



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

Análisis de riesgo ecológico asociado a contaminantes en el agua y la tilapia *Oreochromis niloticus* (Linneaus, 1758), de la presa Tenango, Puebla.

Tesis

**Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas y de la Salud**

Presenta

M. en B. Mario Alejandro Muñoz Nájera

Director de tesis:

Dra. Guadalupe Barrera Escorcia

Asesores:

Dra. Patricia Ramírez Romero

Dr. Felipe Omar Tapia Silva

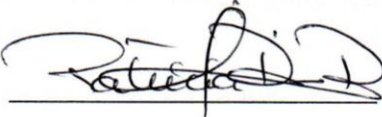
El doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y además cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93.

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis que presentó:

M. en B. Mario Alejandro Muñoz Nájera

El día 12 de septiembre del año 2019

Presidente: Dra. Guadalupe Barrera Escorcía 

Secretario: Dra. Patricia Ramírez Romero 

Vocal: Dra. Marcela Galar Martínez 

Vocal: Dr. Rodolfo Omar Arellano Aguilar 

Vocal: Dr. Felipe Omar Tapia Silva 

Dedicatorias y agradecimientos

Dedico la presente tesis a mi familia, pero en especial a mi mamá, ya que es el motor de mi fuerza, apoyo y dedicación a superarme día con día. Eres y serás siempre una persona admirable y guía en la vida.

Agradezco a la Dra. Guadalupe Barrera Escorcía por su apoyo incondicional, así como su guía y orientación en todo momento. Es una persona genial y brillante en todos los aspectos, a quien admiro y aspiro algún día a ser un poquito de lo mucho que es usted. Siempre le estaré agradecido por ser mi mentora.

Agradezco a la Dra. Patricia Ramírez Romero por el asesoramiento y apoyo durante el doctorado, sus intervenciones siempre fueron acertivas y orientadoras. No cabe duda de que es una experta en el área de ecotoxicología, siempre se le aprende algo nuevo en sus pláticas.

Agradezco al Dr. Felipe Omar Tapia Silva por haber aceptado formar parte de mi comité e introducirme en el mundo de la Geoestadística, el cual no es fácil, pero con su guía fue un poco menos complicado.

Agradezco a mi amigo y también mentor Téc. Benjamin Vieyra Rosas por su infinito apoyo para efectuar las colectas. Siempre es un lujo y momento de diversión salir contigo. Gracias por tu amistad y consejos en campo. Eres un grande entre los grandes. El mejor colector científico de mamíferos que tiene México.

A los hidrobiólogos Eduardo, Emilio Padilla y Milhouse por su apoyo en campo, nunca se rajaron a pesar del clima del lugar. Les agradezco enormemente.

Al biólogo Fernando Mares por incorporarse al proyecto y apoyarme en las salidas al campo. Biólogos como tú ya hay pocos, nunca te quebraste a pesar del clima. Gracias.

Agradezco a la M. en C. Claudia Verónica de la Cruz por haber formado parte de los buenos momentos en el laboratorio junto a los isidros y de mis recuerdos. Eres una persona genial y digna de admiración por luchona y trabajadora. Gracias por todo.

Al M. en C. Isidro Arellano y a la M. en C. Laura Elizalde por su infinito apoyo en el laboratorio. Agradezco a la vida haberlos conocido y por abrirme las puertas de su casa. Son y serán siempre parte de mis mejores amigos.

Finalmente agradezco a los pescadores de la presa Tenango por siempre estar atentos a nuestra llegada y siempre sistirnos en todo momento. Así como a todas y cada una

de las personas que participaron en forma directa e indirecta en la ejecución del proyecto de investigación. Gracias por su apoyo, paciencia y asesoramiento.

Resumen

Ante la creciente demanda del agua derivada del crecimiento poblacional, industria, ganadería y agricultura, el hombre ha construido presas para satisfacer sus necesidades. Algunas presas fueron creadas en zonas que posteriormente fueron decretadas como áreas naturales protegidas. Existe poca información referente a las condiciones del agua de esos sitios, la influencia de las actividades humanas asentadas en la periferia sobre las presas, así como del impacto hacia los ecosistemas circundantes por la contaminación del agua propiciadas por el hombre, por estos motivos es necesario implementar estudios de riesgo ecológico (ERE). Por lo anterior, se llevó a cabo un estudio en la Presa Tenango, Puebla, cuyo objetivo fue analizar el riesgo ecológico que representa la posible exposición a los metales: plomo (Pb), cadmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu) y el plaguicida Benomilo, a través de la determinación de la calidad del agua de la presa y de la tilapia (*Oreochromis niloticus*), la bioconcentración mediante la relación de los niveles de Pb, Cd, Cr, Cu y Benomilo en agua con lo bioacumulado en el tejido muscular y hepático, así como la evaluación de algunos biomarcadores en el pez (niveles de acetilcolinesterasa y metalotioneínas). Para llevar a cabo la presente investigación se realizaron 5 salidas al campo durante 2015. Se establecieron 34 estaciones georreferenciadas de colecta de agua. Se analizaron parámetros fisicoquímicos como temperatura, pH, oxígeno disuelto y dureza; nutrientes como nitratos, nitritos y fósforo; metales como Cd, Cr, Cu y Pb; así como el plaguicida Benomilo. En cada salida se capturaron e identificaron 30 ejemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*) que se cultiva y comercializa en el lugar.

Los ejemplares fueron evaluados mediante las especificaciones de calidad de SAGARPA para la comercialización de la tilapia. Se les evaluaron los niveles de los mismos elementos metálicos y el plaguicida presentes en el agua. Se cuantificó el factor de bioconcentración, niveles de metalotioneínas en hígado y músculo. La actividad de la acetilcolinesterasa se evaluó en tejido hepático. Los datos generados de los parámetros fisicoquímicos, nutrientes, metales y el plaguicida tanto en agua como los tejidos fueron comparados con la normatividad ambiental vigente para averiguar si estaban dentro de los límites máximos permisibles. Se efectuaron análisis estadísticos para determinar variaciones temporales de las variables estudiadas y se calculó el coeficiente de peligrosidad para los metales y el plaguicida. Se aplicaron métodos geoestadísticos (Kriging Ordinario, KO y Kriging Universal, KU) para definir la variabilidad espacial de los parámetros medidos en agua. El funcionamiento de estos métodos de predicción fue verificado mediante validación cruzada (leave-one-out cross validation). Los resultados indican que los parámetros fisicoquímicos no representan problema para el sistema acuático de la presa. No obstante, los niveles de metales en agua y tejidos rebasaron los límites permisibles en 2 periodos, por lo que, el agua en esos periodos no se consideró adecuada para el uso urbano y compromete la vida acuática; en tanto que, la tilapia no fue idónea para consumo humano. El factor de bioconcentración indicó que tanto los metales, como el Benomilo, tienen potencial para bioacumularse. Las concentraciones de metalotioneínas en hígado y músculo mostraron una correlación directa con la concentración de los metales en tejido. Mientras que la actividad de la AChE mostró una correlación negativa respecto a la concentración de Benomilo en músculo. Los coeficientes de

peligrosidad indicaron que el Pb y el Cd fueron peligrosos para la tilapia y, consecuentemente, para los demás organismos acuáticos que habitan la presa. Los análisis geoestadísticos demostraron que las actividades antropogénicas del lugar, así como la estacionalidad influyen en el aumento o disminución de los valores de las variables estudiadas. Estos a su vez, influyen sobre la capacidad de los modelos geoestadísticos para capturar sus patrones de variabilidad espacial. Se concluyó que la tilapia funcionó adecuadamente como biomonitor al manifestar los posibles efectos a la exposición a metales y el plaguicida. Los niveles de metales representan un riesgo tanto para la tilapia como para los organismos que dependen del recurso vital. Por su parte, aunque los niveles de Benomilo no representaron peligro para la tilapia durante el tiempo de la presente investigación, su presencia en el ecosistema acuático implica que se debe tener extremo cuidado en su manejo ya que se encuentra ligado a la actividad de la agricultura en el sitio y, por lo tanto, podría representar un riesgo para la zona en un futuro.

Abstract

In response to growing demands for water derived from population growth, industry, livestock, and agriculture, people have built dams; some of which were built in areas that later were designated as protected natural areas. There is little information regarding the water conditions of these sites, the influence of the human activities settled on the periphery on these water bodies and, in turn, the impact on the surrounding ecosystems due to man-made water pollution, which is why it is necessary to implement ecological risk studies (ERE). Therefore, a study was carried out in the Tenango Dam, Puebla, whose objective was to analyze the ecological risk represented by the possible exposure to metals: lead (Pb), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu) and the pesticide Benomilo, through the determination of the water quality and tilapia (*Oreochromis niloticus*) health, its bioconcentration and some biomarkers in the fish (acetylcholinesterase and metallothioneins levels). To carry out the present work, five field collections were done during 2015. 34 geo-referenced water collection stations were established, in which physicochemical parameters such as temperature, pH, dissolved oxygen and hardness were analyzed; nutrients such as nitrates, nitrites, and phosphorus; metals (Cd, Cr, Cu, and Pb) as well as the pesticide Benomyl were determined. In each collection, 30 specimens of tilapia (*Oreochromis niloticus*) were captured and identified. Fish were assessed through the quality specifications of SAGARPA for the commercialization of tilapia, and the same metals, quantified in water, and Benomyl levels were evaluated. Also, the bioconcentration factor and metallothionein levels in liver and muscle were quantified. Acetylcholinesterase activity

was evaluated only in liver tissue. The data generated from the physicochemical parameters, nutrients, metals and the pesticide in both water and tissues were compared with the current environmental regulations to observe if they were within the maximum permissible limits. Statistical analyses were carried out to determine temporal variations of the variables studied and the hazard coefficient for metals and pesticide was calculated. Geostatistical methods (Ordinary Kriging, KO and Universal KU) were applied to define the spatial variability of the parameters measured in water. The operation of these prediction methods was verified by leave-one-out cross-validation. The results indicate that the physicochemical parameters do not represent a problem for the aquatic system of the dam. However, metals levels of in water and tissues exceeded the permissible limits in two periods, therefore, water in those periods was not considered adequate for urban use and compromised aquatic life; whereas, tilapia was not suitable for human consumption. The bioconcentration factor indicated that metals and Benomyl, have the potential to bioaccumulate. Metallothionein concentrations in liver and muscle showed a direct correlation with the metal's concentrations in the tissue. While the AChE activity showed a negative correlation with respect to Benomyl's concentration in muscle. The hazard coefficients indicated that Pb and Cd were dangerous for tilapia and, consequently for other aquatic organisms that inhabit the dam. It was concluded that tilapia functioned properly as a biomonitor when manifesting the possible effects of exposure to metals and the pesticide. Metal levels represent a risk both for tilapia and for other organisms that depend on the dam's water. On the other hand, although the Benomyl levels did not represent a danger for the tilapia during the time of the present investigation, its presence in the aquatic

ecosystem implies that extreme care must be taken in its management, since it is linked to agricultural activities on the site and, therefore, could pose a risk to the area in the future.

Índice general

Resumen	I
Abstract	IV
Índice de figuras	1
Índice de tablas	6
1. Introducción	9
2. Marco teórico	15
2.1. Las presas hidroeléctricas y su contaminación.....	15
2.2. Biomonitores.....	21
2.3. Los vertebrados como biomonitores: Peces.....	22
2.4. La tilapia como biomonitor.....	28
2.5. Estudios ecotoxicológicos con <i>Oreochromis niloticus</i>	30
2.6. El análisis de riesgo ecológico (ERE) y <i>Oreochromis niloticus</i>	32
3. Pregunta de investigación	37
4. Hipótesis	37
5. Objetivo general	38
6. Objetivos específicos	38
7. Metodología	39
7.1. Área de estudio.....	39
7.2. Trabajo de campo.....	43
7.3. Trabajo de laboratorio.....	46
7.3.1. Dureza.....	46
7.3.2. Nitratos.....	46
7.3.3. Nitritos.....	47
7.3.4. Fósforo.....	47
7.3.5. Medición de metales en agua.....	47
7.3.6. Medición de metales en hígado y músculo.....	48
7.3.7. Medición de Benomilo/Carbendazim en agua.....	48
7.3.8. Medición de Benomilo/Carbendazim en hígado y músculo.....	49
7.3.9. Evaluación de la calidad del agua y la tilapia.....	50

7.3.10. Factor de bioconcentración	51
7.3.11. Biomarcadores en hígado y músculo en tilapia	51
7.4. Análisis estadísticos.....	53
7.5. Análisis geoestadísticos de variabilidad espacial	54
7.6. Riesgo ecológico	57
8. Resultados	60
8.1. Agua	60
8.1.1. Parámetros fisicoquímicos	60
8.1.2. Nutrientes	61
8.1.3. Metales	64
8.1.4. Benomilo/Carbendazim	69
8.2. Análisis de organismos	71
8.2.1. Evaluación morfométrica y morfológica de <i>O. niloticus</i>	71
8.2.2. Niveles de metales en <i>O. niloticus</i>	73
8.2.3. Relación entre los parámetros morfométricos y las concentraciones de metales en <i>O. niloticus</i>	80
8.2.4. Niveles de Benomilo/Carbendazim en <i>O. niloticus</i>	81
8.2.5. Relación entre los parámetros morfométricos y la concentración de Benomilo/Carbendazim	83
8.2.6. Metalotioneínas (MT) en <i>O. niloticus</i>	83
8.2.7. Relación entre metalotioneínas y concentración de metales en hígado y músculo.....	84
8.2.8. Actividad de la acetilcolinesterasa	85
8.2.9. Relación entre actividad de AChE con la concentración de Benomilo/Carbendazim	86
8.2.10. Factor de bioconcentración de metales	86
8.2.11. Factor de Bioconcentración de Benomilo/Carbendazim	87
8.3. Geoestadística.....	88
8.4. Análisis de riesgo ecológico.....	98
9. Discusión.....	107
9.1. Parámetros fisicoquímicos	107
9.2. Nutrientes.....	108
9.3. Metales en agua y tilapia	111
9.4. Benomilo en agua y tilapia.....	115
9.5. Análisis de riesgo para tilapia con metales.....	118
9.6. Análisis de riesgo a la vida acuática de Tenango por metales.....	120
9.7. Análisis de riesgo para la tilapia y a la vida acuática de Tenango por Benomilo	121
9.8. Análisis Geoestadísticos.....	124

10. Conclusiones	130
11. Bibliografía	135
ANEXO 1 (Publicación)	166

Índice de figuras.

Fig. 1. Ubicación de la presa Tenango en la Sierra Norte de Puebla

Fig. 2. Esquema general de trabajo implementado en el proyecto de investigación.

Fig. 3. Esquema general de trabajo para la realización del ERE de la Presa Tenango, Puebla.

Fig. 4. Concentraciones promedio de nitritos por temporada de colecta. a: indica el LMP 0.05 mg/L para fuente de abastecimiento para uso urbano (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 5. Concentraciones promedio de fósforo por temporada de colecta. b: indica el LMP 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$) 65

Fig. 6. Concentraciones promedio de Pb por temporada de colecta. b: Indica el LMP de 0.03 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$)

Fig. 7. Concentraciones promedio de Cr por temporada de colecta. a y b: Indican el LMP que es 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática y para uso urbano (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 8. Concentraciones promedio de Cu por temporada de colecta. b: Indica el LMP 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 9. Concentraciones promedio de Cd por temporada de colecta. b: Indica el LMP 0.004 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 10. Concentraciones promedio de Benomilo. a: indica el LMP (0.6 $\mu\text{g/L}$) para el ecosistema y b: indica el LMP (0.1 $\mu\text{g/L}$) para agua potable. Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 11. Concentraciones de Pb en hígado por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 12. Concentraciones de Pb en músculo por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 13. Concentraciones de Cd en hígado por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 14. Concentraciones de Cd en músculo por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 15. Concentraciones de Cr en hígado por temporada de colecta. b: indica límite máximo (0.1 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 16. Concentraciones de Cr en músculo por temporada de colecta. b: indica límite máximo (0.1 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 17. Concentraciones de Benomilo en músculo de tilapia. a: indica el LMP (0.1 mg/Kg) para consumo humano según la NOM-004-ZOO-1994. Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Fig. 18. Interpolaciones de parámetros fisicoquímicos, incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Fig. 19. Interpolaciones de nitritos incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Fig. 20. Interpolaciones de metales incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango

Fig. 21. Interpolaciones de Benomilo incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Fig. 22. Modelo conceptual de riesgo de la presa Tenango considerando a las actividades humanas como fuentes de contaminación

Fig. 23 Coeficientes de peligrosidad por estación en función de la CL_{50} por metal. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligro.

Fig. 24. Coeficientes de peligrosidad por estación en función del límite máximo permitido para la protección a la vida acuática por metal. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligrosidad.

Fig. 25. Coeficientes de peligrosidad por estación en función de la CL_{50} de Benomilo. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Fig. 26 Coeficientes de peligrosidad por estación en función del límite máximo permitido de Benomilo para el ecosistema. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligrosidad

Índice de tablas

Tabla 1. Promedios y desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos del agua de la presa Tenango. Se incluyen LMP contemplados por la LFD.

Tabla 2. Promedios y desviaciones estándar de los nutrientes registrados en la Presa Tenango. Se incluyen límites permisibles por la LFD.

Tabla 3. Concentraciones promedio y desviaciones estándar de metales tóxicos en agua de la Presa Tenango.

Tabla 4. Concentraciones promedio (\pm desviaciones estándar) de Benomilo/ Carbendazim en muestras de agua de la presa Tenango.

Tabla 5. Pesos y longitudes de *O. niloticus* colectados en la presa Tenango (promedios y desviaciones estándar). Se anexan valores recomendables de calidad (SAGARPA, 2006).

Tabla 6. Porcentaje de ejemplares que cumplieron con las especificaciones de calidad de acuerdo con lo establecido por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2006).

Tabla 7. Concentración de Pb, Cd, Cr y Cu en hígado y músculo de *O. niloticus* de la presa de Tenango (promedios y desviaciones estándar).

Tabla 8. Correlaciones entre variables morfométricas y concentraciones de metal en tejido por temporada de colecta.

Tabla 9. Benomilo/Carbendazim en músculo de tilapia *O. niloticus* (promedios y desviaciones estándar).

