators* 48, 706-720.

Ray, S., Mukherjee, J., y Mandal, S. 2015. Modelling nitrogen and carbon cycles in Hooghly estuary along with adjacent mangrove ecosystem. *Developments in Environmental Modelling*, 27. 289-320.

Reddy, K. R., DeLaune, R., y Craft, C. B. 2010. Nutrients in wetlands: Implications to water quality under changing climatic conditions. Final Report submitted to U. S. Environmental Protection Agency. EPA Contract N°. EP-C-09-001.

Reichenbach-Klinke, H.H. 1975. Claves para el diagnóstico de las enfermedades de los peces. España. Editorial Acribia.

Rich, J. J., Arevalo, P., Chang, B. X., Devol, A. H., y Ward, B. B. 2018. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification in Peru margin sediments. *Journal of Marine Systems*. Elsevier en prensa.

Ringuet, S., Sassano, L., y Zackary I. J. 2011. A suite of microplate reader-based colorimetric methods to quantify ammonium, nitrate, orthophosphate and silicate concentrations for aquatic nutrient monitoring. *J. Environ. Monit.*, 13, 370–376.

Roberts, R. 2012. The aquatic environment. En Roberts, R. (Ed.). *Fish pathology* (1-16 pp). Reino Unido. Blackwell Publishing Ltd.

Roberts, R., y Rodger, H. 2012. The pathophysiology of teleosts. En Roberts, R. (Ed.). *Fish pathology* (62-143 pp). Reino Unido. Blackwell Publishing Ltd.

Robles, P. J. 2019. Uso de hábitat de una colonia de aves acuáticas (aves: Ardeidae, Threskiornithidae y Phalacrocoracidae) en la Reserva Estatal de Ciénagas y Manglares de la Costa Norte de Yucatán, México. Tesis de maestría Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

Rodger, H. D. 2010. *Fish disease manual*. Irlanda. Marine Institute. European Regional Development Fund.

Rodríguez, M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. México. AGT.

Rodríguez, M., Rodríguez, D., Monroy, Y., y Sotres, J. 2001. Manual de enfermedades de peces. Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. UAM- CONAPESCA.

Rolls, G. 2018. An Introduction to Decalcification. [Acceso 28 de sept. de 18] <https://www.leicabiosystems.com/pathologyleaders/an-introduction-to-decalcification/>

Rosales, M O. 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenosa *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis en Ciencias Marinas. IPN, CICIMAR, México.

Rueda-Jasso, R. A., De los Santos-Bailón, A., Fuentes-Farías, A. L. y Gutiérrez-Ospina, G. 2014. Toxicidad letal y subletal del fosfato de sodio dibásico y efectos en branquias y conducta de las crías del pez goodeido *Skiffia multipunctata*. *Hidrobiológica*, 24 (3), 207-214.

Ruíz-Picos R., y López-López E. 2012. Gill and liver histopathology in *Goodea atripinnis* Jordan, related to oxidative stress in Yuriria Lake, México. *Int. J. Morphol.*, 30 (3), 1139-1149.

Ruíz-Picos, R. A., Sedeño-Díaz, J. E., y López-López, E. 2015. Chapter 38: Histopathological indicators in fish for assessing environmental stress. En Armon, R. H. y Hännien, O. (Eds.). *Environmental Indicators* (663-675 pp). Países bajos. Springer.

Rütting, T., Boeckx, P., Müller, C., y Klemedtsson, L. 2011. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle. *Biogeoscience*, 8, 1779-1791.

Salazar-Lugo, R., Mata, C., Oliveros, A., Rojas, A M., Lemus, M., y Rojas-Villaruel, R. 2011. Histopathological changes in gill, liver and kidney of neotropical fish *Colossoma macropomum* exposed to paraquat at different temperatures. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31, 490-495.

Salim, A., Endo, M., Maita, M., Goç Alves, A., Futami, K., y Katagiri, T. 2013. A toxicity bioassay study concerning the effect of un-ionized ammonia on the mucus cells response originating from the gills of zebrafish *Danio rerio*. *Fish Sci.*, 79, 129-142.

Santos, D. M., Melo, M. R., Mendes, D. C., Rocha, I. K., Silva, J. P., Cantanhêde, S. M., y Meletti, P. C. 2014. Histological changes in gills of two fish species as indicators of water quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11,12927-12937.

Santoyo, A.B. 2017. Esbozo monográfico de Sisal, Yucatán. Reporte técnico. LANRESC, México.

Schmitter-Soto, J. J. 2014. Los índices bióticos de integridad en el monitoreo ambiental. En González, C. A., Vallarino, A., Pérez, J. C., y Low, A. M. (Eds). *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental* (65-82 pp). México. ECOSUR, INECC.

Schreck, B., Moyle, P.B. 1990. Methods for fish biology. EUA. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

SCT (Secretaria de Comunicación y Transporte). 2010. Programa maestro de Desarrollo de Puerto Progreso y Puertos Pesqueros de Yucatán (PMDPPyPPY). 2009-2014. México. [Acceso 24 de mayo de 2018] <http://www.puertosyucatan.com/qs/files/pmdp-2009-2014.pdf>

SEMADET. 2017. Programa de Conservación y Manejo (PCyM) del Estero La Manzanilla Humedal de Importancia Internacional. [Acceso 28 de agosto de 2018] https://semadet.jalisco.gob.mx/sites/semadet.jalisco.gob.mx/files/programa_de_conservacion_y_manejo_3.pdf

SEMARNAP. 2000. Estado de salud de la acuicultura. México. SEMARNAP-INAPESCA. [Acceso 21 de julio 2019] <https://www.inapesca.gob.mx/portal/Publicaciones/Libros/2000-Semarnap-INP-Estado-de-salud-de-la-acuicultura.pdf?download>

SEMARNAT. 2016. Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de estadísticas ambientales. Indicadores clave, de desempeño ambiental y de crecimiento verde. Edición 2015. México. SEMARNAT.

SEMARNAT. 2019. Indicadores básicos del desempeño ambiental de México. [Acceso 7 de junio 2019] https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/indicadores_2011/conjuntob/00_conjunto/marco_conceptual.html

Silva, A. M., y Acuña-González J. 2006. Caracterización físico-química de dos estuarios en la bahía de Golfito, Golfo Dulce, Pacífico de Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 54 (Supl. 1), 241-256.

Silva, N. 2006. Oxígeno disuelto, pH y nutrientes en canales y fiordos australes. En Silva, N., y Palma, S. (eds.). Avances en el conocimiento oceanográfico de las aguas interiores chilenas, Puerti Montt a cabo de Hornos (37-43 pp). Chile. Comité Oceanográfico Nacional, Pontificia Universidad Católica de Valparaiso.

Silva, N., y Ortíz, P. 2002. C y N, su distribución y estequiometría en sedimentos superficiales de la región sur de la zona de fiordos y canales australes de Chile, 52°-56° S (crucero CIMAR-fiordo 3). *Ciencia y tecnología*, 25 (1), 89-108.

Simon, J., y Klotz, M. G. 2013. Diversity and evolution of bioenergetic systems involved in microbial nitrogen compound transformations. *Biochimica et Biophysica Acta* 1827, 114-135.

Stamm, G. N. 1979. *Manual de veterinaria para ganaderos*. México. Editorial Concepto.

Stein, L., y Klotz, M. 2016. The nitrogen cycle. *Current Biology*, 26, 94-98.

Stentiford, G. D., Bignell, J. P., Lyons, B. P., Thain, E., y Feist, S. W. 2010. Effect of age on liver pathology and other diseases in flatfish: implications for assessment of marine ecological health status. *Marine Ecology Progress Series* 411, 215-230.

Stentiford, G. D., Bignell, J. P., Lyons, B. P., y Feist, S. W. 2009. Site-specific disease profiles in fish and their use in environmental monitoring. *Marine Ecology Progress Series* 381, 1-15.

Teutli, H. C. 2004. Estimación del éxito de la restauración hidrológica de zonas de manglar en el norte de Yucatán, México. Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. Universidad Autónoma de Puebla.

Torres-Martínez, A., Sánchez, A. J., Álvarez-Pliego, N., Hernández-Franyutti, A.A., López-Hernández, J. C., y Bautista-Regil, J. 2017. Gonadal histopathology of fish from La Pólvora urban lagoon in the Grijalva basin, México. *Rev Int. Contam. Ambie.*, 33(4), 713-717.

Torres, G. A., Iregui, C. A., Peña, E.J. 2012. Los biomarcadores celulares como herramienta en la evaluación de contaminación ambiental en medios acuáticos. En Peña, E. J., Cantera, J. R., y Muñoz, E. (Comp.). *Evaluación de la contaminación en ecosistemas acuáticos: estudio de caso en la laguna de Sonso, cuenca alta del río Cauca* (237-261 pp). Colombia. Programa Editorial Universidad del Valle.

Úrrea, U., y Alcalá, G. 2017. Resiliencia, crecimiento demográfico y desechos en Sisal: una ecuación sin resolver. En Garza, J. R., y Ize, A. R. (Eds). Caracterización Multidisciplinaria de la Zona Costera de Sisal, Yucatán (152-164 pp). México. LANRESC.

Valdez, J. E. 1994. Variaciones diarias de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y clorofila a, en una laguna hipersalina del Golfo de California. Ciencias Marinas, 20 (2), 123-137.

Valencia-Santan, F J., y Valencia-Santana J G. 2015. Relación longitud-peso y factor de condición de *Echinometra vanbrunti* (A. Agassiz 1863) en Acapulco, Guerrero, México. Revista de Análisis Cuantitativo y Estadístico, 2 (5), 402-407.

Van der Oost, R., Beyer, J., y Vermeulen, N. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology, 13, 57-149.

Van Dyk, J. C., Pieterse, G M., y van Vuren, J. H. J. 2007. Review: Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. Ecotoxicology and Environmental Safety 66, 432-440.

Varadarajan, R. 2010. Biochemical effects of different phenolic compounds on *Oreochromis mossambicus* (Peters). Tesis de doctorado. Cchin University of Scine and Technology, India. [Acceso 26 de septiembre de 2018] <https://dyuthi.cusat.ac.in/xmlui/bitstream/handle/purl/2371/Dyuthi-T0643.pdf?sequence=1>

Vasanthi, L. A., Revanthi, P., Mini, J., y Munuswamy, N. 2013. Integrated use of histological and ultrastructural biomarkers in *Mugil cephalus* for assessing heavy metal pollution in Ennore estuary, Chennai. Chemosphere 91, 1156-1164.

Vega, M. E., y Hernández, M. 2010. Peces de sistemas lagunares y ciénagas. En Durán R. y M. Méndez (Eds). Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán (157-158 pp). México. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.

Vethaak, A. D., Bucke, D., Lang T., Wester, P. W., Jol, J., y Carr, M. 1992. Fish disease monitoring along a pollution transect: a case study using dab *Limanda limanda* in the German Bight. Marine Ecology Progress Series 91, 173-192.

Vidal, L., Vallarino, A., Benítez, I., y Correa, J. 2015. Implementación del plan estratégico Ramsar en humedales costeros de la Península de Yucatán: normativas y regulación. Lat. Am. J. Aquat. Res., 43(5), 873-887.

Vidal, V. M., Aguirre, M. L., Scholz, T., González, D. y Mendoza, E. F. 2002. Atlas de los helmintos parásitos de cíclidos de México. México. IPN.

Villasuso, M. J., Sánchez y Pinto, I. A., Canul, C., Casares, R., Baldazo, G., Souza, J., Poot, P., y Pech, C. 2011. Geohidrología y modelo conceptual del acuífero karstico costero del norte del estado de Yucatán, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 13, 243-260.

Wang, W., Wang, H., Yu, C., y Jiang, Z. 2015. Acute toxicity of ammonia and nitrite to different ages of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) larvae. Chemical Speciation & Bioavailability, 27 (4), 147-155.

Ward, C. H. 2017. Habitats and biota of the Gulf of Mexico: Before the deepwater horizon oil spill. Volume 2: Fish resources, fisheries, sea turtles, avian resources, marine mammals, diseases and mortalities. EUA. Springer Open.

Whitfield, B. 2010. The effects of salinity on nitrogen cycling in wetland soils and sediments of the Breton Sound estuary, LA. Tesis de maestría. Louisiana State University, EUA.

Whitfield, M. 1974. The hydrolysis of ammonium ions in sea water. A theoretical study. J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 54, 565-580.

Wolf, J. C., y Wheeler, J. R. 2018. A critical review of histopathological findings associated with endocrine and non- endocrine hepatic toxicity in fish models. Aquatic Toxicology 197, 60-78.

Xing, H., Li, S., Wang, Z., Xu, S., y Wang, X. 2012. Oxidative stress response and histopathological changes due to atrazine and chlorpyrifos exposure in common carp. Pesticide Biochemistry and Physiology 103, 74-80.

Yön, N. D., y Akbulut, C. 2014. Histological changes in zebrafish (*Danio rerio*) ovaries following administration of bisphenol A. Pakistan J. Zool., 46 (4), 1153-1159.

Yu, J., Zhan, C., Li, Y., Zhou, D., Fu, Y., Chu, X., Xing, Q., Han, G., Wang, G., Guan, B., y Wang Q. 2016. Distribution of carbon, nitrogen and phosphorus in coastal wetland soil related land use in the Modern Yellow River Delta. Scientific reports, 6, 37940.

Zorita, I., y Cuevas, N, 2014. Protocol for fish disease assessment in marine environmental monitoring using common sole (*Solea solea*, Linnaeus 1758) as sentinel organism: identification of externally visible diseases and liver histopathology. Revista de Investigación Marina, AZTI-Tecnalia, 21(1), 1-18.