Tabla 10. Correlación entre peso y longitud con la concentración de Benomilo/Carbendazim en músculo.

Tabla 11. Metalotioneínas presentes en hígado y músculo (promedios y desviaciones estándar).

Tabla 12. Correlación entre metalotioneínas con la concentración de metal en tejido por temporada de colecta.

Tabla 13. Actividad de AChE en nmol/min/mg de proteína en músculo de *O. niloticus* (promedios y desviaciones estándar).

Tabla 14. Correlación entre actividad de acetilcolinesterasa con concentración de Benomilo/Carbendazim en músculo.

Tabla 15. Factor de bioconcentración (FBC) de metales por temporada de colecta y tejido.

Tabla 16. Factor de bioconcentración (FBC) de Benomilo por temporada de colecta.

Tabla 17. Resultados de *leave-one-out cross validation* entre los modelos teóricos y experimentales según parámetro y el mes de toma de datos para $r > 0.5$

Tabla 18. Variables que no se ajustaron a algún modelo teórico para kriging ordinario y universal.

Tabla 19. Coeficiente de peligrosidad (Q) temporal para *O. niloticus*.

Tabla 20. Coeficiente de peligrosidad temporal para el ecosistema acuático de la Presa Tenango.

Tabla 21. Coeficiente de peligrosidad temporal obtenido a partir de los promedios de las concentraciones de Benomilo/Carbendazim en agua con la CL_{50-96h} para *O. niloticus*.

Tabla 22. Coeficiente de peligrosidad temporal obtenido a partir de los promedios de las concentraciones de Benomilo/Carbendazim en agua con el límite máximo permitido ($0.6 \mu\text{g/L}$) para la protección del ecosistema (Dang y Smith, 2008).

1. Introducción

La evaluación del riesgo ecológico (ERE) es una herramienta científica enfocada a la protección del entorno ecológico, ya que valora de forma cuantitativa la posibilidad de que un estresor afecte el ecosistema de un sitio determinado (USEPA, 1991; Suter, 1993). La ERE puede utilizarse a diferentes escalas o niveles de organización biológica como son el individual, poblacional, comunidad y ecosistémico (Suter *et al.*, 2005). La selección del nivel dependerá de las necesidades propias del sitio y de la profundidad del estudio que se quiera alcanzar.

La ERE proporciona un marco de recopilación y evaluación científica de datos para que puedan ser tomados en cuenta en la toma de decisiones y reportar estimaciones de los efectos adversos ocasionados a los organismos de un sitio por la exposición a estresores o contaminantes presentes (Chapman y Wang, 2000; USEPA, 1998; Hope, 2006).

La ERE tiene sus orígenes en los años 80's en la Agencia de Protección Ambiental (EPA), la cual publicó un informe titulado Framework for Ecological Risk Assessment en los que se describen los pasos o directrices (formulación del problema, análisis y caracterización del riesgo) para seguir el proceso de evaluación el riesgo hacia los ecosistemas (USEPA, 1992). Esto fue un gran logro debido a que en los años 70's, la EPA solo gestionaba los riesgos a la salud humana y no contaba con un marco fiable para abordar la problemática ambiental o ecosistémica por exposición a contaminantes o estresores (USEPA, 1992).

La ERE se ha utilizado comúnmente para ambientes acuáticos con una gran variedad de contaminantes como metales y plaguicidas, en los que se evalúan las afectaciones que generan estos contaminantes a los organismos que habitan en él (Kadlec, 2000; Johnson et al 2003).

Gran parte de los contaminantes presentes en los sistemas acuáticos provienen de las actividades humanas como la minería, la agricultura y la industria por mencionar algunas, estas producen residuos que pueden ingresar al medio, donde se dispersan a través del agua superficial o subterránea. Dichos residuos pueden ser tóxicos en función de su composición química e impactan directamente sobre los organismos que habitan en el sitio. Los efectos de esos compuestos pueden manifestarse a corto, mediano o largo plazo dependiendo de su concentración, la forma de dispersión y el grado de toxicidad. Algunos de los efectos que llegan a presentarse incluyen alteraciones fisiológicas y bioquímicas en las funciones vitales de los organismos que habitan en el ecosistema, lo que puede tener consecuencias tales como una disminución de la capacidad reproductiva y de la sobrevivencia, el aumento de la sensibilidad y susceptibilidad a enfermedades (agentes patógenos), y la disminución de la resistencia ante un factor de estrés ambiental (Dillon y Lynch, 1981). En situaciones más graves pueden generar el exterminio de una o varias poblaciones de la fauna silvestre del sitio (Gadner, 1975; Brungs *et al.*, 1978; Ramade, 1989).

La determinación de los niveles de contaminantes en el agua es primordial en el análisis ambiental, sobre todo en el caso de aquellos que están regulados por una legislación tendiente a la protección de los ecosistemas acuáticos y terrestres. Sin

embargo, además de lo anterior, es esencial conocer los efectos de los contaminantes tóxicos en los organismos propios del sistema, ya que la sola concentración no informa directamente sobre el riesgo que corren las poblaciones de un determinado sitio. Es por ello, que a partir de los años 80's surge la idea de utilizar organismos vivos tales como aves, anfibios, reptiles, mamíferos, peces, etc., para evaluar los efectos de los contaminantes que se encuentran en el ambiente. Estos organismos son denominados biomonitores y actualmente representan una herramienta imprescindible para evaluar las consecuencias asociadas a la presencia de determinados niveles de tóxicos a los que se encuentran expuestos los organismos y que suelen acumularse en ellos. La acumulación de algunos tóxicos puede llevarse a cabo en órganos específicos, tales como: el pulmón, el riñón y el hígado; o en determinado tipo de tejido como: el adiposo, el muscular o los huesos. El análisis de la acumulación de estas sustancias en los organismos constituye el mejor indicador del impacto biológico, debido a que toma en cuenta automáticamente su disponibilidad para los seres vivos (Borgmann, 2000; Goldberg *et al.*, 1983; Phillips y Segar, 1986; Phillips, 1977).

El uso de biomarcadores es otra gran herramienta útil en los estudios eco toxicológicos debido a su gran capacidad para estimar el daño temprano a través de cambios fisiológicos, bioquímicos, celulares, histológicos y de comportamiento en diferentes especies. Además, con el uso de esta herramienta se busca desarrollar técnicas químicas, bioquímicas y moleculares que sean rápidas, fáciles de determinar y sobre todo de bajo costo (Gold-Bouchot y Zapata-Pérez, 2004). La evaluación de

biomarcadores de diferente nivel de organización permite obtener una visión holística de los efectos de los tóxicos. Así, existen biomarcadores de varios niveles, tales como:

- Bioquímico y molecular (efectos en enzimas, proteínas, ADN, ARNm, y otros).
- Celular (tales como cambios o daños en la membrana).
- Histológico (efectos en órganos y tejidos).
- Individual (efectos en el crecimiento).
- Poblacional (cambios en la reproducción).
- Comunitario (cambios en la diversidad).

Los biomarcadores se dividen en tres categorías fundamentales:

- a) Biomarcadores de exposición: que permiten la detección y la medición de compuestos químicos o sus metabolitos en el organismo, o el registro del producto de la interacción entre un agente xenobiótico con una molécula o célula determinadas que puede ser medido en un compartimento del organismo.
- b) Biomarcadores de efecto: que miden respuestas bioquímicas, fisiológicas u otras modificaciones en los tejidos o los fluidos, las cuales pueden ser reconocidas y relacionadas con posibles alteraciones en el estado de salud de los organismos.
- c) Biomarcadores de susceptibilidad: estos indican la pérdida o la adquisición de habilidades para responder a cambios provocados por un xenobiótico específico, incluyendo factores genéticos y cambios que alteran la susceptibilidad a dicha exposición (Van der Oost *et al.*, 2003; NRC, 1987).

Un ejemplo de biomarcador de exposición son las metalotioneínas. Este biomarcador se constituye de proteínas de bajo peso molecular con muchos grupos sulfhidrilo que tienen la capacidad de unirse a una variedad de metales de importancia biológica como el zinc y el cobre. Las metalotioneínas también son capaces de unirse a metales que no tienen ninguna función biológica, como es el caso del cadmio, el plomo y el mercurio. Los niveles de dichas proteínas aumentan conforme los niveles de metales incrementan su concentración en órganos y tejidos como el hígado y el músculo, entre otros, por lo que se puede establecer una relación directa que permite determinar si hubo exposición, en el caso de no poderse detectar niveles apreciables de los metales en los tejidos (Hamilton y Mehrle, 1986; Dallinger *et al.*, 1997).

Entre los biomarcadores efecto se encuentra la acetilcolinesterasa. Esta enzima suele utilizarse para evaluar los efectos de plaguicidas, regula la transmisión de los impulsos nerviosos por hidrólisis de la acetilcolina acumulada en las sinapsis colinérgicas. Los plaguicidas organofosforados y los carbamatos tienen la capacidad de inhibir la actividad de la acetilcolinesterasa (Brewer *et al.*, 2000). La inhibición de esta enzima puede ocasionar la parálisis muscular, lo que en el caso de los peces se manifiesta en desorientación, en deterioro del nado y aletargamiento de los reflejos corporales (Dembele *et al.*, 2000), lo que se ve traducido en la presencia de hematomas debido a que estos animales pueden golpearse fácilmente con las rocas del medio acuático.

La presencia de contaminantes en un cuerpo de agua incide en la posibilidad de que los organismos se encuentren o no en condiciones adecuadas para su desarrollo. Ello dependerá de la estructura y tipo de las sustancias químicas (orgánica e inorgánica),

las cuales pueden generar efectos teratogénicos, es decir, modificaciones corporales o funcionales durante las primeras fases embrionarias de los peces, apreciándose estas deformaciones esqueléticas, del opérculo, de los arcos branquiales, tono muscular deficiente y talla y peso disminuido en etapas de alevín, juvenil y adulto (Bengtsson *et al.*, 1985; Janssens de Bisthoven, 2000).

La distribución de los contaminantes en un cuerpo de agua y su relación con actividades antropogénicas requiere de un análisis de otra naturaleza. El análisis espacial de los datos correspondientes a los contaminantes de un cuerpo de agua ha cobrado gran relevancia y fuerza en los estudios ecotoxicológicos debido a su practicidad y aplicabilidad para generar información cartográfica concerniente a la distribución y comportamiento de una variable en un ámbito local. Este se realiza a través de métodos de interpolación como Kriging ordinario, Kriging con deriva externa, distancia inversa ponderada, etc. Estos han permitido mapear un área de estudio junto con sus variables para determinar los sitios de mayor contaminación, así como los factores ambientales y/o antropogénicos que contribuyen en la presencia y aumento de un contaminante, asimismo proporcionan elementos que permiten proponer las estrategias necesarias para el manejo del problema y su posible solución (Xie *et al.*, 2011; Sartipi y Reza, 2018).

El uso de los biomonitores y los biomarcadores proporcionan información valiosa para la integración de los estudios de riesgo ecológico (ERE), en tanto que, las herramientas de interpolación pueden enriquecer estos estudios

Por lo anterior, es pertinente evaluar la calidad del agua de los cuerpos acuáticos, dada su importancia ecológica y socioeconómica, así como por el contacto directo con el ser humano.

2. Marco teórico

2.1. Las presas hidroeléctricas y su contaminación

Muchos cuerpos acuáticos reciben influencia de las actividades humanas lo que es muy evidente en el caso de las presas hidroeléctricas. Una presa hidroeléctrica se define como una estructura hidráulica, que se construye en una sección transversal del cauce de un cuerpo de agua para hacerla pasar a través de un conducto a un generador eléctrico, el cual es activado por la fuerza de arrastre de la corriente de agua y con ello se genera energía eléctrica que será destinada para diversos usos en beneficio de la población humana. Otros beneficios que trae consigo la construcción de estas magnas obras, son los socioeconómicos a las comunidades aledañas. Ejemplos del aprovechamiento del agua almacenada en la presa son: el suministro en periodos de escasez, el riego, la piscicultura, el combate a incendios y la mejora paisajística de la zona que permite atraer a turistas y reactiva la economía de las poblaciones aledañas a través de la oferta de actividades recreativas (Ramos-Gutiérrez y Montenegro-Fragoso, 2012; Burgueño, 2010; Santaella y Morales, 2001).

La contaminación de las presas es un proceso que aqueja con frecuencia a los cuerpos de agua naturales o artificiales. Se considera que el agua está contaminada, cuando

se ven alteradas sus propiedades químicas, físicas y biológicas; por lo que pierde su calidad para diversos usos, incluyendo la potabilidad (CYTED, 2001). La introducción de grandes cantidades de materia orgánica sobre las presas ocasiona, al descomponerse, la disminución del oxígeno disuelto del agua, así como la modificación del pH y el aumento en la concentración de nutrientes como nitratos, nitritos y fósforo (Guérin, 2008).

Una actividad que frecuentemente se encuentra ubicada en los alrededores de las presas es la agricultura. A esta actividad se le adjudica ser la responsable en buena medida de la contaminación del agua superficial y subterránea, así como de la eutrofización de los sistemas acuáticos. La amplia gama de plaguicidas y fertilizantes que se suelen utilizar para asegurar y proteger las cosechas, aunado a los métodos y tasas de aplicación, han conducido a la pérdida extensiva y permanente de la biodiversidad en muchos lugares. Entre los organismos afectados se encuentran comunidades de invertebrados (Benton *et al.*, 2002), aves (Heaney *et al.*, 2001) y anfibios (Campbell, 1999), por lo que es posible asumir que estos patrones se están repitiendo en todo el mundo. Entre los plaguicidas de uso frecuente se incluyen los carbámicos, los cuales son utilizados como agentes fungicidas, insecticidas y nematocidas. Estas sustancias pueden absorberse a través del sistema respiratorio, gastrointestinal y dérmico en vertebrados. El hígado es el órgano encargado de metabolizar las sustancias que ingresan al cuerpo y por ello, este tejido es donde se reportan los niveles más altos de este químico. Este tipo de compuesto también se acumula, aunque en menor concentración, en el músculo y el sistema nervioso. Los

compuestos carbámicos ocasionan disminución en el metabolismo hepático y la síntesis de fosfolípidos en cerebro, y se vinculan a la inactivación de la acetilcolinesterasa (AChE). Un ejemplo de un plaguicida con acción carbámica es el Benomilo. Este producto es un fungicida prohibido y/o controlado en muchos países europeos y americanos debido a sus efectos teratogénicos, oncogénicos, reproductivos y el deterioro en el hígado que derivan de la exposición crónica. A pesar las consecuencias de su uso, se sigue implementado en muchos lados clandestinamente sobre cultivos de frutas, vegetales, céspedes y plantas ornamentales para combatir un amplio espectro de enfermedades fúngicas. El principal metabolito de Benomilo es el metil 2-bencimidazol carbamato, este es responsable de la mayor parte de la toxicidad de este producto. No obstante, cuando este producto es aplicado en los cultivos y entra en contacto con el suelo es rápidamente retenido por las arcillas y degradado a carbendazim cuya vida media es de 2 a 19 horas. Cabe mencionar que, si su uso es frecuente y en grandes cantidades, puede saturar los suelos y contaminar los mantos freáticos o cuerpos de agua superficiales cercanos al sitio de aplicación de este plaguicida (Helliker, 1999; Siepmann y Bruhn, 1999).

Estudios toxicológicos en peces en fases larvarias y de desarrollo temprano expuestos a carbamatos, han arrojado resultados que indican que se presenta inactivación de la acetilcolinesterasa, y la bioacumulación de estos compuestos en dichas etapas, produce malformaciones en la columna vertebral y parálisis muscular en los organismos, lo que trae como consecuencia una disminución en el tamaño y peso de

los mismos; además de evidenciar hematomas y cambios en la coloración de los peces (Mencías y Mayero, 2000; Baddi *et al.*, 2006).

Las presas reciben además otro tipo de contaminantes como es el caso de los metales. El tema de los metales ha tomado interés debido al incremento de sus concentraciones en el agua. Si bien estos ocurren de forma natural como producto de la actividad volcánica o erosión de las rocas, los efectos de la contaminación se asocian al incremento de metales derivados de la actividad minera, siderúrgica y cementera que, en ocasiones, utilizan los cuerpos de agua como vertederos (Krebs *et al.*, 1999). Las prácticas agrícolas también pueden ser una fuente importante de metales, ya que éstos compuestos pueden contaminar los cuerpos de agua a través del arrastre o lixiviación de terrenos de cultivo en los que se acumularon por uso de pesticidas y fertilizantes que contenían elementos metálicos ejemplo de ello son los plaguicidas con nombre comercial: arsenato de plomo, ácido cacodílico, cloruro mercúrico y acetox; los cuales contienen metales como plomo, cadmio, cromo y cobre (Rosas, 2001). Las aguas residuales de las ciudades también transportan sales metálicas porque acarrean restos de pinturas, plaguicidas, pilas o ceras que contienen trazas de metales (Fundación MAPFRE, 1994). Los metales que son depositados en el agua, ya sea por acción humana o natural, son acarreados por los cauces hasta el mar o pueden ser retenidos en áreas de almacenamiento como las presas.

Los metales que suelen detectarse con más frecuencia en el agua de presas y cuerpos de agua dulce son el cadmio, el plomo, el cromo, el cobre, entre otros (Arredondo *et al.*, 2007). El cadmio se utiliza para aleaciones, soldaduras, galvanizado, electro

plateado, pinturas, cerámica, baterías, plaguicidas como el acetoxi y fertilizantes. Se absorbe tanto por la vía pulmonar, como por la gastrointestinal y la dérmica (Albert, 2011); se transporta por la sangre unido a proteínas como las metalotioneínas, la hemoglobina y la albúmina. Se deposita en corteza renal, hígado y testículo. Los efectos tóxicos que ocasiona este metal son la inhibición de la respiración celular y la síntesis de proteínas, la absorción de hierro interfiere en el metabolismo del zinc y el calcio, causa alteraciones renales, daño celular y tumoraciones. Se considera que su incorporación en la célula estimula la síntesis de metalotioneínas como mecanismo defensivo (Mencías y Mayero, 2000).