Zuñiga, S. 2015. Preparación de tejidos y estandarización de análisis. En Venegas, C., Zuñiga, S. Rosas, I., Hernández, M., Ponce de León, C., y Cram, S. (Eds.). Procedimientos para la evaluación bioquímica del efecto tóxico de contaminantes (160 pp). México. UNAM- Facultad de Ciencias.

12. ANEXOS

Anexo I: Preparación de soluciones

Solución fijadora Davidson para peces

Fijador utilizado en material vertebrado e invertebrado, recomendado para peces. Debido a que contiene formol y etanol la fijación es profunda y rápida, además su contenido de ácido acético ayuda a la descalcificación. Los tejidos deben permanecer en la solución de 12 horas a 48 horas máximo y después transferirse a alcohol 70%, para evitar que se endurezcan demasiado (Mumford *et al*, 2007).

Etanol 95% (CH ₃ CH ₂ OH)	300 ml
Ácido acético glacial (C ₂ H ₄ O ₂ / CH ₃ COOH)	100 ml
Formol 37% (HCHO)	200 ml
Agua desionizada	300 ml

Disolver los reactivos en el orden mostrado. Almacenar en botella de vidrio o plástico a temperatura ambiente.

Evitar el contacto con la piel y ojos. En caso de accidente lavar con abundante agua.

Solución fisiológica para peces

Solución salina con iones y cloruro de sodio a concentración aproximadamente isosmótica al medio interno de peces, es empleada en la disección (Zuñiga, 2015).

Cloruro de sodio (NaCl)	11.688 g
Cloruro de magnesio (MgCl ₂)	0.3727 g
Cloruro de potasio (KCl)	0.5549 g

Cloruro de calcio (CaCl ₂)	0.4760 g
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	0.3586 g
Agua desionizada	aforo a 1 L

NaOH 1M o HCl 1M para ajuste de pH (gotas)

En 800 ml de agua desionizada disolver en orden los primeros 5 reactivos, ajustar pH a 7.4 y aforar a 1L. Almacenar en botellas de vidrio o plástico y refrigerar de 5 a 8°C

Solución descalcificante EDTA 14%

Es una solución quelante, que secuestra iones de calcio. Se usa en solución acuosa o tamponada de 10-14%. La descalcificación con EDTA 10% es lenta y causa poco daño al tejido. Para acelerar el proceso, la agitación y el calentamiento son recomendables (Varadarajan, 2010, Rolls, 2018).

Sal disódica EDTA (C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ *2H ₂ O)	100 g
Agua destilada	aforo a 1L
Hidróxido de sodio (NaOH)	Ajuste a pH 7

En 800 ml de agua destilada disolver el EDTA, medir pH y agregar NaOH poco a poco hasta que llegue pH 7, la solución comenzara a cambiar de color hasta volverse transparente cuando se acerque al pH indicado, aforar a 1L y verificar pH. Almacenar a temperatura ambiente en frasco de vidrio o plástico.

ANEXO II: Hoja de datos para examen de peces.

Localidad:		Fecha:		Nombre del observador:		
Especie:		Clave:		Sexo: (M) (H)		
Morfometria	Peso total (g):	Longitud total (cm):		Peso hígado (g):	Peso gónada (g):	
Examen externo	Piel	Ulceras: 1) curada 2) en proceso 3) abierta		Descamación: %:		
		Hemorragias: %:		Nódulos: Histología: (Si) (No)		
		Pigmentación: %:		Necrosis: %		
		Despigmentación: %:		Parásitos: Tipo: #:		
	Aletas a)anal b)caudal c)dorsal d)pectoral	Atrofia:		Necrosis:		
		Deshilachamiento: %		Parásitos: Tipo: #:		
		Erosión: %				
	Ojos 1) un ojo 2) dos ojos	Exoftalmia:		Perdidad del globo ocular:		
		Hemorragia:		Parásitos: Tipo: #:		
		Opacidad:				
Boca	Defome:	Necrosis:		Parásitos: Tipo: #:		
	Hemorragia: %	%				
Examen interno	Branquias	Asimetría: %		Necrosis:		
		Mucosidad:				
		Pigmentación: Color: %:		Parásitos: Tipo: #:		
	Cavidad celomica a)hígado b) intestino c)corazón d)mesenterio	Inflamación:		Nodulos: Histología: (Si) (No)		
		Hemorragia:		Parásitos: Parte asociada: Tipo: #:		
		Abcesos:				
	Color del hígado:					
Fotografías Claves:						
Observaciones						

ANEXO III: Tren de deshidratación para inclusión y tren de tinción.

Figura 48: Tren de deshidratación para procesamiento de tejidos a incluir en parafina.

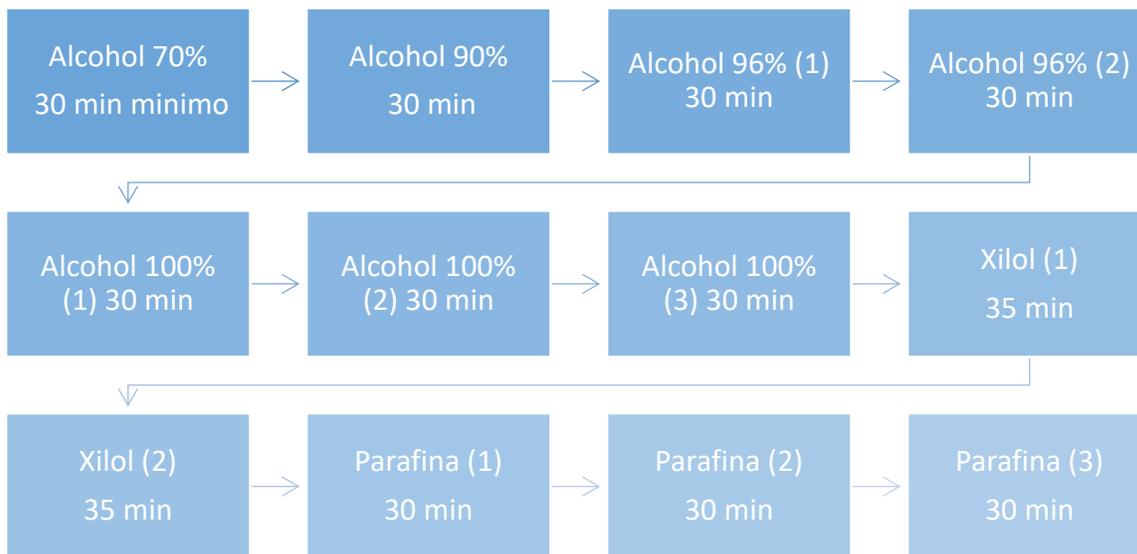
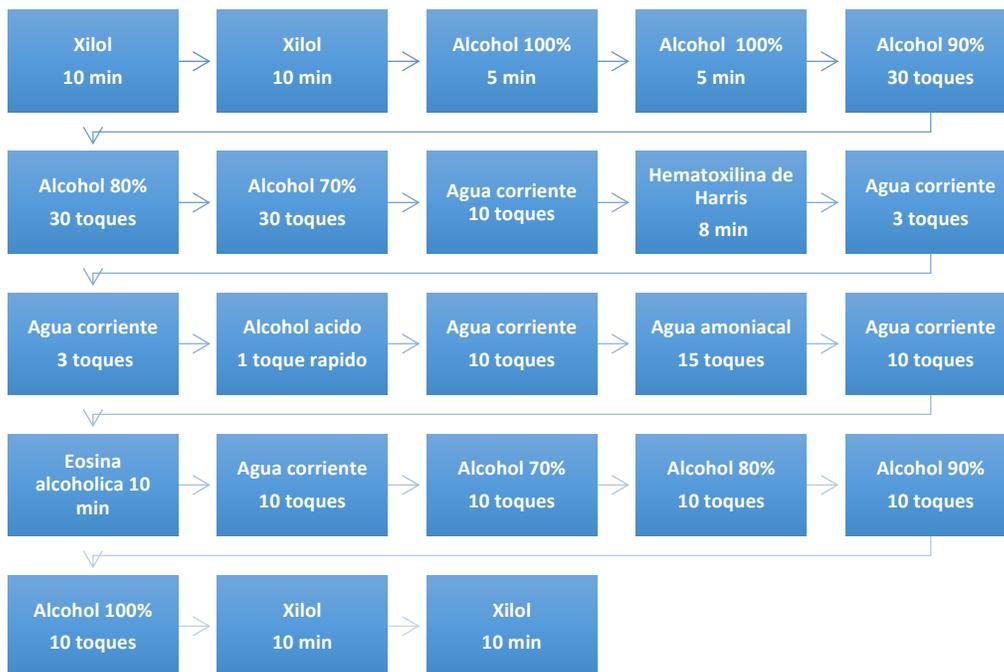