Otro metal que constituye un importante contaminante es el plomo. Este se utiliza en pinturas, cerámica, imprenta, baterías, gasolina y otros productos como productos agroquímicos como el arseniato de plomo. Las principales vías de entrada son la pulmonar y la gastrointestinal. Se distribuye a través de los eritrocitos, unido a la hemoglobina y se acumula en hueso, riñón, hígado, músculo y cerebro. Los efectos tóxicos que ocasiona este metal incluyen la inhibición de: la actividad de la ATPasa, la síntesis de ADN, ARN, la respiración celular, e interfiere en procesos neuronales (Albert, 2011).

Por su parte, el cromo es un elemento abundante en la corteza terrestre, suele emplearse en la generación de acero inoxidable, de recubrimiento electrolítico de superficies metálicas o plásticos, en la fabricación de materiales cerámicos, suplementos alimenticios, plaguicidas y tintura para chamarras de piel, entre otras cosas (Moreno, 2003). Se absorbe a través de las vías pulmonar, dérmica y oral. Se

transporta a través de las transferrinas, la hemoglobina y las metaloproteínas. Los efectos que ocasiona son irritación y hemorragias gastrointestinal con náuseas, vómito, diarrea, irritación en la vías aéreas y dermatitis (Mencías y Mayero, 2000; Moreno, 2003).

El cobre es un nutriente esencial ampliamente distribuido en la naturaleza, es utilizado para producir entre otras cosas utensilios, nutrientes, monedas, fertilizantes y plaguicidas. Es un componente esencial de múltiples enzimas, como las oxidasas que juegan un papel fundamental en el metabolismo energético de la célula. También forma parte de la enzima superóxido dismutasa, responsable de la reducción del radical superóxido a agua oxigenada, un proceso de desintoxicación que protege a la célula de la acción oxidante de dicho radical. El exceso de cobre puede ocasionar una intoxicación caracterizada por la pérdida de funcionalidad de las enzimas antes mencionadas, necrosis o lesiones hepáticas. La principal vía de absorción es la oral y se transporta unido a la albumina y las metalotioneínas (Moreno, 2003).

Existen además otros contaminantes frecuentes en las presas que pueden afectar la calidad del agua, los cuales incluyen la materia orgánica, los nutrientes y las bacterias derivadas de los aportes de agua residual. Todo lo anterior implica la afectación de la comunidad de organismos que viven en las presas, cuyas condiciones requieren ser estudiadas. Sin embargo, la complejidad de las comunidades impide, en ocasiones, evaluar a todos los organismos, es por ello que se hace uso de biomonitores.

2.2. Biomonitores

Los biomonitores son organismos vivos que pueden utilizarse a escala individual, de comunidad o de ecosistema debido a su elevada sensibilidad y a que acumulan contaminantes y manifiestan sus efectos a nivel: bioquímico, genético, reproductivo, histológico, anatómico y fisiológico (Capó, 2002; Adams, 2002; Rosenberg *et al.*, 2008; Prat *et al.*, 2009). Los ejemplares que se pretendan implementar como biomonitores o centinelas deben ser escogidos con gran cautela, ya que los resultados de las investigaciones que se efectúen en ellos deben permitir hacer inferencias sobre lo que podría estar sucediendo con la mayoría de las especies que habitan un determinado ecosistema. A este tipo de análisis se les denomina ecotoxicológicos (Capó, 2002). De acuerdo con Tataruch y Kierdorf (2003), una especie biomonitor debe poseer las siguientes características:

- Debe distribuirse en una o varias áreas grandes para que pueda ser considerado representativo. El sitio donde se pretende hacer el estudio debe estar inmerso en su área de distribución.
- Su colecta no debe representar un gran esfuerzo, por lo que debe ser de fácil acceso, manipulación e identificación.
- Su densidad poblacional debe ser lo suficientemente alta, como para no afectar demasiado su dinámica poblacional dado que los organismos se extraerán de su medio natural.

- Deben poseer un tamaño corporal adecuado como para poder realizar mediciones corporales y extracción de biopsias u órganos completos que permitan garantizar los análisis necesarios en laboratorio.
- Debe formar parte de la cadena trófica del sitio u ecosistema.
- Debe ser sensible y resistente a los contaminantes presentes en su medio como para manifestar efectos en sí mismo, pero sin comprometer su descendencia.
- Deben poseer un ciclo de vida largo. Ello permite que acumulen más contaminantes y se puedan observar más efectos a lo largo del tiempo.
- De ser posible deben tener algún parámetro fisiológico, bioquímico o de otro tipo, o alguna importancia como recurso; que permita establecer en menor o mayor medida si existe un riesgo para la salud humana.

2.3. Los vertebrados como biomonitores: Peces

El uso de los vertebrados como biomonitores asociados a la evaluación de la calidad del agua ha constituido una herramienta muy interesante dentro de la investigación ambiental, debido a que cumplen con varios de los requisitos necesarios para su implementación en los estudios ecotoxicológicos, ejemplo de ello son:

- Su amplia distribución, ya que habitan prácticamente en casi todos los ambientes geográficos del mundo conocidos por el ser humano.
- Su gran variedad taxonómica, los vertebrados están ampliamente estudiados, por lo que la identificación y obtención de información de una especie se encuentra ampliamente referenciada.

- Poseen ciclos de vida largos lo que permite acumular y evidenciar efectos cronológicos de los tóxicos a los que estuvieron expuestos durante su vida.
- Los métodos de muestreo son relativamente económicos y relativamente fáciles en su implementación (Tataruch y Kierdorf, 2003).

Algunos autores han mencionado que los peces son el grupo de organismos vertebrados más diverso en el planeta tierra (Nelson, 1994; Duncan y Lockwood, 2001). Estos se han utilizado como bioindicadores para realizar estudios vinculados a la calidad del agua de un área particular. Son útiles para la comunicación de resultados y manifiestan los efectos que son ocasionados por un determinado número de compuestos químicos o contaminantes en un ecosistema, lo que facilita sensibilizar al público y a las autoridades sobre la necesidad de preservar las buenas condiciones de los cuerpos de agua (Nelson, 1994; Cowx y Collares-Pereira, 2002). Representan una excelente herramienta que puede coadyuvar en la toma de decisiones en materia ambiental (Angermeier y Schlosser, 1995; Boulton, 1999; Karr *et al.*, 1986; Soto *et al.*, 1998; Kestemont *et al.*, 2000; McDowall y Taylor, 2000; Oberdorff *et al.*, 2002). Además de ser considerados como los mejores indicadores de degradación acuática (Faush *et al.*, 1990; Scott y Hall, 1997; Wichert y Rapport, 1998).

Hay varios argumentos a favor del uso de los peces en los estudios ecotoxicológicos, para la descripción de los sistemas acuáticos y para la evaluación de las alteraciones en un hábitat en específico (Noss, 1990; Cairns *et al.*, 1993; Boon *et al.*, 2000; Schiemer, 2000; Schmutz *et al.*, 2000). Algunos de esos argumentos son:

- La mayor parte de las especies de peces presentan el fenómeno de migración en determinadas temporadas y en determinadas regiones del planeta, ello les permite que puedan fungir como indicadores de conectividad del hábitat (Jungwirth, 1998; Chovanec *et al.*, 2002).
- Las fluctuaciones en las variables ambientales de un determinado hábitat pueden influir en las etapas o fases larvarias y juveniles de los peces (Schiemer *et al.*, 1991; Keckeis *et al.*, 1996).
- El tamaño y peso de los peces permiten ejecutar análisis detallados en laboratorio dado que las muestras de tejidos son más grandes con respecto a otros organismos acuáticos o terrestres, como es el caso de los insectos, por lo que se puede generar información basta sobre los efectos que ocasiona la contaminación presente el agua de un sitio.
- Al ser consumidores primarios y secundarios dentro de la red trófica, tienden a reflejar las condiciones tróficas en los sistemas acuáticos.
- Los datos de concentraciones de contaminantes químicos o lesiones en los tejidos que componen los órganos de los peces permiten modelar los cambios en los ecosistemas naturales.
- Los peces representan una importante fuente de proteínas para el ser humano, por lo que el efectuar estudios encaminados a la evaluación de su calidad como alimento requiere efectuar estudios constantes y profundos para determinar su condición y por defecto comprender las condiciones del medio acuático de donde fue extraído.

La biomonitorización implementada con peces debe satisfacer y cumplir con criterios estipulados por normas ambientales y de salud encaminadas al consumo humano y a la evaluación del medio acuático natural (Cairns *et al.*, 1993; Yoder y Rankin, 1995; Karr y Chu, 1999; Chovanec *et al.*, 2000).

El uso de los peces como biomonitores puede visualizarse y aplicarse a escala local, regional o de paisaje. Existen tres categorías principales en las que los peces pueden ser clasificados como centinelas (Cairns *et al.*, 1993):

1. Indicadores de cumplimiento: Especies que poseen características bien estudiadas y definidas en condiciones ideales, pueden ser utilizadas en estudios cuyos objetivos son a corto plazo y permiten caracterizar algunas condiciones de un ecosistema acuático.
2. Indicadores de diagnóstico: Especies nativas o introducidas que permiten evaluar el estado actual de un ecosistema acuático y determinar las causas que lo afectaron.
3. Indicadores de alerta temprana: Especies altamente sensibles a cambios ambientales y que permiten gestionar las acciones que deberán realizarse antes de que se susciten eventos que puedan poner en riesgo un sistema acuático.

Los peces tienen la capacidad de responder tempranamente a las sustancias químicas generadas por el ser humano que ingresan a su medio, debido a vertidos intencionales o por las actividades industriales o agrícolas. Los contaminantes por lo general

producen cambios a nivel celular, bioquímicos, de comportamiento, desarrollo y reproducción en los peces. Los niveles de tóxicos que suelen acumularse en los tejidos considerados como referencia, como por ejemplo el hígado, se consideran buenos indicadores de la carga ambiental de una sustancia tóxica que se encuentra en un ambiente particular. Existen dos rutas principales por las cuales las sustancias químicas tienen la capacidad de ingresar al organismo para después utilizar como vehículo el sistema circulatorio y posteriormente almacenarse en los órganos internos de los ejemplares. Dichas rutas son (Markert *et al.*, 2003):

1. La respiratoria, constituida por las branquias de los peces, ya que es la estructura que lleva a cabo el intercambio gaseoso, además de tener contacto directo con el agua y los posibles tóxicos que puedan estar presentes.
2. La vía oral por contacto con el agua y la asimilación de alimentos que pueden contener químicos.

Las sustancias químicas que tienen afinidad a las grasas (o lipofílicas), suelen almacenarse preferentemente en los tejidos adiposos, en músculo y en membrana. Las membranas biológicas funcionan como barreras naturales, pero las sustancias lipofílicas tóxicas suelen atravesarlas y metabolizarse lentamente (Geyer *et al.*, 1994; Thomann, 1989; Suedel *et al.*, 1994; Mackay y Fraser, 2000).

Los dos órganos que son considerados como referencia por tener la capacidad de acumular metales y plaguicidas en los peces y en los organismos en general, son el hígado y los riñones. Otros órganos, sin embargo, pueden verse afectados por estos

compuestos, como es el caso de las branquias. Si bien estas no acumulan tanto, sufren daño cuando existen sustancias químicas presentes en el agua, debido a la gran superficie de contacto que representan y por su permeabilidad. Algunos efectos que se han podido observar en las branquias por exposición a tóxicos son: necrosis del epitelio laminar, fusión de las laminillas de las branquias, hiperplasia y aumento en el número de células mucosas (Mallatt, 1985; Shephard, 1994).

Las concentraciones de los tóxicos pueden variar en cada órgano, ya que tienen diferente capacidad de captación, almacenamiento y eliminación de un contaminante. Cuando un pez se expone por corto tiempo a un tóxico, las branquias, el sistema digestivo y el hígado presentan niveles altos de un tóxico en particular respecto a los demás órganos; mientras que las concentraciones de tóxicos suelen incrementarse en los riñones, los huesos y los músculos conforme pasa el tiempo, o en exposición crónica (Olson *et al.*, 1978; Kock *et al.*, 1996).

El hígado es el órgano encargado de metabolizar los tóxicos, los transforma en metabolitos menos complejos y por lo tanto menos tóxicos, estos son eliminados posteriormente a través de las heces (Markert *et al.*, 2003). En los peces, el órgano más sensible a las sustancias tóxicas es el hígado, estas sustancias pueden generar inflamación hepática, necrosis y fibrosis (Couch, 1975; Hinton y Lauren, 1990; Braunbeck, 1998).

El análisis de biomarcadores en peces utilizados como biomonitores es imprescindible si se pretende hacer un diagnóstico de las condiciones en que se desarrollan estos

organismos dentro en un cuerpo acuático posiblemente contaminado. Se pueden cuantificar las metalotioneínas tanto en el hígado, como en los riñones y el músculo. La síntesis de estas proteínas es inducida por la exposición a diversos metales, tales como: cadmio, cobre, plomo, cromo, mercurio, entre otros. Las metalotioneínas juegan un papel importante en la regulación y desintoxicación de los metales presentes en el cuerpo. La cantidad de metalotioneínas está directamente ligada a la cantidad de metales que ingresaron a un organismo (Roesijadi, 1992).

Otro biomarcador que puede analizarse en tejido muscular y hepático en los peces es la actividad de la acetilcolinesterasa. Este suele utilizarse para evaluar los efectos de plaguicidas del tipo carbamatos y organofosforados (Hoffman *et al.*, 2002).

2.4. La tilapia como biomonitor

Las tilapias (*Oreochromis* sp.) son organismos conocidos por su gran capacidad de adaptación. Se distribuyen en regiones tropicales del mundo. Aun cuando estos peces presentan una gran resistencia física a diferentes condiciones ambientales, se consideran buenos organismos indicadores, ya que cuentan con diversas características que los hacen ideales para evaluar los efectos de tóxicos. Algunas de estas características son (Ramírez y Mendoza, 2008):

- Tasa de crecimiento acelerado.
- Periodos reproductivos continuos.
- Alta tasa de fecundidad.

- Alta resistencia a enfermedades.
- Tolerancia a variaciones de temperatura en su hábitat.
- Distribución en aguas semicálidas y cálidas.
- Hábitos alimentarios omnívoros.
- Alto valor proteínico y comercial.
- Bioacumulación de metales y plaguicidas en órganos diana y músculo.
- Manifiestan los efectos de los contaminantes a los que estuvieron expuestos a través de modificaciones: morfométricas, morfológicas, fisiológicas, reproductivas y genéticas.

En México existen tres especies de tilapias del género *Oreochromis*: *O. mossambicus*, *O. aureus* y *O. niloticus* (SAGARPA, 2012). Presentan un ciclo de vida definido mediante etapas, tales como: huevo, alevín, cría, juvenil y adulto. El intervalo óptimo de temperatura para la crianza de la tilapia va de los 20 a los 30°C. Por debajo de los 15°C no crecen y para su reproducción requieren de 24 a 29°C. Los machos alcanzan su madurez sexual entre los 4 a 6 meses, mientras que las hembras entre los 3 a 5 meses. De los 6 a los 12 meses alcanzan un peso que va de los 250 a 500 g, con una longitud que va de los 12 a 15 cm. La concentración mínima de oxígeno disuelto ideal para su sobrevivencia y crecimiento es de 5 mg/L, pudiendo tolerar hasta un mínimo de 1 mg/L. En cuanto al pH, el ideal está entre 7 y 9. Valores menores a 5 o mayores a 11 pueden ocasionar su muerte. Las tilapias tienen una amplia aceptación en el

mercado por su alto valor nutricional. En México, las tallas que tienen mayor comercialización se encuentran entre los 150 y 500 g, y para fines de fileteo y exportación entre los 800 g a 1 Kg (SAGARPA, 2006, 2012; Saavedra, 2006).

Diversas sustancias tóxicas afectan la calidad de la tilapia como recurso explotable y representan un riesgo a la salud humana, tal es el caso de metales como el cadmio, el plomo, el cromo y el cobre, y algunos plaguicidas como los carbamatos.

En México se han establecido límites máximos permitidos (LMP) de diversos tóxicos; para venta y consumo de pescado fresco y refrigerado la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011), indica un máximo aceptable de 0.5 mg/Kg de cadmio (Cd) y 1.0 mg/Kg de plomo. No obstante, para el caso de los plaguicidas del grupo de los carbamatos, como el Benomilo, se contempla un límite de 0.1 mg/Kg para productos cárnicos provenientes de bovinos, equinos, porcinos y ovinos. En nuestro país no hay un límite establecido de este producto químico para productos pesqueros, por lo que es necesario remontarse a la norma antes citada.

2.5. Estudios ecotoxicológicos *con Oreochromis niloticus*

A nivel internacional *O. niloticus* se ha utilizado para efectuar análisis de riesgo a la salud humana por su consumo en Egipto, en donde cuantificaron metales pesados como: aluminio, arsénico, cadmio, cobre, cromo, fierro, plomo, manganeso, mercurio y zinc en tejido muscular (Authman, 2008; Essa y Rateb, 2011; Osman, 2012; Saeed y Shaker, 2008; Arafam y Ali, 2008; Wael *et al.*, 2012); asimismo en el norte de Ghana (Adazabra *et al.*, 2014), Nigeria (Ekpo *et al.*, 2013; Muhammad *et al.*, 2013; Edem *et*

al., 2009), India (Chatterjee *et al.*, 2006), Sudán (Mohamed y Osman, 2014), Etiopia (Mulu y Mehari, 2013), Malasia (Taweel *et al.*, 2011), Turquía (Yilmaz, 2009), Arabia Saudita (El-Sayed *et al.*, 2013), Sri Lanka (Chandrasekara y Pathiratne, 2007), Brasil (Cleoni Dos Santos *et al.*, 2012) y Perú (Pezo *et al.*, 1992).

En México se ha analizado a la tilapia (*O. niloticus*) en diversos estudios. Se ha utilizado como biomonitor en la laguna de Metztlán, estado de Hidalgo para la cuantificación de metales (Lozada-Zarate *et al.*, 2006), en la presa Fernando Hirirart Balderrama de Hidalgo se cuantificó y evaluó la toxicidad del arsénico en esta especie (Báez, 2001). En el estado de Tamaulipas se cuantificaron metales pesados en ejemplares pertenecientes al cuerpo acuático el Laguito de Nuevo Laredo (Ramos *et al.*, 2004). En el estado de Chiapas se cuantificaron metales y sus efectos en este pez a través de biomarcadores (Gold-Bouchot *et al.*, 2006). En Quintana Roo se evaluó la toxicidad de los sedimentos contaminados por metales y se expusieron a estos, ejemplares de *O. niloticus* (Zapata-Pérez *et al.*, 2000). En Aguascalientes se cuantificaron y se estudiaron los efectos que les ocasionan los metales presentes en lixiviados de biosólidos de una planta de tratamiento (Flores *et al.*, 2010).