Figura 49: Tren de tinción por el método Hematoxilina de Harris- Eosina amarillenta.



ANEXO IV: Tipos de reacción patrón y sus alteraciones según Bernet (1999).

Reacción patrón	Alteración	Descripción
<i>rp1: Disturbios circulatorios</i>	Hemorragia	Pérdida de sangre de los vasos sanguíneos
	Hiperemia	Congestión de sangre en un órgano causado por venas o bien por procesos arteriales
	Aneurisma	Dilataciones de sangre arterial
	Edema	Fluido tisular estancado que se ha filtrado de los capilares al tejido.
<i>rp2: Cambios regresivos</i>	Alteraciones arquitectónicas y estructurales	Cambios en la estructura del tejido así como en la forma y arreglo de las células
	Alteraciones de plasma	Cambios en el plasma celular causado por gotas hialinas (degeneración granular), gotas coloidales (degeneración coloidal), vacuolización de grasa o gotas de glucógeno hidrófobo (degeneración de glucógeno), degeneración calcárea y engrosamiento de finas fibras de tejido conectivo (degeneración hialina)
	Depósitos	Acumulación intercelular de sustancias causado principalmente por procesos degenerativos
	Alteraciones nucleares	Cambios en la forma y estructura nuclear en la cromatina (ej. cariopsicosis y cariorrexis)
	Atrofia	Reducción en número y volumen de células y/o en la cantidad de sustancias intercelulares
	Necrosis	Estado morfológico de una célula o un tejido que aparece después de una pérdida irrevocable de la función celular
<i>rp3: Cambios progresivos</i>	Hipertrofia	Aumento del volumen celular o tejido sin incrementar el número de células
	Hiperplasia	Aumento de tamaño del tejido u órgano debido a que sus células han aumentado en número
<i>rp4: Inflamación</i>	Exudado	Fluido con una alta concentración de proteína y gran cantidad de restos celulares que se exudan de la sangre y los vasos linfáticos
	Activación del sistema reticuloendotelial (SRE)	Hipertrofia del SRE que consiste en células endoteliales y macrófagos que recubren pequeños vasos sanguíneos e infiltran el tejido circundante
	Infiltración	Leucocitos que penetran en las paredes de los vasos sanguíneos e infiltran el tejido circundante.
<i>rp5: Tumor (neoplasma)</i>	Benigno	Células diferenciadas que reemplazan o desplazan el tejido original, estas células tumorales se parecen a las células del tejido normal
	Maligno	Células mal diferenciadas que se multiplican rápidamente y que invaden y destruyen los tejidos residentes, se puede observar metástasis

ANEXO V: Factor de importancia (w) para cada alteración observada en branquia e hígado

Reacción patrón	Unidad funcional del tejido	Alteración	Factor de importancia (W)
Branquias			
<i>rp1: Disturbios circulatorios</i>		Hemorragia/Hiperemia/Aneurisma	1
<i>rp2: Cambios regresivos</i>	Epitelio/Tejido de soporte	Desprendimiento epitelial	1
		Necrosis	3
<i>rp3: Cambios progresivos</i>	Epitelio/Tejido de soporte	Hipertrofia	1
		Hiperplasia	2
<i>rp4: In inflamación</i>		Exudado (Mucosidad)	1
Hígado			
<i>rp1: Disturbios circulatorios</i>		Hemorragia/Hiperemia/Aneurisma	1
<i>rp2: Cambios regresivos</i>	Tejido hepático/ Tejido intersticial/ Conducto biliar	Alteraciones arquitectónicas y estructurales	1
		Alteraciones de plasma	1
		Depósitos	1
		Necrosis	3
<i>rp3: Cambios progresivos</i>	Tejido hepático/ Tejido intersticial/ Conducto biliar	Hipertrofia	1
		Hiperplasia	2
<i>rp4: In inflamación</i>		Activación del SRE	1
		Infiltración	2