En México se ha llevado a cabo la evaluación preliminar de la presencia de pesticidas organoclorados en peces de la Presa Vicente Guerrero, Tamaulipas (Uresti *et al.*, 2008); también se han determinado niveles de plaguicidas en *Cyprinus carpio* y *O. niloticus* del lago de Tecocomulco, Hidalgo (Aguilar *et al.*, 2008). En la presa de Aguamilpa, Nayarit, se cuantificaron plaguicidas organoclorados en esta última especie (Aranguré *et al.*, 2011). En el mismo estado de Nayarit, pero en una granja

acuícola se evaluaron los efectos de clorpirifos sobre su respuesta inmune (Díaz-Resendiz y Girón-Pérez, 2014). En el estado de Tabasco se cuantificaron organofosforados en ejemplares de las lagunas el Yucateco y Santa Anita (Rodríguez-Fuentes y Gold-Bouchot, 2000). En Guadalajara se midieron y evaluaron los efectos del endosulfán en la misma especie encontrando un incremento de la actividad fagocítica y la producción de especies reactivas al oxígeno (Téllez-Bañuelos *et al.*, 2010).

2.6. El análisis de riesgo ecológico (ERE) y *Oreochromis niloticus*

La evaluación del riesgo ecológico es un procedimiento científico que evalúa y asigna probabilidades a los posibles efectos generados por las actividades humanas sobre el entorno (Chapman y Ramírez-Romero, 2006; Suter, 1993). La ERE identifica las interacciones de múltiples estresores como por ejemplo metales y plaguicidas en el ecosistema y cómo influyen estos sobre sus componentes (USEPA, 1992). La utilidad de la ERE radica en su influencia para apoyar la toma de decisiones para el manejo del ambiente, desarrollo de criterios de calidad del agua, identificar problemas ambientales, proveer una base científica para acciones regulatorias, instrumentar e implementar programas de restauración, entre otras (Evans *et al.*, 2003).

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) reconoce tres pasos generales para evaluar el riesgo ecológico (USEPA, 1998)

1. Formulación del problema
2. Análisis

3. Caracterización del riesgo

Formulación del problema

En esta etapa se define el problema del sitio a evaluar y el objetivo de la evaluación. Se integra la información existente del sitio, la cual comprende: fuentes de contaminación, tipos de receptores, tipos de contaminantes presentes y sus concentraciones en los diferentes medios. El producto final de esta etapa, es un modelo conceptual que identifica los valores ambientales a ser protegidos y las rutas de exposición (USEPA, 1998).

Un elemento importante en esta etapa es la caracterización del sitio. Esta puede dividirse en dos partes. La primera de ella es la caracterización biológica y la segunda la ambiental. La caracterización biológica consiste en hacer un inventario de las especies existentes en el lugar a estudiar con el propósito de establecer cuales pueden ser considerados como indicadores de evaluación, incluyendo a las especies identificadas como amenazadas o en peligro de extinción (Suter, 1993).

La caracterización ambiental implica la búsqueda de información acerca del sitio (ubicación, fuentes de contaminación), así como el muestreo y el análisis de los medios afectados para poder conocer los contaminantes presentes y sus concentraciones. Asimismo, es necesario establecer con base en la información reunida, cuáles son los medios afectados, las rutas de exposición de los contaminantes, los tipos de receptores y las vías de exposición para cada receptor, obteniendo un modelo

conceptual, el cual es una representación gráfica de los descrito anteriormente (Suter, 1996).

Análisis (Caracterización de la exposición y caracterización de los efectos ecológicos).

En esta etapa se recaba información relacionada con la exposición ambiental y características relacionadas con el estresor o contaminante, así como su respuesta. Con respecto a la exposición se indica cómo puede ocurrir la exposición de los receptores a los contaminantes y en que magnitud, así como los aspectos relacionados con el contaminante, por su parte, la respuesta indica los potenciales efectos ecológicos que pueden esperarse si ocurre la exposición (USEPA, 1998).

Para la caracterización de los efectos es recomendable obtener concentraciones o dosis toxicológicas propias de las especies del sitio de estudio, por medio de experimentos que relacionen las diferentes dosis con el o los efectos adversos, para así encontrar la dosis o concentración en la que no se presentan efectos (USEPA, 1998).

Caracterización del riesgo

En esta última etapa, se estima el riesgo a través de la integración de la información generada en la caracterización de los efectos y la exposición. El riesgo puede expresarse como un estimado cualitativo o cuantitativo, dependiendo de la información disponible.

Una manera de caracterizar el riesgo ecológico es mediante el método del cociente de peligrosidad (Q). Este cociente se expresa como la división entre la concentración o

dosis de exposición y una concentración o dosis de referencia como la CL50, límite máximo permisible, NEANO, NEAO (USEPA, 1998).

Las principales ventajas del método son que: es relativamente simple y rápido de utilizar, es ampliamente conocido por los especialistas en el tema ya que, se ha usado en numerosos estudios y permite tener una idea de la magnitud del riesgo (Calabrese y Baldwin, 1993).

De acuerdo con la guía técnica para orientar la elaboración de estudios de evaluación de riesgo ambiental de sitios contaminados, la presente investigación llevada a cabo en la presa Tenango, Puebla es de un nivel de evaluación 1, la cual se elabora cuando se trata de áreas naturales protegidas o áreas no urbanas con actividad agropecuaria (agrícola/ganadera/piscícola, etc), donde los posibles receptores de la contaminación puedan ser:

- Especies de uso o valor económico (comercial).
- Especies protegidas.
- Ecosistemas valiosos.

Y no existe información toxicológica necesaria para la realización de a evaluación de riesgo ambiental (Ruiz, 2006).

Los argumentos anteriormente expresados describen parte del contexto de la Presa Tenango, ya que se encuentra en un área protegida, donde existe actividad agrícola, ganadera y piscícola. La agrícola esta representada por la producción de plantas de ornato, la agrícola por la presencia de cabezas de vaca destinadas a la producción de

leche y venta de su carne; mientras que la piscícola se da por el cultivo de la tilapia *Oreochromis niloticus*, la cual tiene una importancia comercial para la zona, ya que se destina para el autoconsumo y venta al público.

En la actualidad los estudios de riesgo ecológico se están volviendo muy sofisticados, debido a las necesidades y complejidad del problema ambiental que se esté presentando en un sitio determinado. En la presente investigación incorporamos el uso de sistemas de información geográfica como una herramienta que puede contribuir para entender el comportamiento de un contaminante a nivel espacial en la Presa Tenango.

Un SIG se puede definir como un conjunto de programas informáticos que sirven para captar, almacenar, recuperar, transformar, mostrar y analizar diversos tipos de datos espaciales que están previamente georreferenciados y con ellos se pueden generar mapas (Burrough y McDonell, 1998). No obstante, además de la generación de mapas adecuados, es importante siempre analizar y modelar los patrones de distribución espacial de los datos georreferenciados de una variable a través de la Geoestadística, la cual se define como el conjunto de herramientas y técnicas estadísticas utilizadas para estimar, predecir y simular datos correlacionados espacialmente (Giraldo, 2002). Ello permite analizar, describir y predecir los valores cercanos a los reales, de una variable que muestra continuidad espacial en puntos desconocidos o no medidos en un sitio. Lo anteriormente mencionado se puede llevar a cabo a través de la interpolación, la cual se define como un proceso que permite modelar variables espaciales, predecir su comportamiento, determinar los sitios o puntos de influencia y

los tiempos de duración de un fenómeno (Moral, 2004). Algunos métodos de interpolación o estimación son conocidos como Kriging y tienen como características: 1) considerar la distancia euclidiana y la geometría de localización de las muestras, 2) minimizar la varianza del error esperado y 3) muestran flexibilidad para estimar valores puntuales e integrar información extra relacionada a la misma variable. Algunos métodos de interpolación ampliamente usados en estudios ambientales son kriging ordinario (KO), kriging con deriva externa (KED), kriging universal (KU) y regresión kriging (KR), entre otros (Moral, 2004; Giraldo, 2002; Celi *et al.*, 2002; Goovaerts, 1997).

3. Pregunta de investigación

¿Estarán presentes los metales plomo y cadmio, y el plaguicida Benomilo® en el agua de la presa Tenango, y a su vez, si existen estos contaminantes, sus niveles afectarán la calidad de la tilapia *Oreochromis niloticus* que se cultiva en el sitio y podrán representar un riesgo ecológico para la zona?

4. Hipótesis

Es posible que la exposición al plaguicida y a los metales presentes en el agua de la presa Tenango afecten a la tilapia (*Oreochromis niloticus*), manifestándose esto en: su biocentración, en la respuesta de biomarcadores específicos (inhibición de acetilcolinesterasa y acumulación de metalotioneínas) y en su calidad comercial, lo cual podría asociarse a un riesgo ecológico.

5. Objetivo general

Analizar el riesgo ecológico que representa la posible exposición a los metales plomo y cadmio y el plaguicida Benomilo®, a través de la determinación de la calidad del agua de la presa Tenango y la tilapia, su bioconcentración y algunos efectos producidos en el biomonitor (niveles de acetilcolinesterasa y metalotioneínas).

6. Objetivos específicos

- 1) Caracterizar espacial y temporalmente las condiciones hidrológicas y de contaminantes específicos (plomo, cadmio y Benomilo®), de la presa Tenango, a lo largo de un ciclo anual, para establecer su calidad en función de normas oficiales mexicanas.
- 2) Determinar la calidad de la tilapia (*O. niloticus*), a través de sus atributos y concentraciones de plaguicidas y metales en hígado y músculo de acuerdo con las normas oficiales mexicanas.
- 3) Determinar el factor de bioconcentración de los contaminantes seleccionados en ejemplares de tilapia *O. niloticus*.
- 4) Cuantificar los niveles de metalotioneínas y acetilcolinesterasa en ejemplares de tilapia (*O. niloticus*).
- 5) Determinar si existe relación entre las respuestas de los biomarcadores evaluados y la calidad de la tilapia.

- 6) Establecer mediante técnicas geoestadísticas y un modelo de riesgo ecológico, el peligro asociado a los niveles de contaminantes presentes en el agua y la tilapia de la presa Tenango.

7. Metodología

7.1. Área de estudio

La zona de estudio fue la presa Tenango y sus alrededores. Esta presa está ubicada en la Sierra Norte del Estado de Puebla, junto al poblado de Tenango de las Flores que pertenece al municipio de Huachinango (**Fig.1**). Está situada a 1472 msnm, entre los paralelos $20^{\circ} 12' 12.8''$ de latitud norte y $97^{\circ} 59' 26.8''$ de longitud oeste, formando parte de la cuenca hidrográfica del Río Necaxa (Cerón-Carpio *et al.*, 2012).

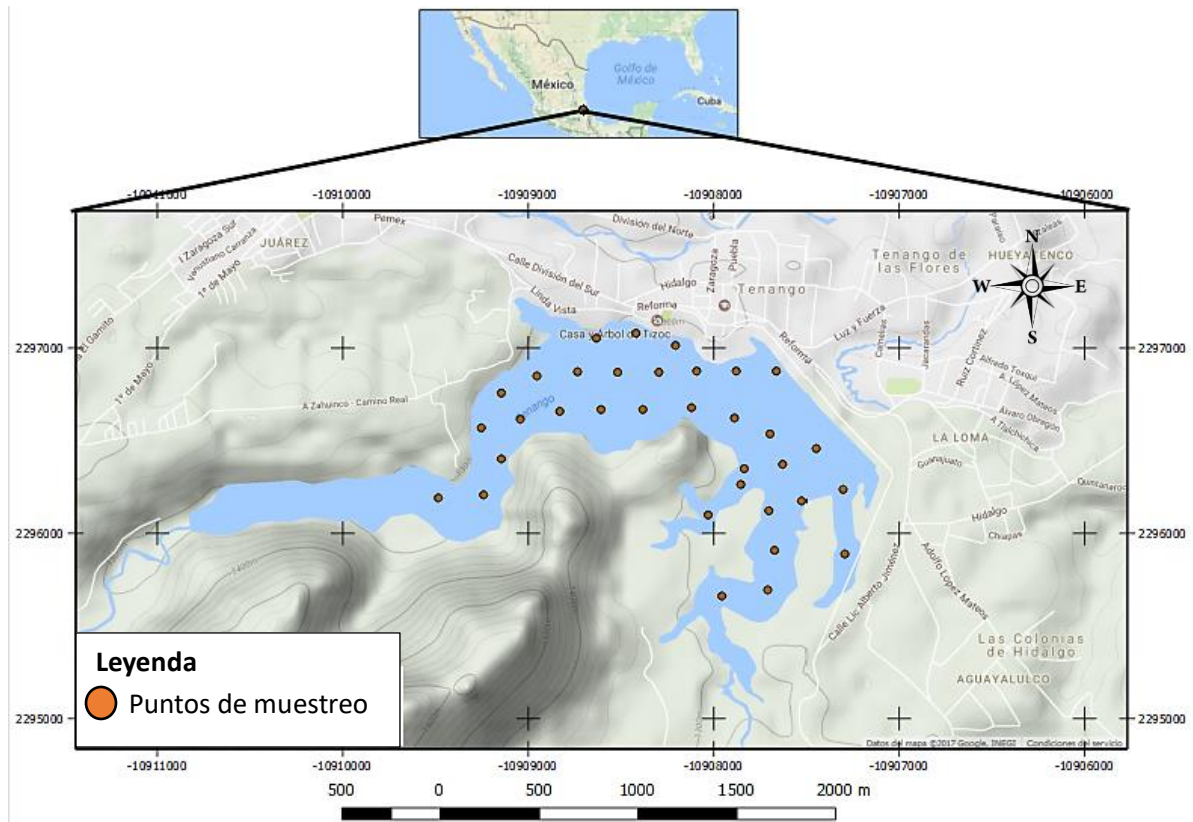


Fig. 1. Ubicación de la presa Tenango en la Sierra Norte de Puebla.

La presa pertenece al sistema hidroeléctrico Necaxa. Las dos fuentes principales de agua que abastecen a la presa Tenango son las presas Acatlán y Nexapa, las cuales están conectadas a través de túneles. A su vez, la presa Tenango abastece de agua a la presa Necaxa para la generación de energía hidroeléctrica (INE-UACH, 2007).

El clima de la zona corresponde a templado húmedo con lluvias todo el año. La precipitación media anual oscila entre 1 400 y 2 300 mm. Las temperaturas máximas oscilan entre los 24°C y 30° C, mientras que las mínimas van de 3°C a 15°C siendo el mes de enero el más frío y mayo el mes más caliente (INEGI, 2005a). Geológicamente, el lugar está formado por calizas, lutitas, limolitas y rocas metasedimentarias (INE-

UACH, 2007). El tipo de suelo se encuentra representado por un 60% de Andosol, 23% Luvisol y 16% Regosol (INEGI, 2004).

La flora del lugar forma un complejo de vegetación secundaria que coexiste con áreas conservadas, además de zonas de pastizales y agrícolas. El 52% de la superficie de la zona se dedica a la agricultura siendo el maíz, el café y las plantas de ornato los principales cultivos. El 48% restante está cubierto por bosques de pino, encino y mesófilo de montaña, así como por selva mediana (INEGI, 2005 b).

La presa Tenango es utilizada como atractivo turístico, por lo que los habitantes ofrecen a los visitantes paseos en lancha, campamento, venta de artesanías y plantas de ornato. También los turistas pueden consumir tilapias (*Oreochromis niloticus*) que son extraídas directamente de la presa. En los alrededores de la presa existen zonas de cultivo de plantas de ornato (crisantemo, gardenia, clavel, rosas, noche buena, flor de cempasúchil, orquídeas, etc.), para lo que se utilizan fertilizantes químicos y plaguicidas. Algunos productos químicos que se utilizan son: Nitrofosca azul, Nitrato chileno, Urea, 94515, Triple 20 y Multi-npk como parte de los nutrientes para enriquecer el suelo y las plantas. Entre los plaguicidas utilizados se encuentran: Benomilo®, Folicure®, Talstar®, Tecto 60®, y Amistar® para el combate de hongos; para eliminar insectos se utilizan: Furadan®, Dioxinon®, Foley® y Compo®; y para eliminar nematodos: Nemacur® y Etoprop®. Estos plaguicidas se aplican todo el año, siendo el Benomilo® y el Furadan®, los dos productos más utilizados en la zona.

Por otro lado, se pueden detectar aportes de agua residual generados desde las casas ubicadas en la periferia de la presa Tenango debido a la falta de drenaje, así como botellas, ropa, desperdicios de comida y llantas en las orillas de la presa. Cabe destacar que no existe en la literatura algún estudio de evaluación de la calidad del agua en este sitio.

El conocimiento de la calidad del agua de esta presa puede permitir establecer un diagnóstico sobre los niveles de contaminantes (Benomilo y metales) presentes y sus riesgos asociados al contacto o utilización de este líquido vital. Para ello se propuso llevar a cabo un análisis del agua de la presa y de la tilapia que se cultiva en ella. En este se caracterizó la calidad del agua y de la tilapia, así como los contenidos de los contaminantes relevantes, y se incluyó el análisis de biomarcadores vinculados a la toxicidad asociada a dichos contaminantes. Para la determinación del riesgo asociado se analizó a través de SIGs el comportamiento de los parámetros y finalmente se aplicó un modelo de riesgo (**Fig. 2**).