Anexo VI: Grados de severidad de enfermedades

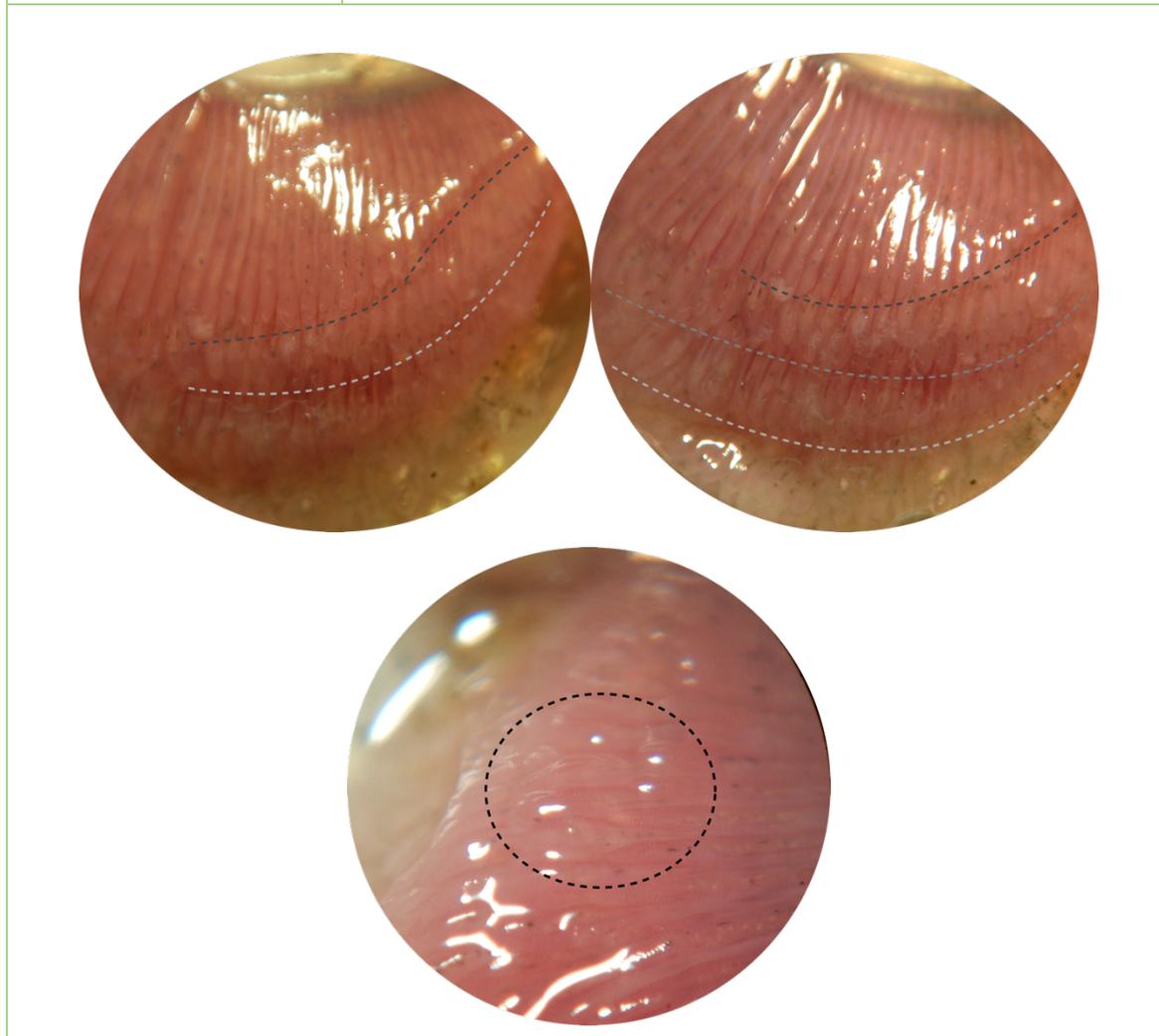
Enfermedad	Ulceraciones en piel
Parte del cuerpo	Piel, escamas, cualquier área
Grados	1: Curada
	2: En proceso de curación
	3: Agudo/Abierta
Características	Cualquier especie puede presentar esta enfermedad. En fase aguda se observan herida(s) abierta redondeada, con hemorragia en el centro y periferias blancas. Cuando se encuentra en proceso de curación, la ulcera esta parcialmente abierta con coloración blanca/café y tejido cicatricial. La lesión curada se encuentra cerrada, con perdida o malformación de escama que es lo que evidencia que es una lesión antigua.
Causas	Multifactorial. Lesión traumática; infección bacteriana; parásitos; debilitación asociada con una nutrición pobre, fluctuaciones de salinidad y otros factores ambientales adversos (Bucke <i>et al.</i> , 1996).



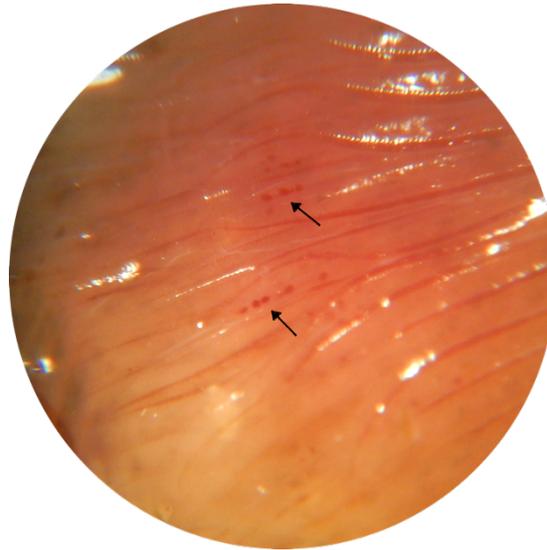
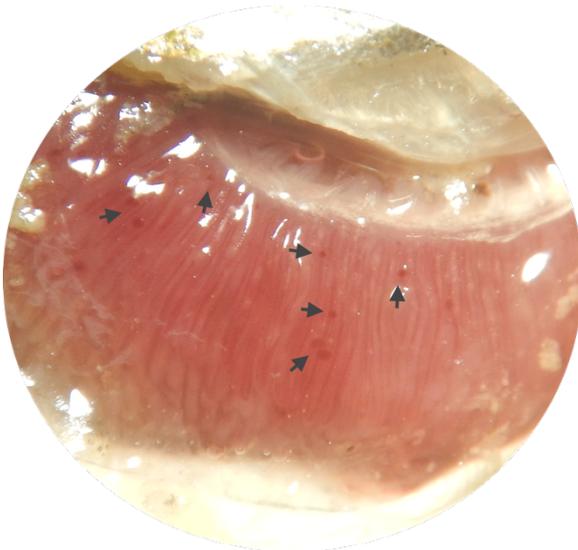
Enfermedad		Daño en aletas
Parte del cuerpo	Aletas	
Grados	Por extensión	
	1: >30%	
	2: 31% a 60%	
3: Más de 60%		
Características	Todas las especies de peces pueden presentar daño en aletas. Erosión o deshilachamiento de los bordes de la aleta, exposición de los radios. Perdida de un porcentaje de la aleta.	
Causas	Infección bacteriana, daño por trauma, infección por hongos, contaminantes (Bucke <i>et al.</i> , 1996; Kar, 2016; Rodger, 2010).	



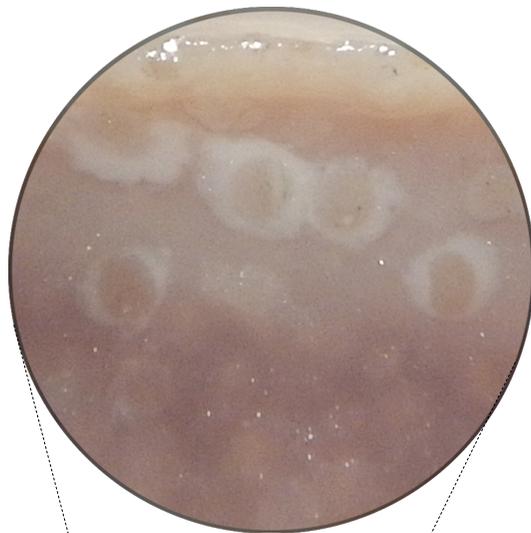
Enfermedad		Asimetría branquial	
Parte del cuerpo	Branquias/lamelas		
Grados	Por extensión/cantidad		
	1: Hasta 30% de lamelas		
	2: 31% a 60%		
			3: Todas las lamelas diferentes
Características	Irregularidad en las lamelas, posible inflamación, enrojecimiento y mucosidad. Pueden verse afectadas solo las lamelas del primer arco branquial o las de todos los arcos branquiales.		
Causas	Daño mecánico, algunos contaminantes provocan alteración en las células, factores ambientales (Costa <i>et al.</i> , 2009) parásitos.		



Enfermedad		Pigmentación en branquias	
Parte del cuerpo	Branquias		
Grados	Por extensión		
	1: Hasta 30%		
	2: 31% a 60%		
3: Más del 60%			
Características	Manchas que pueden ir desde pequeños puntos hasta cubrir gran área, cambiando el color del tejido. Las manchas pueden ser de color rojo (congestión sanguínea, inflamación), blancas, amarillas u oscuras (parásitos). Para una evaluación más detallada se pueden realizar un análisis bacteriológico y/o histopatológico.		
Causas	Multifactorial. Alteración de los factores ambientales (fluctuaciones de temperatura, salinidad etc.), contaminantes, Producto de infecciones anteriores. Desnutrición. Parásitos (bacterias, protozoarios, helmintos) (Austin y Austin, 2007).		



Enfermedad	Nódulos/Tumores hígado
Parte del cuerpo	Hígado
Grados	Sin grados para análisis macroscópico
Características	Manchas blancas, marrones u otro color diferente al del hígado. Se puede observar como granuloma, quiste, foco necrótico, foco de inflamación, neoplasma. <u>Confirmar en histopatología.</u>
Causas	Multifactorial. Lipidosis. Neoplasmas causados por contaminantes carcinógenos (Lang <i>et al.</i> ,2017).



*En este caso la confirmación en histopatología demostró que los nódulos eran gránulos de grasa.

Parásito	Parte del cuerpo	Grados		Características
Nematodos***	Cavidad celómica, hígado	1	Al menos un nematodo en cavidad celómica.	Platelmintos. Macroscópicamente se diferencian por ser gusanos alargados con coloraciones blanca a rosada, se encuentran en cavidad celómica y llegan a perforar los órganos internos
		2	Afectando hígado (perforar/comprobar en histopatología)	
		3	Perforando hígado (al menos 2 perforaciones comprobadas por histopatología)	
Cestodos***	Cavidad celómica, pegados en el mesenterio	1	>100 Infección leve	Platelmintos. Macroscópicamente se distinguen como bolitas blancas adheridas al mesenterio
		2	100>200 Infección media	
		3	<200 Infección severa	
Trematodos***	Branquia	1	1-5	Platelmintos. Planos no segmentados, provisto de ventosa, sistema digestivo incompleto. En análisis macroscópico tienen apariencia de manchas oscuras. En histopatología se encuentran invadiendo lamelas primarias, se pueden observar algunas de sus estructuras, como la ventosa.
		2	6-10	
		3	<10	

***Las fotografías posteriores muestran los parásitos en vista macroscópica y microscópica

Nematodos y cestodos vista macroscópica

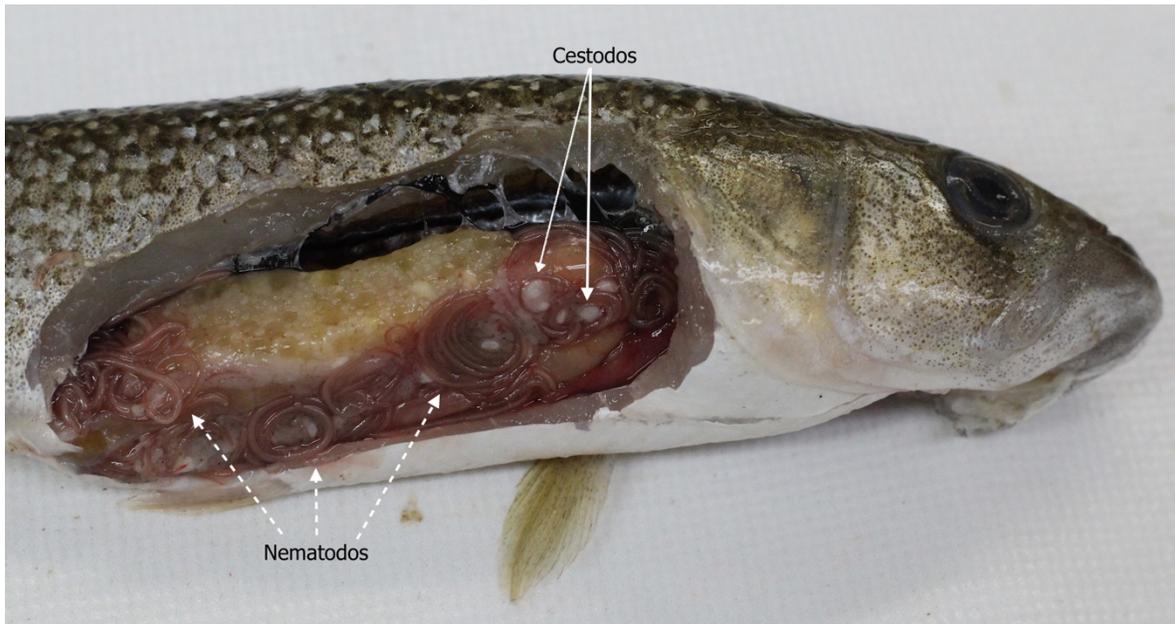


Figura 50: Dissección de la cavidad celomica de *Fundulus grandissimus* donde se observan nematodos y cestodos alrededor de los organos internos del pez.



Figura 51: Nematodo pegado a un hígado de *F. grandissimus*.