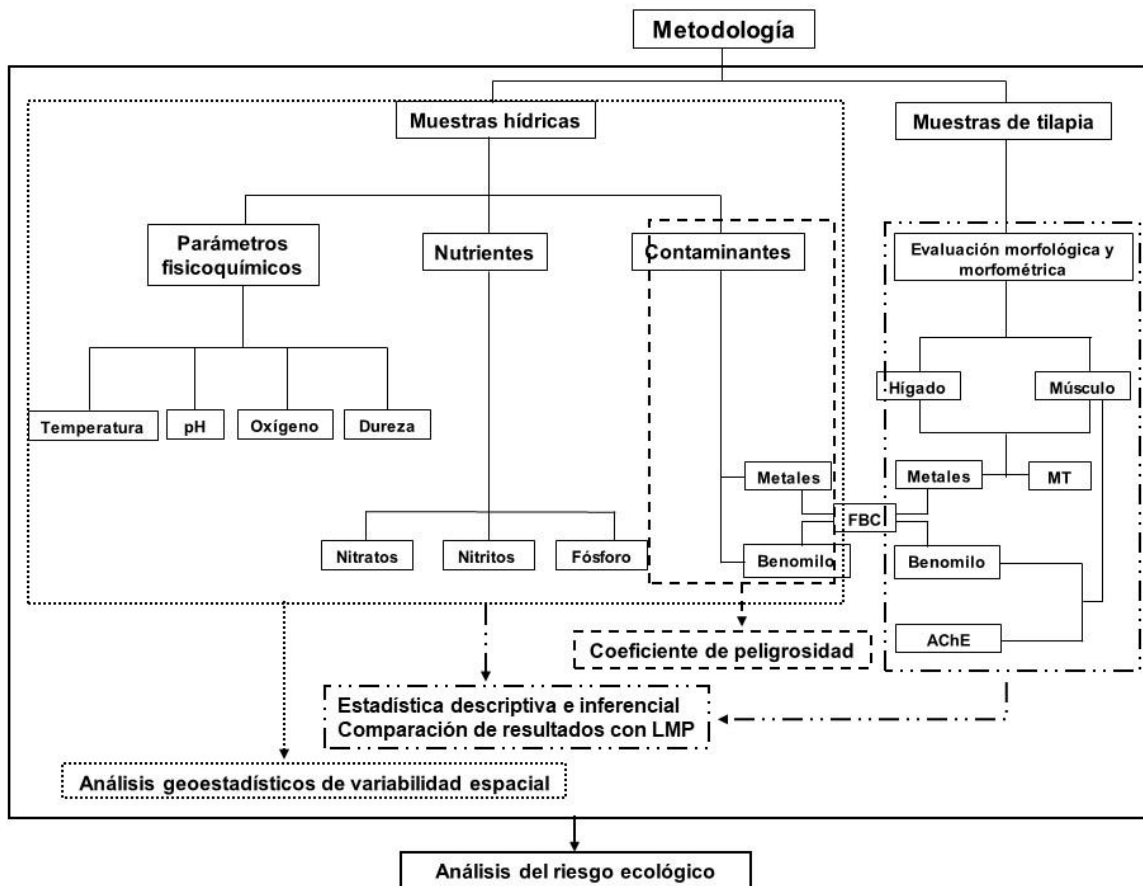


Fig. 2. Esquema general de trabajo implementado en el proyecto de investigación.

7.2. Trabajo de campo

Se realizaron 5 salidas al campo (enero, abril, junio, septiembre y noviembre) durante el año 2015. Las salidas tuvieron una duración de 3 a 4 días cada una. Para la obtención de muestras hidrológicas se establecieron 34 estaciones de colecta, las cuales tuvieron una distancia de separación de 350 metros entre estaciones, ello permitió cubrir la totalidad de la Presa Tenango cuyo tamaño es de 341 hectáreas.

Se midieron *in situ* valores de temperatura y oxígeno disuelto con un oxímetro YSI54A (± 0.05 mg/L), el pH se determinó utilizando un potenciómetro de campo Hanna HI981 (± 0.005 unidades de pH, ± 0.005 °C).

Para cuantificar los niveles de dureza y los nutrientes se tomaron muestras de agua a nivel superficial con botellas de plástico de un litro previamente lavadas con Extrán libre de fosfatos y enjuagadas con agua destilada (APHA, 1992). Estas muestras de agua fueron etiquetadas y colocadas en hielo inmediatamente para ser transportadas en frío hasta el laboratorio de Ecotoxicología en la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, donde fueron procesadas.

Para la colecta de muestras de agua para metales y Benomilo se siguieron las recomendaciones de APHA (1992). Para metales se utilizaron botellas de plástico de un litro que llevaron un lavado previo especial con Extrán, inmersión durante 24 horas en HNO₃ al 10% y un enjuague con agua destilada. Las muestras se tomaron manualmente y se les adicionó un mililitro de HNO₃ para fijarlas. En tanto que, para el análisis del Benomilo, la muestra se tomó en frascos de vidrio ámbar de un litro con tapa de metal; estas llevaron un lavado con Extrán, enjuague con agua destilada, acetona grado analítico y hexano. Estas muestras de agua fueron etiquetadas y colocadas en hielo inmediatamente para ser transportadas en frío hasta el laboratorio de Ecotoxicología, donde se conservaron congeladas a -20°C hasta su procesamiento.

En cada salida al campo se capturaron 30 ejemplares de tilapia de *Oreochromis niloticus* con la ayuda de los pescadores y redes de enmalle de hilo monofilamentado de nylon.

Se procedió a tomar datos morfométricos como talla y peso a cada ejemplar, también se hizo una inspección visual de las características morfológicas: fisonomía del ojo, aspecto de las branquias, la presencia de heridas, lesiones, hematomas, deformaciones, tumores, color de la piel y apariencia general, de acuerdo con el manual de producción de tilapia de la SAGARPA (2006), en el cual se estipulan los lineamientos de calidad que debe tener la tilapia para su venta al público y a los restaurantes.

De cada ejemplar se extrajeron muestras de hígado y músculo. Las porciones de tejidos destinadas a la cuantificación de Benomilo fueron obtenidas utilizando instrumentos de metal, mientras que las muestras que fueron destinadas para la cuantificación de metales y metalotioneínas fueron obtenidas con instrumentos de plástico para evitar posible contaminación de trazas metálicas. Las muestras fueron colocadas por separado en frascos de vidrio que fueron previamente lavados con Extrán y dejados por 24 horas en HNO₃ al 10% y enjuagados con agua destilada para el caso de las muestras que se destinaron a la cuantificación de metales y en el caso de aquellas que fueron destinadas a la cuantificación de Benomilo, los frascos fueron lavados también con Extrán y enjugados con agua destilada, acetona grado analítico y hexano (APHA, 1992; Lozada-Zarate *et al.*, 2006). Una vez obtenidas las muestras de tejido, estas fueron etiquetadas y transportadas en frío hasta el laboratorio de Ecotoxicología para su análisis.

7.3. Trabajo de laboratorio

7.3.1. Dureza

Esta se midió por el método de titulación con adición de EDTA. Se determinó a partir de una muestra de 25 mL a la cual se agregó 1 mL de solución buffer de dureza (Hardness¹) y una almohadilla indicadora de dureza (Man ver 2). Se uso un titulador digital para liberar EDTA (0.08M) y un agitador para favorecer la mezcla de los reactivos en la muestra hasta obtener un viraje a color azul. El valor obtenido en el titulador se multiplicó por el factor de corrección que está en función de la concentración de EDTA (factor de corrección 0.4) (Contreras, 1984; Goetz y Smith, 1959).

Para la medición de los nutrientes (nitratos, nitritos y fósforo) se utilizó un espectrofotómetro HACH modelo DR/2500. Los métodos implementados se describen a continuación.

7.3.2. Nitratos

Se utilizó el método de reducción con cadmio, para ello se utilizó una almohadilla de Nitriver 5 Nitrate en 25 mL de muestra. Se depositó una pequeña cantidad (5 mL) en una celda y se colocó en el espectrofotómetro para su lectura con el programa 355 a una longitud de onda de 500 nm (Contreras, 1984; Wood *et al.*, 1967).

7.3.3. Nitritos

Se utilizó el método de diazotización, para lo que se tomó una muestra de 25 mL, a la que se agregó una almohadilla de Nitriver 2 Nitrite y luego de disolverla, una porción de esta mezclas leyó en el espectrofotómetro mediante el programa 371 a una longitud de onda de 507 nm (Bendschneider y Robinson, 1952; Contreras, 1984).

7.3.4. Fósforo

El fósforo total se determinó por el método de oxidación con persulfato de sodio. Para ello se agregó una almohadilla de persulfato de potasio en una muestra de 25 mL y se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico 5.25 N, posteriormente se colocó en baño María por 30 minutos y se dejó enfriar para agregar 2 mL de hidróxido de sodio 5.0 N, para finalmente dar lectura con el programa 215 a una longitud de onda de 840 nm (Contreras, 1984; Menzel y Corwin, 1965).

7.3.5. Medición de metales en agua

La determinación de los metales plomo, cadmio, cromo y cobre se efectuó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica Varian 220 FS y la NMX-AA-051-SCFI-2001 (Secretaría de Economía, 2001), que establece la técnica para determinar metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Las muestras de agua colectadas en campo fueron llevadas a un pH de entre 1 y 2, utilizando un potenciómetro de campo Hanna modelo HI981 y agregando HNO₃

grado analítico marca Fermont. Finalmente, las muestras fueron refrigeradas a 4 °C hasta cuantificar los niveles de metales con el espectrofotómetro de forma directa.

7.3.6. Medición de metales en hígado y músculo

Para la evaluación de los metales plomo, cadmio, cromo y cobre bioacumulados en los tejidos del pez, se procedió al pesado de las muestras de hígado y músculo, y posteriormente a su secado en una estufa a 40 °C hasta obtener peso constante. Posteriormente se colocaron 0.5 g de muestra en un vaso de teflón y se le adicionó 5 mL de HNO₃ grado analítico para su digestión en microondas CEM MARSX5 a 170 °C por 20 minutos (EPA, 1995). La muestra resultante sin filtrar se aforó con agua desionizada hasta 30 mL para su análisis con un espectrofotómetro de absorción atómica Varian 220 FS (Lozada-Zarate *et al.*, 2006).

7.3.7. Medición de Benomilo/Carbendazim en agua

Se utilizó el Kit Elisa Abraxis Benomyl/ Carbendazim. Con la microplaca que viene por defecto se procedió a colocar en los primeros 14 pocillos 50 µL de solución estándar. En los pocillos restantes se colocaron 50µL de muestra de agua. Posteriormente se adicionaron 50 µL de enzima conjugada a todos los pocillos de la placa, a continuación, se agregaron 50 µL de solución anticuerpo en cada pozo y se cubrieron con parafilm, para evitar que se derrame el contenido debido a que se hicieron suaves movimientos circulares a toda la placa sobre una mesa plana para mezclar los reactivos presentes en los pocillos. Después se dejó incubar por 60 min a temperatura ambiente. Pasado

este tiempo de incubación, se retiró el parafilm y se dio paso a la agitación de la placa para retirar todo el contenido de los pozos y se hizo el posterior lavado los mismos con 250 μ L de solución tampón. Se adicionaron posteriormente 100 μ L de solución sustrato/color en los pocillos y se volvieron a tapar con parafilm para efectuar nuevamente los movimientos circulares de la placa en una mesa plana. Posteriormente se dejó incubar durante 30 min a temperatura ambiente. Concluido este paso se adicionaron 50 μ L de solución stop en los pocillos de la placa y se dio paso a la lectura en un lector de ELISA a 450 nm.

7.3.8. Medición de Benomilo/Carbendazim en hígado y músculo

La cuantificación del plaguicida en tejido hepático y muscular también se llevó a cabo a través del kit Abraxis de Elisa Benomy/ Carbendazim. Se procedió a la digestión de los tejidos a través del método NOM-028-ZOO-1995 (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1995). Para ello se utilizaron 2 g de muestra, los cuales se colocaron en tubos de ensaye de 5 mL. Se les adiciono 1.5 mL de agua destilada para molerlos con un homogenizador de tejidos. Posteriormente con micropipeta de 1000 μ L se transfirió un 1 mL del tejido homogeneizado a tubos Ependorf de 1.5 mL. Se adicionó a continuación 0.5 mL de metanol al 10%. Después se agitó por 10 min con un vortex a 400 rpm y se colocó en una centrifuga refrigerada a 300 rpm por 10 min a 8 °C. El sobrenadante obtenido se pasó a otros tubos Ependorf de 1.5 mL y se centrifugó de nuevo. A las muestras resultantes se les adicionó 7 mL de acetato de etilo. Después se agitó por 10 min mediante un agitador Vortex a 400 rpm, la mezcla

se centrifugo a 3000 rpm por 10 min a 8°C y se filtró el sobrenadante. Con los sobrenadantes se procedió a efectuar los pasos descritos en la medición del plaguicida en agua.

7.3.9. Evaluación de la calidad del agua y la tilapia

La calidad del agua se evaluó a partir de la comparación de las concentraciones de los parámetros fisicoquímicos, nutrientes y contaminantes medidos en el agua con los niveles máximos permitidos para uso urbano y protección a la vida acuática de la Ley Federal de Derechos en materia de agua (CONAGUA, 2016). En el caso del fungicida Benomilo/Carbendazim no existen límites establecidos en México, por lo que se utilizaron los límites ambientales publicados por Dang y Smit (2008).

Para establecer la calidad del pez como producto de consumo, se utilizaron las especificaciones de calidad estipuladas en el manual de producción de tilapia de SAGARPA (2006) para su venta y comercialización. En el manual se estipulan los atributos morfométricos como talla y peso, así como la morfología externa. También con los niveles de metales detectados en los tejidos como hígado y músculo del organismo de estudio, se compararon con los límites máximos permitidos por la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011) y la legislación brasileña para alimentos destinados al consumo humano (LBMP, 2017). Para el caso del fungicida Benomilo/Carbendazim se utilizó la NOM-004-ZOO-1994 (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1994) para productos cárnicos destinados al consumo humano, debido a que en el caso de peces no existen límites en las normas mexicanas.

7.3.10. Factor de bioconcentración

A partir de las mediciones de los contaminantes (metales y Benomilo/Carbendazim) en el agua y los tejidos, se procedió a determinar el Factor de Bioconcentración (FBC) a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Ecuación 1. } FBC = \frac{\text{Concentración del contaminante en tejido}}{\text{Concentración del contaminante en agua}}$$

La regla general establece que un BCF > 1.0 significa que el contaminante es potencialmente bioacumulable y un BCF > 100 altamente bioacumulable (Badii *et al.*, 2005).

7.3.11. Biomarcadores en hígado y músculo en tilapia

7.3.11.1. Metalotioneínas

La producción de metalotioneínas se evaluó por la técnica de saturación de plata de Scheuhammer y Cherian (1986), que consiste en la sustitución de los metales unidos a las metalotioneínas, por la plata, ya que este metal es más afín a estas proteínas. Las muestras de hígado y músculo fueron homogenizadas con 4 volúmenes de sacarosa 0.25 M (relación 1:4; peso: volumen) y posteriormente los sobrenadantes fueron congelados a $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador REVCO para su posterior procesamiento. Después se tomaron 400 μL de sobrenadante y se le adicionaron 400 μL de buffer de glicina (0.5 M) y 500 μL de solución de plata (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$); esta mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente, se utilizaron 100

μL de un hemolizado de sangre de conejo para arrastrar en la hemoglobina los metales no atrapados en las metalotioneínas. Para eliminar las moléculas no deseadas, las muestras se sometieron a baño María (hirviendo, 2 min) y centrifugación a 4,000 rpm, recuperando el sobrenadante. Este último fue centrifugado a 13,000 rpm por 5 min. La concentración de metalotioneínas ($\mu\text{g/g}$ de tejido húmedo) se determinó por la lectura de la concentración de plata remanente a través de espectrofotómetro de absorción atómica Varían 220 FS.

7.3.11.2. Acetilcolinesterasa

La actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) se evaluó en el músculo de la tilapia por medio de un microensayo (Ellman *et al.*, 1961). El método de Ellman se basa en el empleo del tioanálogo de la acetilcolina, que al ser hidrolizado genera acetato y tiocolina, ésta última ataca al ácido ditio-benzóico (generando un conjugado incoloro) y al tiobenzoato (cromóforo) cuya producción se puede seguir espectrofotométricamente a una longitud de onda de 405 nm. Se colocaron 0.5 g de tejido en un tubo con fondo cónico y se le adicionaron 2.5 mL de buffer AchE pH 7-7.5 para después homogenizar la muestra de manera manual por un minuto, procurando en todo momento mantener frío el homogenizado. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 mL del homogeneizado de la muestra y se centrifugó (Science Med D1008) a 5 000 x g durante 10 min; luego se recuperó el sobrenadante para determinar la actividad de la AChE. Se colocaron 50 μL de muestra en los pozos de una microplaca junto con un blanco (amortiguador de fosfato, pH 7.2). Se añadieron 250 μL de mezcla de

reacción (DTNB - 5,5 ditiobis (2 ácido nitrobenzónico) 10 mM - amortiguador fosfato, pH 7.2 - acetiltiocolina 0.075 M. Posteriormente se procedió a leer la absorbancia a 405 nm de longitud de onda (Multiskan Spectrum, USA) y se registró la absorbancia cada minuto durante 5 min. Se evaluó la cantidad de proteína en cada una de las muestras por el método de Bradford (1976). El cual se basa en la capacidad del azul de Coomassie para unirse a los residuos de aminoácidos básicos. Se elaboró una curva patrón usando como proteína estándar la albúmina sérica bovina, en un intervalo de 0-1 µg/mL. La absorbancia se leyó a 630 nm de longitud de onda (Multiskan Spectrum, USA). A partir de los valores de proteína se procedió a estimar los valores resultantes de cada muestra para la evaluación del biomarcador AChE. La actividad específica de la enzima se expresó como la cantidad de enzima que cataliza la hidrólisis de 1nmol de acetiltiocolina por minuto por mg de proteína.

7.4. Análisis estadísticos

Con los datos de los niveles de parámetros fisicoquímicos, nutrientes, metales y benomilo en agua y tejidos, se llevaron a cabo análisis de inferencia estadística a través del software NCSS 2009. Para obtener la tendencia de los datos y establecer si hubo variaciones espaciales y temporales en las colectas, se realizó el siguiente análisis. En las poblaciones de datos que cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad a través de las pruebas de Omnibus (K2) y Levene, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA, F). En las poblaciones que no cumplieron con estos supuestos se realizó un análisis de Kruskal Wallis (H) (Wayne, 2011).