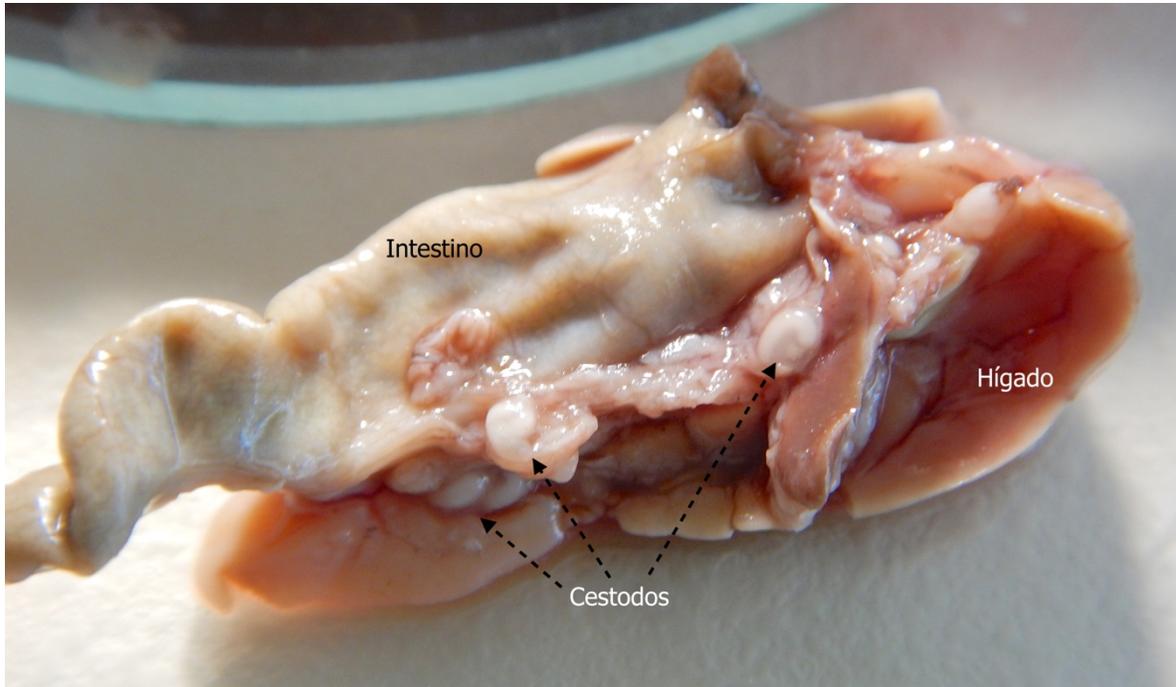


Figura 52: Cestodos enquistados y aderidos al mesenterio que recubre hígado e intestino

Nematodos vista microscópica (histología de hígado)



Figura 53: Nematodo perforando hígado. Tinción H&E, magnificación 20x.



Figura 54: Nematodo. Tinción H&E, magnificación 20x



Figura 55: Nematodo. Tinción H&E, magnificación 10x

Cestodos vista microscópica

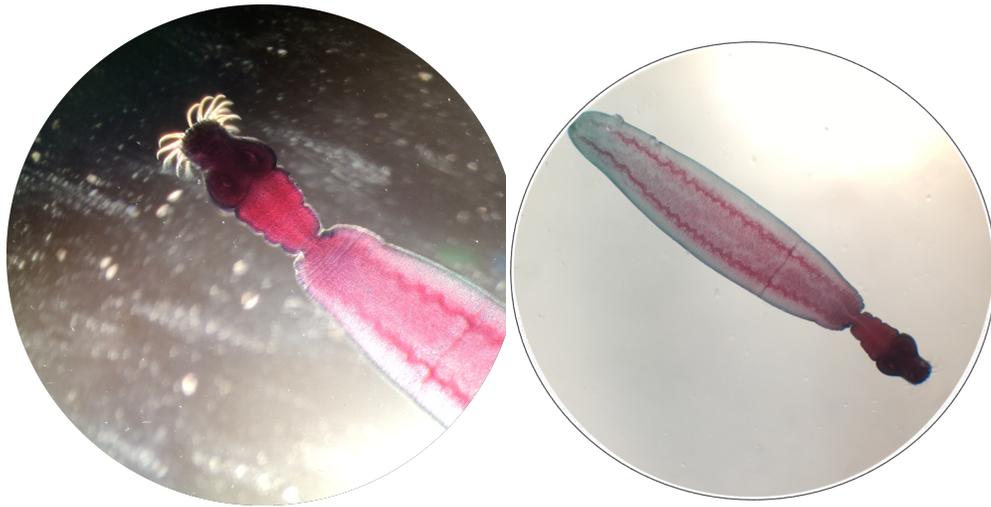


Figura 56: Cestodos (*Glossocercus caribaensis*). Magnificación 10x. Fotos tomadas por M. En C. Mirna Enriquez

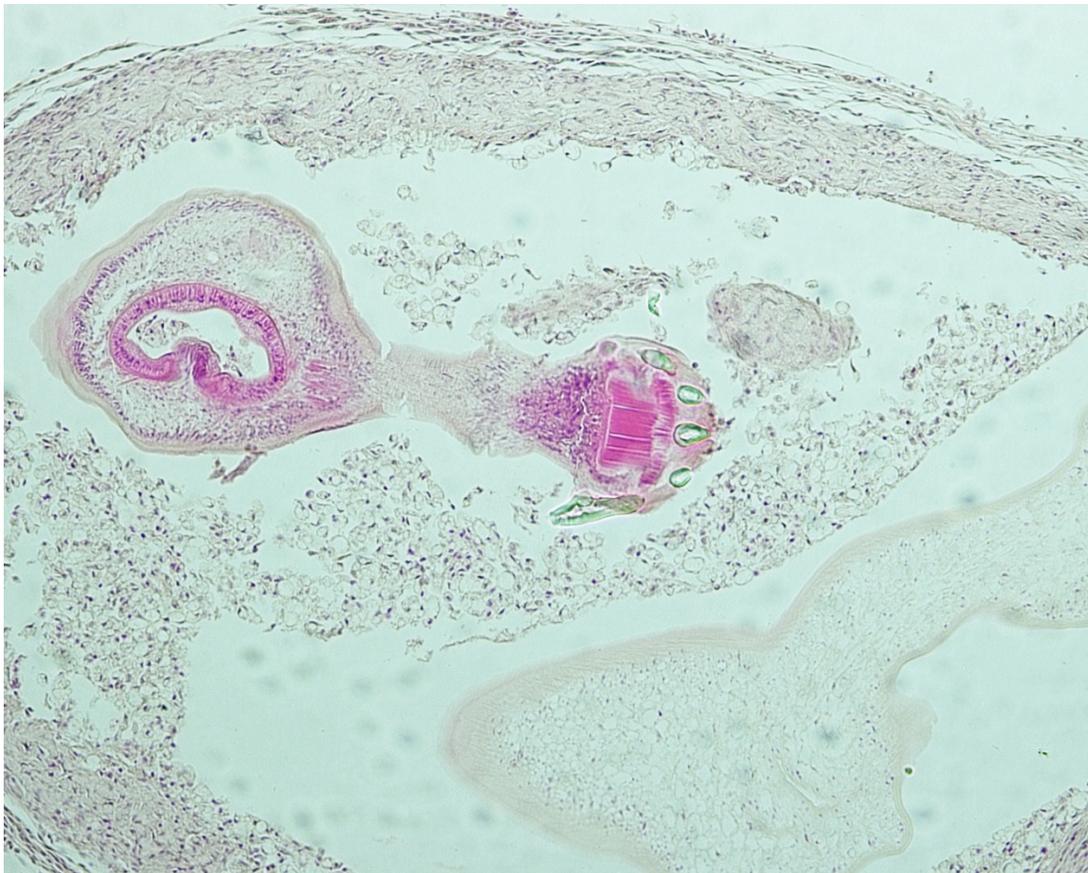


Figura 57: Cestodo enquistado alrededor del hígado de *F. grandissimus*. Tinción H&E, magnificación 10x.