Para establecer relaciones entre el tamaño corporal y/o el peso de los animales, con los niveles de metales y/o plaguicidas presentes en el agua, así como la relación entre las concentraciones de metales con los niveles de metalotioneínas y los niveles de plaguicidas con acetilcolinesterasa, se utilizaron correlaciones simples de Pearson y Spearman según fuera el caso y solo se reportan las que fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$) (Sokal y Rohlf, 2012).

7.5. Análisis geoestadísticos de variabilidad espacial

A partir de las mediciones de parámetros fisicoquímicos, nutrientes y metales medidos en la presa Tenango, se elaboró una base de datos georreferenciada. Los datos fueron analizados con el software libre R versión 3.4.1. Primeramente, se procedió a efectuar un análisis exploratorio de los mismos, definiendo autocorrelación espacial por medio de cálculo de semivarianza. Los semivariogramas experimentales se ajustaron a modelos teóricos como exponencial (Exp), esférico (Sph), circular (Cir), lineal (Lin), Hole effect (Hol) y Per. Para efectuar la predicción espacial se utilizaron KO y KU. Los resultados fueron analizados mediante validación cruzada (*leave-one-out cross validation*) para determinar cuál modelo pudo capturar de mejor manera la variabilidad espacial de los parámetros analizados. En la sección de resultados se muestran las interpolaciones estadísticamente significativas y con coeficientes de correlación superiores a 0.5. Como material adicional se presenta la relación de parámetros con interpolaciones sin significancia estadística y/o con r menor a 0.5.

El método de Kriging ordinario (KO) permite tomar en cuenta las variaciones locales de la media limitando el dominio de su estacionaridad a un ámbito local Ω alrededor de la posición x donde se pretende estimar la variable. Sea $Z(x) = Y(x) + m(x)$ un proceso estocástico con media variable determinada por $m(x)$ y función de covarianza $C(h)$. Como tal, $Y(x)$ es un proceso estocástico con media nula. Un estimador lineal es una combinación lineal de mediciones $Z(x_1), Z(x_2), \dots, Z(x_n)$ en las posiciones $x_1, x_2, \dots, x_n \in \Omega$. Específicamente:

$$\text{Ecuación 2. } \hat{Y}(X) = \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) Y(X_k)$$

O bien:

$$\text{Ecuación 3. } \hat{Z}(X) = m(x) + \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) [Z(X_k) - m(X_k)]$$

Si la media es constante en el dominio Ω , entonces puede eliminarse de la ecuación anterior forzando que los pesos kriging λ_k sumen la unidad. En tal caso, el estimador se denomina KO y se expresa como:

$$\text{Ecuación 4. } \hat{Z}_{KO}(X) = \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) Z(X_k)$$

Con

$$\text{Ecuación 5. } \sum_{k=1}^n \lambda_k(x) = 1$$

Los pesos óptimos que minimizan la varianza del error de estimación se obtienen mediante el método de multiplicadores de Lagrange (Goovaerts, 1997), el cual resulta en el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\text{Ecuación 6. } \begin{cases} \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) C(X_j - X_k) + \mu(x) = C(X_j - X), & j=1, \dots, n \\ \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) = 1 \end{cases}$$

donde μ denota el multiplicador de Lagrange. Alternativamente, si se considera la relación entre la función de covarianza y la función de semivariograma $\gamma(h)$, i.e., $C(h) = C(0) - \gamma(h)$, el mismo sistema se puede escribir como:

$$\text{Ecuación 7. } \begin{cases} \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) \gamma(X_j - X_k) + \mu(x) = \gamma(X_j - X), & j=1, \dots, n \\ \sum_{k=1}^n \lambda_k(X) = 1 \end{cases}$$

KO supone una media estacionaria, es decir, constante de la función aleatoria $Z(x)$ de valor real subyacente. Pero frecuentemente esta no es constante en toda el área de estudio. En tal caso, una variable regionalizada no estacionaria tiene dos componentes (Davis, 1973): deriva (promedio o valor esperado de la variable regionalizada) y residuo (diferencia entre los valores considerados reales del parámetro y la deriva).

El objetivo del método de Kriging con deriva externa (KU) es predecir $Z(x)$ en un área no muestreada también. Se divide la función aleatoria en una combinación lineal de funciones determinísticas: la tendencia suave y no estacionaria (deriva o media) $\mu(x) \in R$ y la función aleatoria residual $Y(x) = Z(x) - \mu(x)$ (Wackernagel, 2003). KU supone que $\mu(x)$ es función de la ubicación espacial y puede ser aproximada por un modelo por ejemplo el de Kumar (2007).

$$\text{Ecuación 8. } \mu(X) = \sum_{i=1}^n \alpha_i f_i(X)$$

Donde:

α_i = Coeficiente a ser estimado a partir de los datos

f_i = Función básica de la deriva en función de las coordenadas espaciales

n = Cantidad de funciones utilizadas en el modelo de la deriva

La obtención de los pesos en KU, en forma análoga a KO, se determina minimizando la varianza del error de predicción sujeta a la restricción de insesgamiento. Nuevamente se aplica el método de los multiplicadores de Lagrange teniendo en cuenta la estructura de autocorrelación espacial para obtener los pesos óptimos.

7.6. Riesgo ecológico

De acuerdo con la USEPA (1998), los pasos que se siguieron para la elaboración del estudio de riesgo ecológico (ERE) fueron: 1) elaboración del modelo conceptual que permitió identificar y definir el problema, las fuentes de contaminantes, los contaminantes importantes, los organismos receptores y las vías de exposición, 2) la fase de análisis que comprendió la caracterización de la exposición (concentraciones ambientales) y de los efectos en el organismo de interés y, 3) la caracterización del riesgo, que permitió integrar la información obtenida, a través de un modelo matemático de riesgo que contempla el peligro asociado a la exposición de los contaminantes, y con ello obtener, la probabilidad de que ocurran efectos ecológicamente adversos y su significado (Fig. 3).

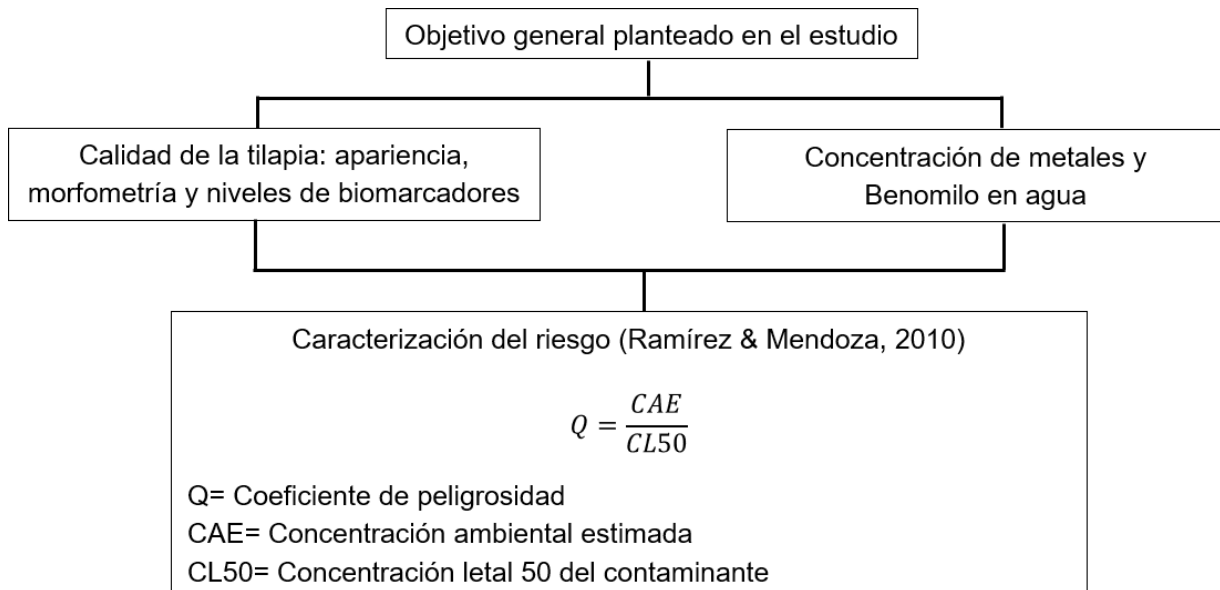


Fig. 3. Esquema general de trabajo para la realización del ERE de la Presa Tenango, Puebla.

El modelo utilizado para realizar la caracterización del riesgo fue el coeficiente de peligrosidad (Q), debido a que indica la relación existente entre una concentración de un contaminante presente en el ambiente con un valor referencia como, por ejemplo, la concentración letal 50 (CL₅₀) (Ramírez y Mendoza, 2010; Moreno, 2003). Para nuestro estudio las CL₅₀ fueron de 1.49 mg/L para plomo, 3.75 mg/L para cadmio, 1.09 mg/L para cobre, 107.9 mg/L para cromo y, 4.39 mg/L para Benomilo; estos valores fueron tomados de los trabajos de Abdulali et al. (2013), Masurn et al. (2006) y Min and Ju Chan (2008). Un valor de Q menor a 0.1 es indicador de no efectos adversos, entre 0.1 y 10 se consideran posibles efectos adversos y mayor a 10 es indicativo de que el contaminante ocasiona probables efectos adversos al organismo (Ramírez y Mendoza, 2010).

Como parte del proceso de cuantificación del riesgo, se compararon los niveles de contaminantes detectados en el agua de la presa Tenango, así como los de hígado y músculo de la tilapia con valores reportados en literatura especializada en los que se indican los posibles efectos a la salud humana por contacto tanto del agua como por consumo del pez y a la tilapia por su exposición a los contaminantes. Por otro lado, se utilizaron los datos obtenidos de las concentraciones de metales y Benomilo en el agua de la presa Tenango como ejercicio adicional, para realizar un análisis de riesgo general hacía el ecosistema acuático de la presa Tenango, con la intención de indagar o inferir si las concentraciones detectadas podrían representar peligro para peces u organismos más sensibles que la tilapia, los cuales pudieran estar habitando en la presa Tenango. Para realizarlo, se modificó el modelo matemático anteriormente planteado, sustituyendo la CL_{50} de la tilapia para metales por el límite máximo permitido para la protección a la vida acuática de cada metal (CNA, 2016). Los límites utilizados cuales fueron: 0.004 mg/L para cadmio, 0.03 mg/L para plomo y 0.05 mg/L para cromo y cobre. Para el caso del Benomilo se utilizó el límite máximo permitido para protección al ecosistema de 0.06 µg/L mencionado por Dan y Smith (2008). Cabe destacar que el modelo del coeficiente de peligrosidad permite substituir la CL_{50} por algún otro valor de referencia como límite máximo permitido u otro factor de extrapolación (Ramírez y Mendoza, 2010; USEPA, 1998).

$$Q = \frac{CAE}{LMP \text{ protección a la vida acuática o al ecosistema}}$$

Q= Coeficiente de peligrosidad.

CAE= Concentración ambiental estimada.

LMP= Límite máximo permitido para proteger la vida acuática o al ecosistema.

La forma de interpretar los valores Q es la misma que la indicada previamente.

8. Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos siguiendo el presente orden: 1) condición del agua de la Presa Tenango, 2) calidad de la tilapia *Oreochromis niloticus*, 3) análisis geoestadísticos y 4) análisis de riesgo del sitio de estudio.

8.1. Agua

8.1.1. Parámetros fisicoquímicos

Todos los parámetros fisicoquímicos evaluados *in situ* y laboratorio presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las temporadas de colectas. De acuerdo con la Ley Federal de Derechos (LFD) en materia de agua del 2016 (CONAGUA, 2016), la temperatura, el oxígeno disuelto y la dureza se encontraron dentro de los valores permisibles por lo que no representaron problema para la vida acuática y el agua puede ser utilizada para el abastecimiento urbano (**Tabla 1**). Para el caso del potencial de hidrógeno, durante el mes de septiembre los valores registrados (10.43

±0.5) fueron ligeramente superiores a los establecidos como seguros para la protección de la vida acuática y fuente de abastecimiento para uso urbano.

Tabla 1. Promedios y desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos del agua de la presa Tenango. Se incluyen LMP contemplados por la LFD.

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>	<i>Límite</i>
*Temperatura (°C)	16.15 ±0.73	22.47 ±0.87	23.91 ±0.58	24.14 ±1.32	19.23 ±1.16	40 ^{a, b, c}
*pH	8.13 ±0.17	8.67 ±0.19	8.99 ±0.28	10.43 ±0.5	7.65 ±0.67	6.0-9.0 ^{a, c} 6.5-8.5 ^{b, c}
*Oxígeno disuelto (mg/L)	8.90 ±0.49	11.90 ±0.91	17.82 ±1.76	9.43 ±0.86	13.18 ±1.27	4.0 ^{a, d} 5.0 ^{b, d}
*Dureza (mg/L)	85.36 ±21.03	56.41 ±5.85	56.52 ±5.05	44.76 ±9.79	196.12 ±47.84	400.0 ^{a, c}

*Estadísticamente diferente entre recolectas (P<0.01).

a: Límite máximo para uso urbano (CONAGUA, 2016).

b: Límite máximo para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016).

c: Límite máximo permitido.

d: Límite mínimo permitido.

8.1.2. Nutrientes

Los nutrientes se encontraron en las siguientes condiciones: El fósforo, los nitritos y los nitratos presentaron diferencias significativas entre las temporadas (P<0.01). De acuerdo con las concentraciones de nitritos y fósforo, el agua de la presa Tenango no fue recomendable para su uso en abastecimiento urbano. Tampoco en el caso de los nitritos durante las primeras cuatro temporadas y en ninguna temporada para el caso

del fósforo según la LFD (**Fig. 4 y 5**). Adicionalmente, el fósforo comprometió la vida acuática del sitio de estudio debido a las altas concentraciones registradas durante las cinco temporadas de colecta.

Los resultados del análisis de los nutrientes se presentan la **tabla 2**:

Tabla 2. Promedios y desviaciones estándar de los nutrientes registrados en la Presa Tenango. Se incluyen límites permisibles por la LFD.

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>	<i>Límite</i>
*Nitratos (mg/L)	1.98±0.58	1.18±0.27	1.32±0.15	1.02±0.3	0.55±0.10	5.0 ^a
*Nitritos (mg/L)	12.26±6.05	11±1.87	5.32±1.87	1.34±0.006	0.005±0.007	0.05 ^a
*Fósforo (mg/L)	2.14±0.43	2.38±0.69	1.51±0.65	1.03±0.05	2.49±1.31	0.1 ^a 0.05 ^b

*Estadísticamente diferente entre colectas ($P < 0.01$).

a: Límite para uso urbano (CONAGUA, 2016).

b: Límite para la Protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016).

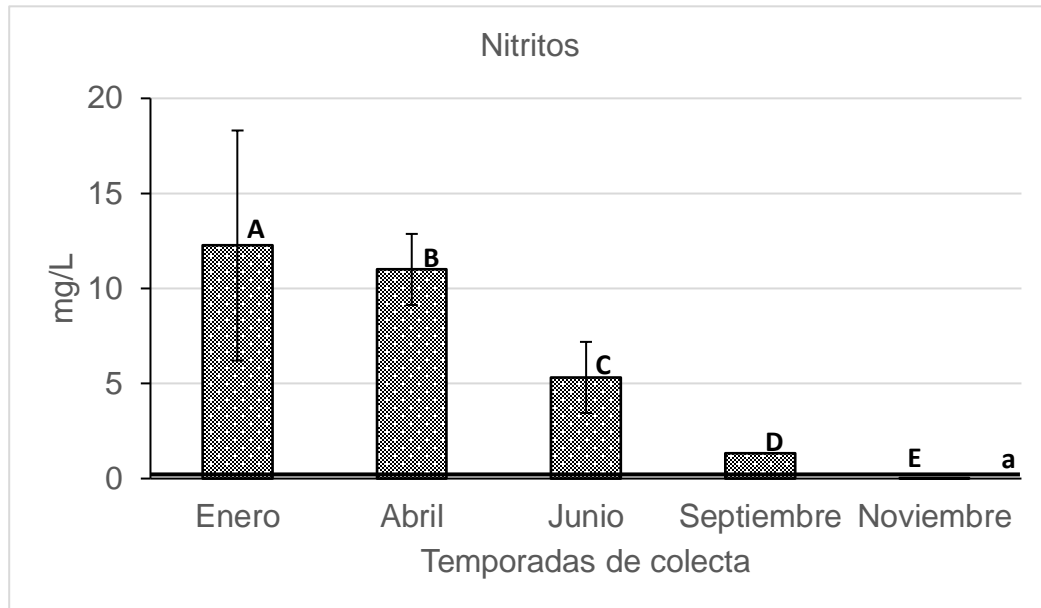


Fig. 4. Concentraciones promedio de nitritos por temporada de colecta. a: indica el LMP 0.05 mg/L para fuente de abastecimiento para uso urbano (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

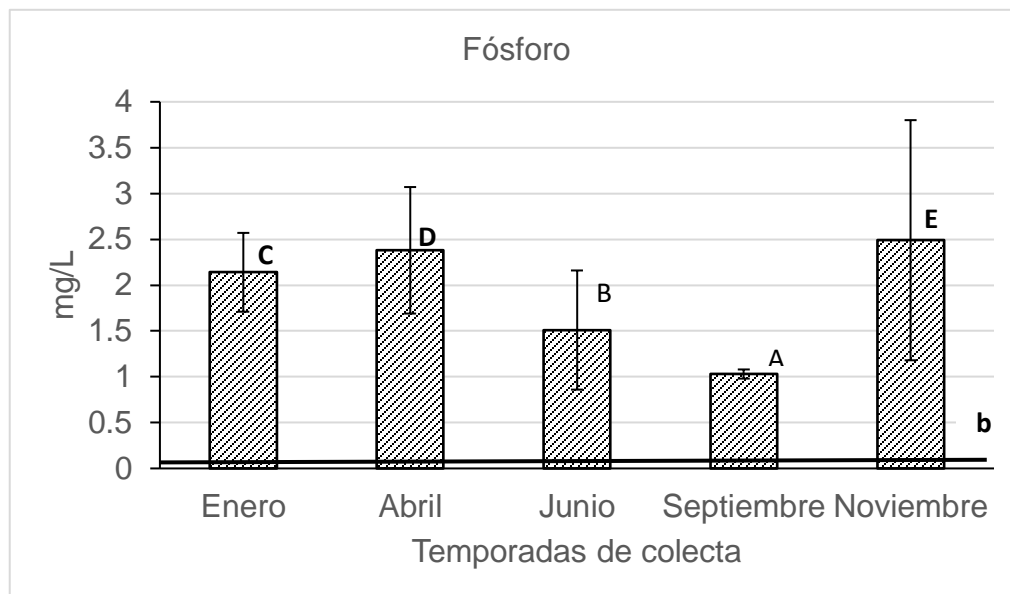


Fig. 5. Concentraciones promedio de fósforo por temporada de colecta. b: indica el LMP 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

8.1.3. Metales

Los metales plomo (Pb), cadmio (Cd), cromo (Cr) y cobre (Cu) presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las temporadas de colecta. De acuerdo con los valores permisibles de la LFD, el Pb fue el elemento que rebasó en más ocasiones los límites aceptables, ya que en cuatro de las cinco temporadas de colecta se tuvieron valores elevados; la excepción fue septiembre (**Fig. 6**). El Cr presentó niveles superiores a los permitidos en las temporadas de enero, abril y septiembre (**Fig. 7**). El Cu y Cd se comportaron de manera similar ya que rebasaron los límites permisibles para uso urbano y protección para la vida acuática en el mes de junio, mientras que en el mes

de noviembre solo rebasaron la norma para la protección de la vida acuática (**Fig. 8 y 9**).

Los valores obtenidos para los metales se encuentran en la **tabla 3**:

Tabla 3. Concentraciones promedio y desviaciones estándar de metales tóxicos en agua de la Presa Tenango.

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>	<i>Limite</i>
<i>*Cd (mg/L)</i>	BLD	BLD	0.13±0.05	<0.01±0.002	0.01±0.007	0.01 ^a 0.004 ^b
<i>*Pb (mg/L)</i>	3.20 ±1.05	2.93±1.5	0.4±0.15	0.038±0.03	0.028±0.02	0.05 ^a 0.03 ^b
<i>*Cr (mg/L)</i>	0.42±0.13	0.16±0.11	0.01±0.007	0.11±0.06	0.017±0.01	0.05 ^{a, b}
<i>*Cu (mg/L)</i>	BLD	BLD	1.37±0.62	BLD	0.25±0.03	1.0 ^a 0.05 ^b

BLD: Bajo el límite de detección.

*Estadísticamente diferente entre las recolectas (P<0.01).

a: Límite máximo permitido para uso urbano (CONAGUA, 2016).

b: Límite máximo permitido para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016).

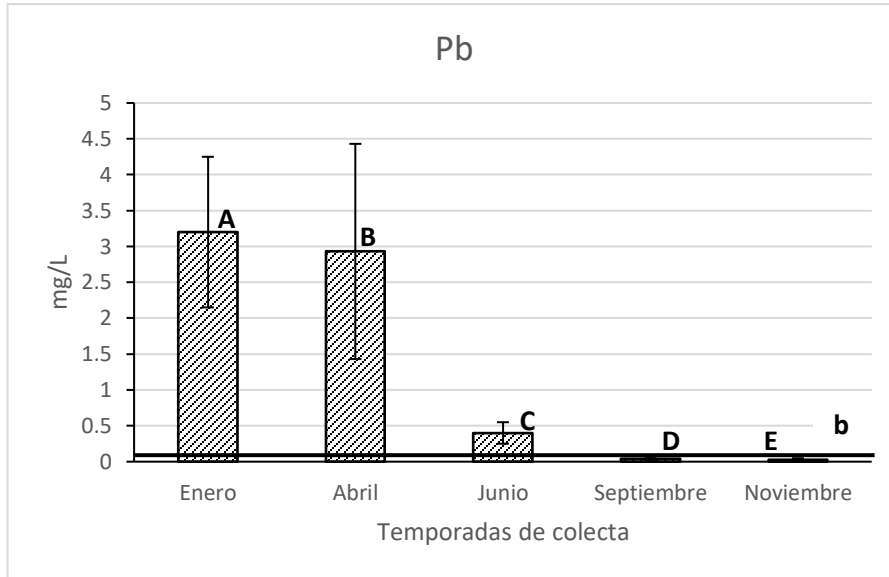


Fig. 6. Concentraciones promedio de Pb por temporada de colecta. b: Indica el LMP de 0.03 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

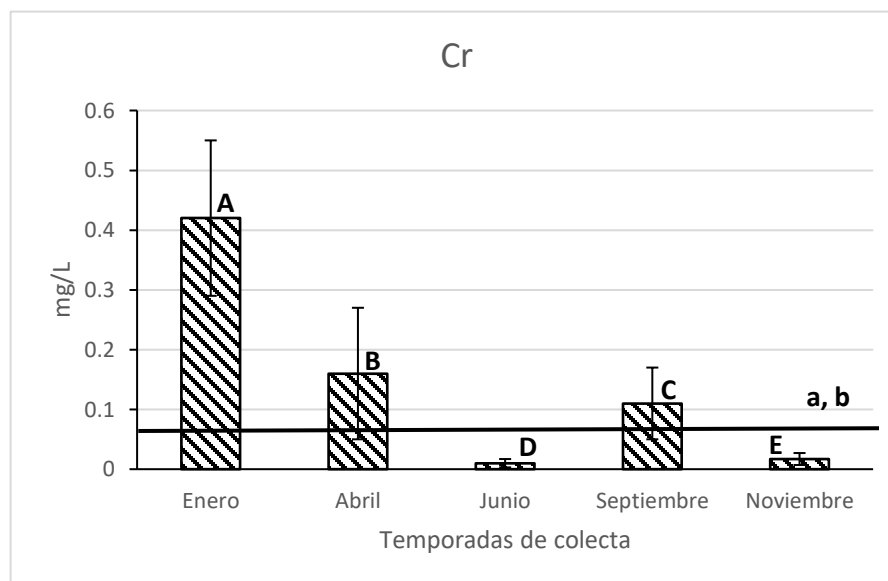


Fig. 7. Concentraciones promedio de Cr por temporada de colecta. a y b: Indican el LMP que es 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática y para uso urbano (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

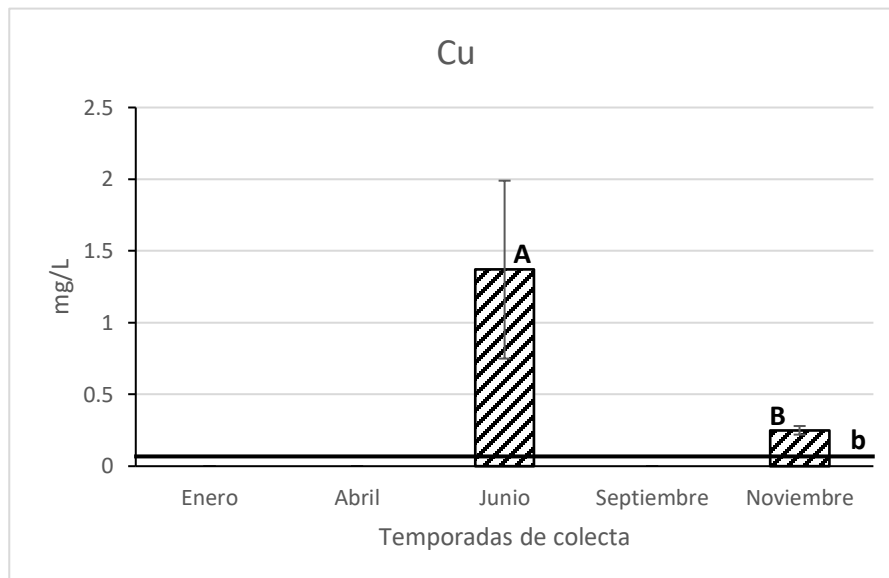


Fig. 8. Concentraciones promedio de Cu por temporada de colecta. b: Indica el LMP 0.05 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

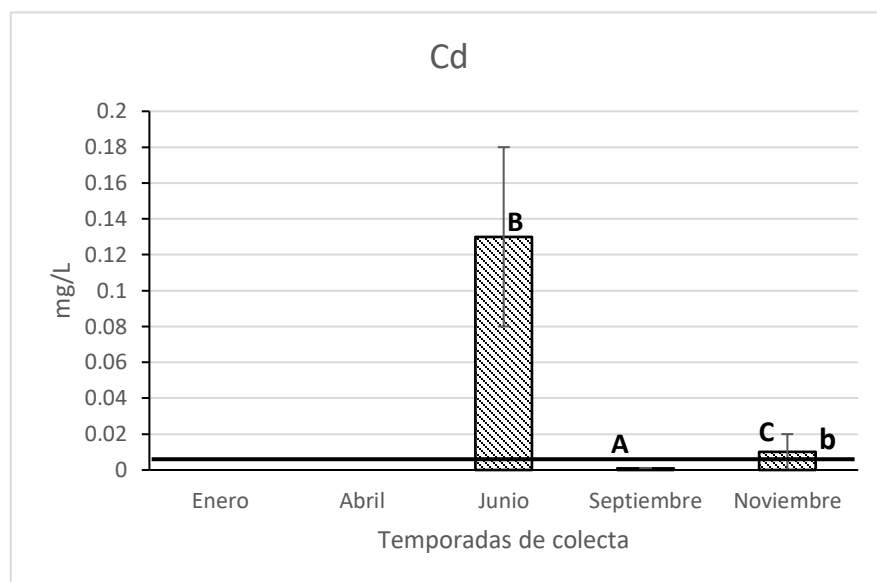


Fig. 9. Concentraciones promedio de Cd por temporada de colecta. b: Indica el LMP 0.004 mg/L para la protección de la vida acuática (CONAGUA, 2016). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

8.1.4. Benomilo/Carbendazim

El Benomilo presentó diferencias significativas entre las temporadas ($p < 0.01$) y a excepción del mes de enero, las concentraciones presentaron valores superiores al valor establecido como seguro para los ecosistemas (**Tabla 4**). En tanto que para agua potable se rebasó el límite máximo permisible en todos los meses (**Figura 10**).

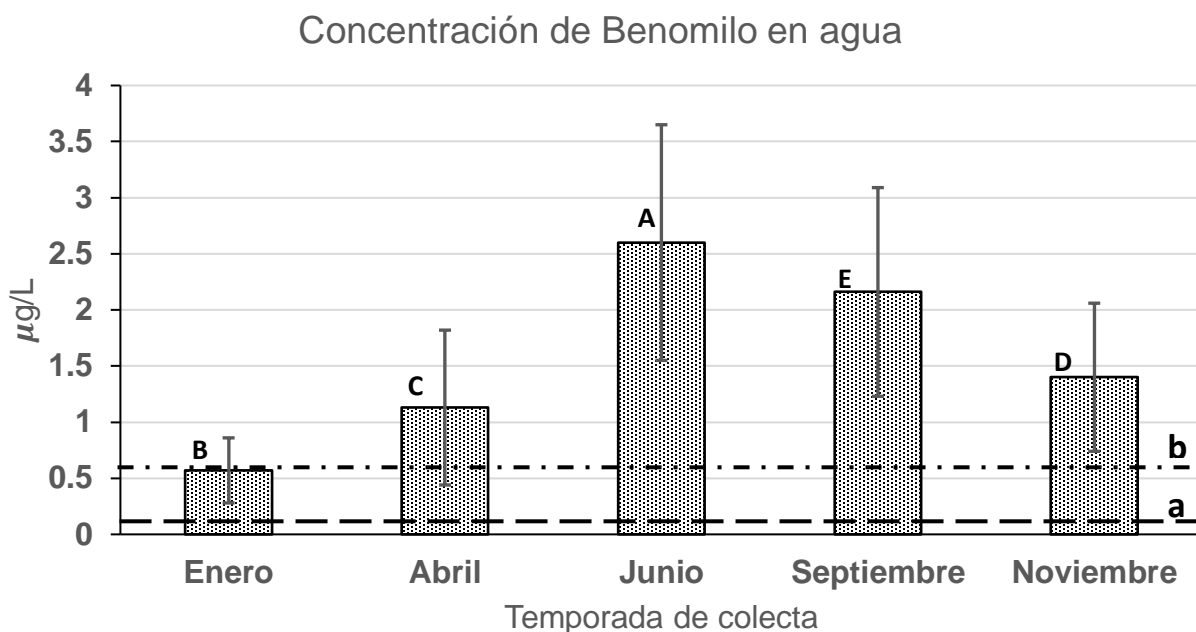


Fig. 10. Concentraciones promedio de Benomilo. a: indica el LMP (0.6 µg/L) para el ecosistema y b: indica el LMP (0.1 µg/L) para agua potable. Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Tabla 4. Concentraciones promedio (\pm desviaciones estándar) de Benomilo/Carbendazim en muestras de agua de la presa Tenango.

Variable	Enero	Abril	Junio	Septiembre	Noviembre	Límite
*Benomilo/Carbendazim µg/L	0.57±0.29	1.13±0.69	2.60±1.05	2.16±0.93	1.4±0.66	0.1 ^a 0.6 ^b

* Estadísticamente diferente ($P < 0.01$).

a: Límite máximo permitido (LMP) para agua potable (Dang y Smith, 2008).

b: Límite máximo permitido (LMP) para el ecosistema (Dang y Smith, 2008).

8.2. Análisis de organismos

8.2.1. Evaluación morfométrica y morfológica de *O. niloticus*

Se evaluaron en total 150 ejemplares de *O. niloticus* conforme a las especificaciones de calidad e inocuidad contempladas en el Manual de Producción de Tilapia de SAGARPA (2006). En relación con la variable de longitud total se observó que hubo diferencias significativas ($p < 0.01$) entre temporadas de colecta y sólo en los meses de abril y noviembre se hallaron ejemplares de menor tamaño, por lo que en estas colectas no se encontraron dentro de los valores ideales para la venta al público. El peso no presentó diferencias significativas entre las temporadas. En todas las colectas los ejemplares se encontraron bajos de peso, de acuerdo con las normas de calidad para su venta (**Tabla 5**).

Tabla 5. Pesos y longitudes de *O. niloticus* colectados en la presa Tenango (promedios y desviaciones estándar). Se anexan valores recomendables de calidad (SAGARPA, 2006).

<i>Variables</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>	<i>Valores ideales</i>
<i>Peso (gr)</i>	120.06 ±41.6	100.66±21.2	122.4±44.6	111.93 ±32.7	111.06±27.3	150-300 ^a
<i>*Long. Total (cm)</i>	18.66 ±2.7	15.56±1.4	18.4 ±2.2	18.43 ±1.1	16.38±4.1	18-25 ^b

* Estadísticamente diferente ($P < 0.01$).

a: Intervalo de peso ideal para venta al público y restaurantes (SAGARPA, 2006).

b: Intervalo de longitud total para venta al público y restaurantes (SAGARPA,2006).

En relación a la evaluación de los atributos morfológicos considerados como parte de la calidad visual, en las temporadas de colecta de enero y abril, el 4% de los ejemplares capturados presentaron hematomas. En cuanto a las demás variables evaluadas en las temporadas posteriores, el 100% de los especímenes cumplieron con todos los criterios de calidad que aseguran el aspecto sano de los ejemplares para comercializarlo (**Tabla 6**).

Tabla 6. Porcentaje de ejemplares que cumplieron con las especificaciones de calidad de acuerdo con lo establecido por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2006).

Variables	Enero	Abril	Junio	Septiembre	Noviembre
Ojos. Pupila negra, córnea cristalina, convexos.	100	100	100	100	100
Agallas. Brillantes, de color rojo o rosa, mucus claro, inodoras.	100	100	100	100	100
Opérculo. Puede faltar hasta 1 cm para cubrir el arco branquial.	100	100	100	100	100
Aletas. Puede faltar hasta dos aletas pélvicas y/o pectorales.	100	100	100	100	100
Cortes. Ninguno.	100	100	100	100	100
Heridas y lesiones. Hasta dos pequeños cortes menores a 1 cm que no afecten el tejido muscular.	100	100	100	100	100
Hematomas. Ninguno.	96.6	96.6	100	100	100
Deformaciones. Ninguno.	100	100	100	100	100
Mucus. Claro.	100	100	100	100	100

Textura. Firme y elástica, sin marcas cuando se presionan los dedos.	100	100	100	100	100
Color de la piel. Se acepta rojo, gris, negro y sus combinaciones.	100	100	100	100	100
Escamas. Pérdida de escamas inferior al 15% repartida en la superficie corporal.	100	96.6	100	100	100

8.2.2. Niveles de metales en *O. niloticus*

Se cuantificaron los niveles de metales de 150 muestras de hígado y 150 de músculo de tilapia *O. niloticus* provenientes de la presa de Tenango. Todos los metales presentaron diferencias significativas entre las temporadas ($p < 0.01$), siendo el Pb el metal de mayor concentración en el tejido hepático y muscular en las temporadas de enero y abril; colectas en las que rebasó el límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos de consumo derivados de la pesca según la NOM-242-SSA1-2009 (**Figura 11 y 12**). El segundo metal en concentración fue el Cd, el cual se comportó de la misma manera que el plomo, es decir, tuvo concentraciones significativamente altas en los mismos meses y rebasó el nivel establecido como aceptable para el consumo humano, según la norma antes citada (**Figura 13 y 14**). El tercer metal que presentó niveles altos fue el Cr, el cual rebasó el valor de 0.1 mg/Kg establecido como seguro para el consumo humano de acuerdo con la misma norma en los meses antes mencionados (**Figura 15 y 16**). Las concentraciones de Cu fueron comparadas con la legislación brasileña de metales debido a que no existen límites permisibles que contemplen este metal en la legislación mexicana para productos pesqueros, ni en el CODEX Alimentarius internacional de la FAO, como tampoco en la normatividad alimentaria de la Unión Europea. El Cu registro en todos los meses evaluados concentraciones pequeñas en

relación con los 30 mg/Kg estipulados como máximo aceptable según la legislación brasileña (**Tabla 7**).

Tabla 7. Concentración de Pb, Cd, Cr y Cu en hígado y músculo de *O. niloticus* de la presa de Tenango (promedios y desviaciones estándar).