Trematodos vista microscópica

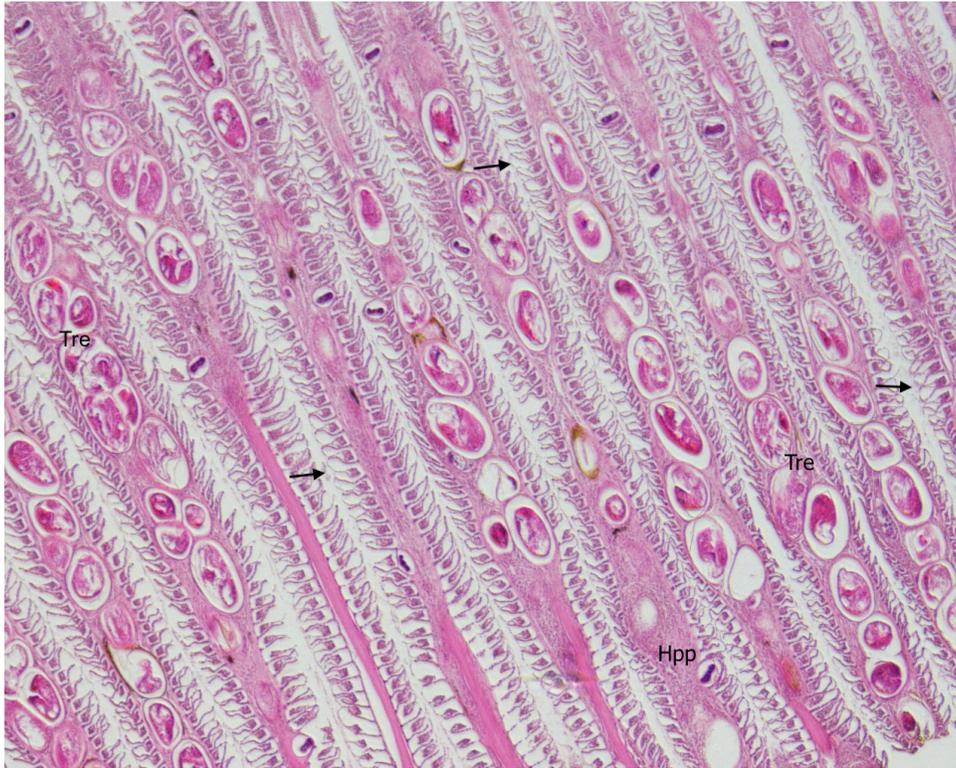


Figura 58: Trematodos en lamelas primarias de branquia de *F. grandissimus*. Tinción H&E, magnificación 10x. Trematodos (Tre), desprendimiento epitelial de lamelas secundarias (flechas), hiperplasia de células de soporte (Hpp).



Figura 59: Trematodos (Tre). Tinción H&E, magnificación 20x.

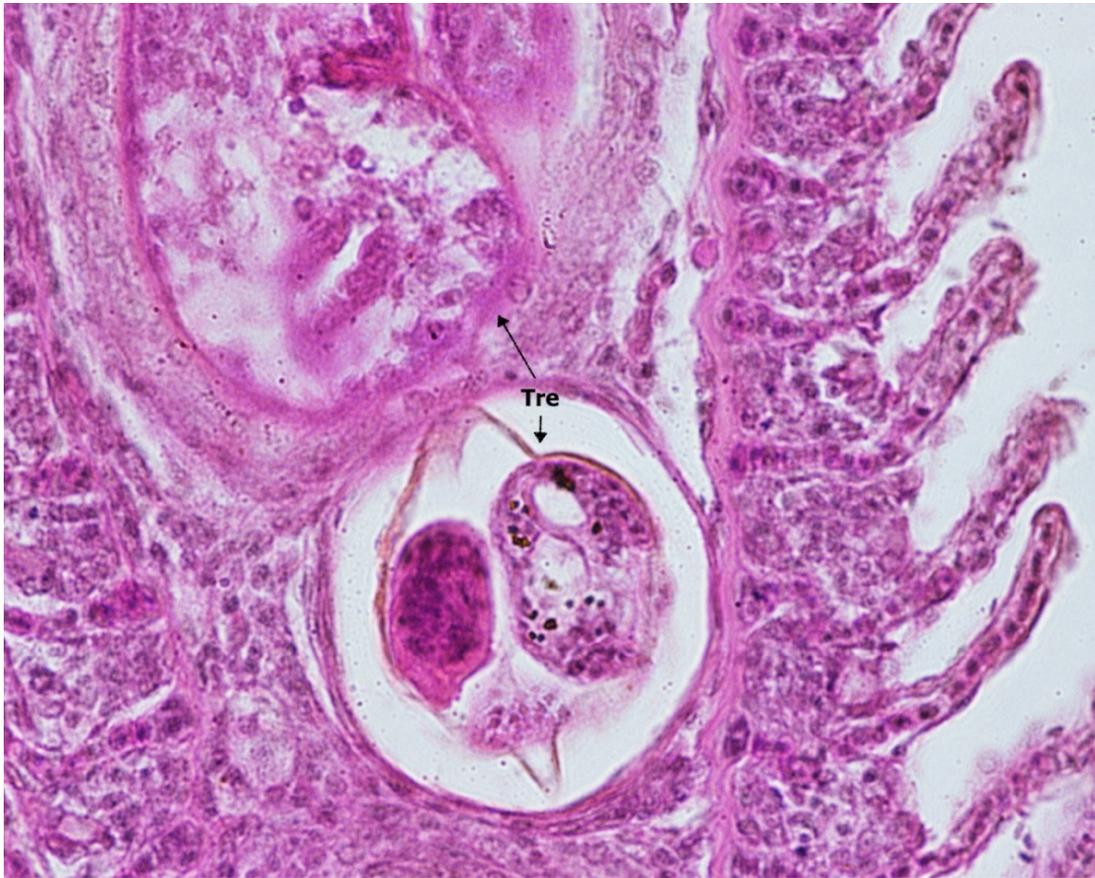


Figura 60: Trematodos (Tre). Tinción H&E, magnificación 40x

ANEXO VII Coeficiente de Spearman

a) Sisal

	IH_{branquia}	$IH_{\text{hígado}}$	IH_{total}	FDI	ISP
IH_{branquia}					
$IH_{\text{hígado}}$	0.097				
IH_{total}	0.576	0.834			
FDI	-0.356	-0.473	0.615		
ISP	-0.041	-0.137	-0.183	0.8534	

b) Progreso

	IH_{branquia}	$IH_{\text{hígado}}$	IH_{total}	FDI	ISP
IH_{branquia}					
$IH_{\text{hígado}}$	0.637				
IH_{total}	0.948	0.811			
FDI	-0.130	-0.398	-0.392		
ISP	0.657	0.231	0.428	0.654	