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>	<i>Límite</i>
<i>*Pb-H (mg/kg)</i>	11.12±3.63	11.13±0.42	0.11±0.04	0.13±0.02	0.08±0.01	0.5 ^a
<i>*Pb-M(mg/kg)</i>	6.82±4.18	3.68±1.06	0.10±0.04	0.13±0.02	0.09±0.02	0.5 ^a
<i>*Cd-H (mg/kg)</i>	1.62±0.98	1.26±0.51	0.007±0.004	0.007±0.002	0.01±0.008	0.5 ^a
<i>*Cd-M (mg/kg)</i>	1.89±0.89	2.06±0.47	0.007±0.003	0.008±0.003	0.007±0.001	0.5 ^a
<i>*Cr-H (mg/kg)</i>	1.49±0.76	1.34±0.10	0.07±0.02	0.08±0.05	0.06±0.02	0.1 ^a
<i>*Cr -M (mg/kg)</i>	0.89±0.43	0.53±0.02	0.06±0.01	0.06±0.04	0.06±0.01	0.1 ^a
<i>*Cu-H (mg/kg)</i>	0.45±0.06	0.16±0.02	0.18±0.04	4.01±0.04	0.35±0.11	30 ^b
<i>*Cu-M (mg/kg)</i>	0.17±0.04	0.13±0.03	0.12±0.02	0.03±0.02	0.32±0.11	30 ^b

* Estadísticamente diferente entre colectas.

H: Hígado.

M: Músculo.

a: Límite máximo para productos pesqueros frescos, refrigerados y congelados NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011).

b: Límite máximo para alimentos destinados al consumo humano (Legislación brasileña de metales pesados, 2017).

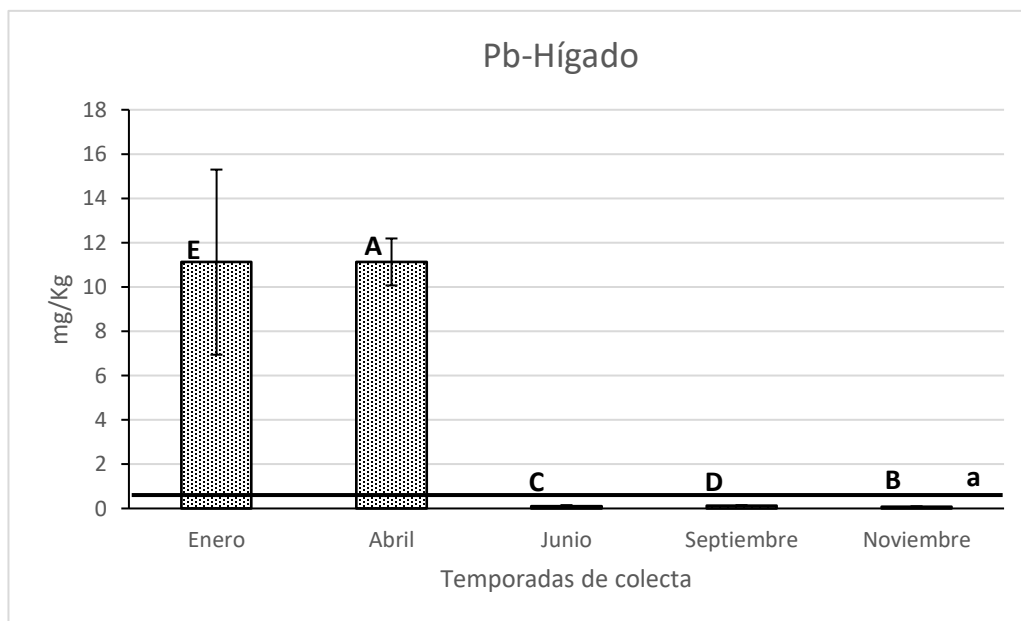


Fig. 11. Concentraciones de Pb en hígado por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

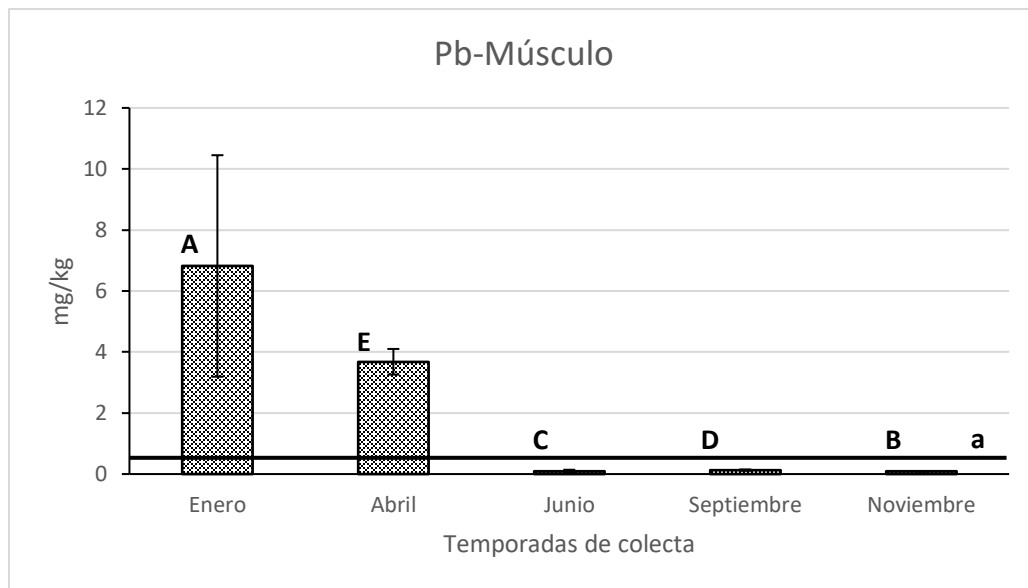


Fig. 12. Concentraciones de Pb en músculo por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

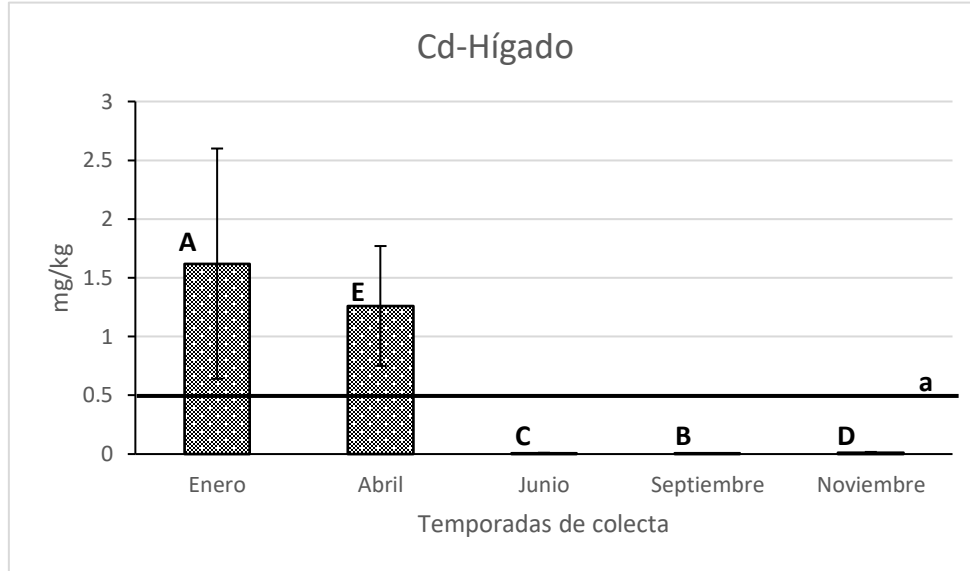


Fig. 13. Concentraciones de Cd en hígado por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

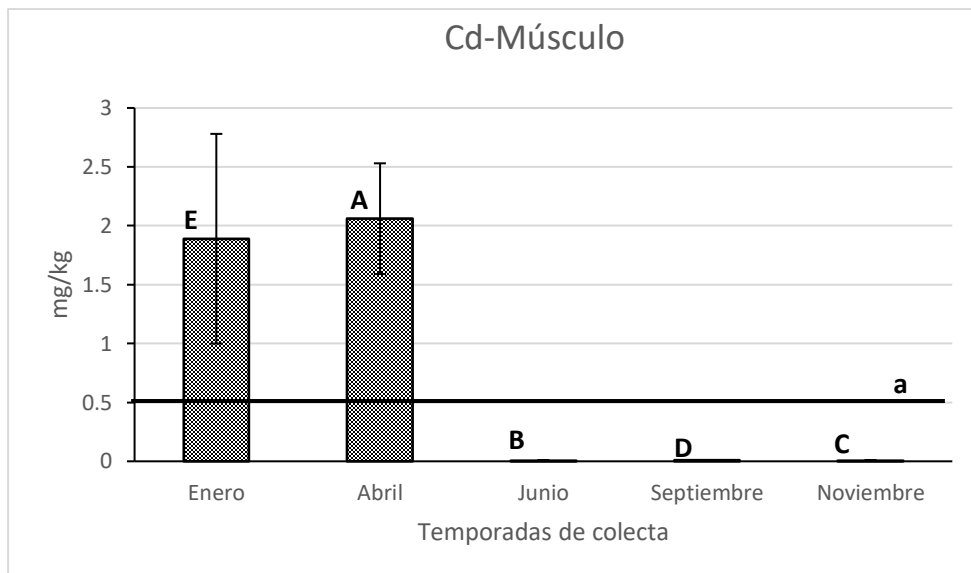


Fig. 14. Concentraciones de Cd en músculo por temporada de colecta. a: indica límite máximo (0.5 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

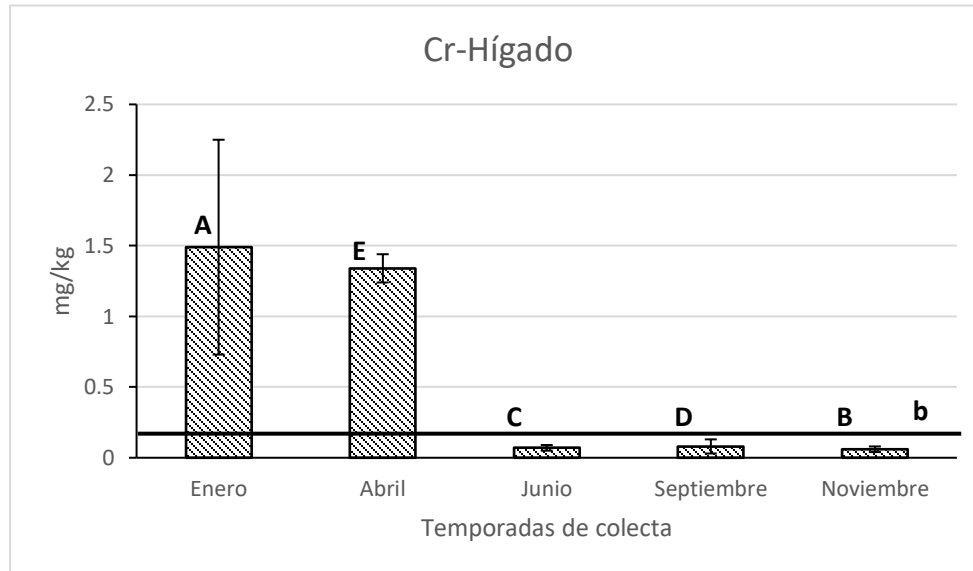


Fig. 15. Concentraciones de Cr en hígado por temporada de colecta. b: indica límite máximo (0.1 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

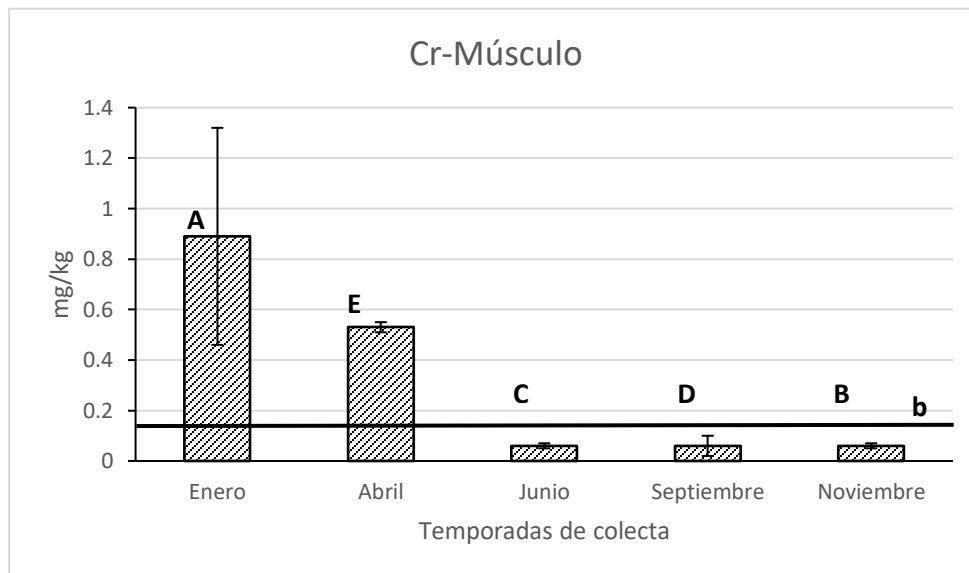


Fig. 16. Concentraciones de Cr en músculo por temporada de colecta. b: indica límite máximo (0.1 mg/Kg) para productos pesqueros según la NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2011). Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

8.2.3. Relación entre los parámetros morfométricos y las concentraciones de metales en *O. niloticus*

Las pruebas de correlación entre las concentraciones de los metales detectados en los tejidos de los peces y sus datos morfométricos indicaron una relación positiva entre las variables ($P < 0.05$), es decir, entre mayor peso y longitud de los ejemplares de *O. niloticus*, se presentó mayor acumulación de metales en el hígado y músculo (**Tabla 8**).

Tabla. 8. Correlaciones entre variables morfométricas y concentraciones de metal en tejido por temporada de colecta.

Variable	Enero		Abril		Junio		Septiembre		Noviembre	
	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long
PbM	0.91	0.83	0.93	0.82	0.82	0.79	0.89	0.89	0.83	0.65
PbH	0.84	0.79			0.82	0.76	0.90	0.92	0.86	0.71
CdM					0.95	0.89	0.87	0.90		
CdH	0.97	0.94			0.96	0.89	0.90	0.97	0.90	
CrM	0.94	0.88	0.77	0.70	0.84	0.77	0.86	0.96	0.84	
CrH	0.96	0.90			0.84	0.77	0.90	0.91	0.91	0.83
CuM	0.81	0.77			0.97	0.89	0.91	0.79	0.92	
CuH	0.93	0.87			0.95	0.85	0.91	0.78	0.89	0.80

M: Músculo y H: Hígado.

8.2.4. Niveles de Benomilo/Carbendazim en *O. niloticus*

En la **tabla 9** se presentan las concentraciones del fungicida en los ejemplares colectados de tilapia *O. niloticus*. El plaguicida presentó diferencias significativas entre las temporadas, siendo las colectas de junio, septiembre y noviembre las que evidenciaron mayor concentración con respecto a las demás (**Figura 17**). No obstante, los resultados indican que no se rebasó el límite establecido como seguro para el consumo de productos cárnicos según la NOM-004-ZOO-1994 (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1994).

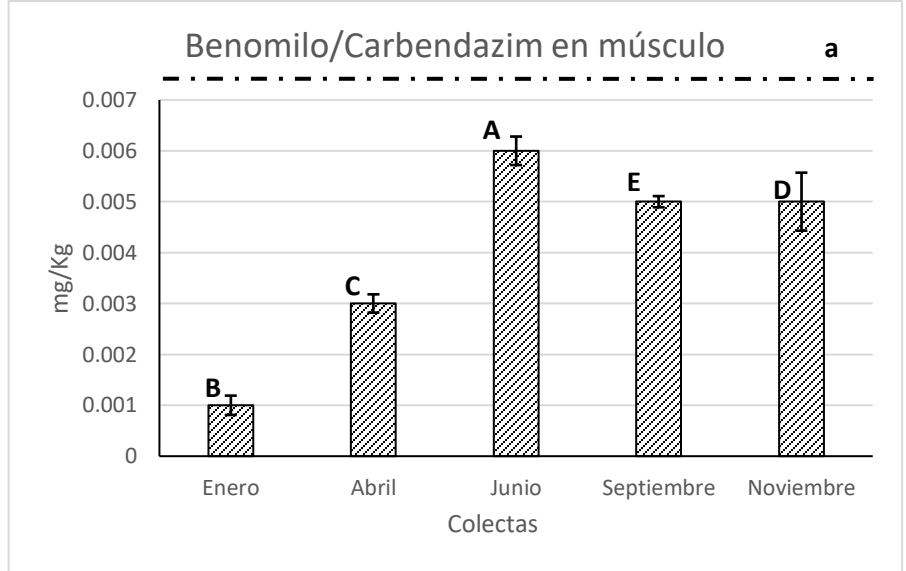


Fig. 17. Concentraciones de Benomilo en músculo de tilapia. a: indica el LMP (0.1 mg/Kg) para consumo humano según la NOM-004-ZOO-1994. Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

Tabla 9. Benomilo/Carbendazim en músculo de tilapia *O. niloticus* (promedios y desviaciones estándar).

Variable	Enero	Abril	Junio	Septiembre	Noviembre	Límite
*Benomilo/ Carbendazim mg/Kg	0.001±1.9E-4	0.003±1.8E-4	0.006±2.8E-4	0.005±1.1E-4	0.005±5.7E-4	0.1 ^a

*Estadísticamente diferente entre colectas ($P < 0.01$).

a: Límite máximo permitido en músculo e hígado destinado al consumo humano. NOM-004-ZOO-1994. (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1994).

8.2.5. Relación entre los parámetros morfométricos y la concentración de Benomilo/Carbendazim

Los resultados de los análisis indican una relación positiva entre el peso y la longitud y la concentración del plaguicida en tejido ($P < 0.05$), es decir, entre mayor tamaño y peso de los ejemplares, mayor concentración de Benomilo/Carbendazim se encuentra presente en el músculo según la temporada de colecta (**Tabla 10**).

Tabla 10. Correlación entre peso y longitud con la concentración de Benomilo/Carbendazim en músculo.

	Enero		Abril		Junio		Septiembre		Noviembre	
Variable	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long	Peso	Long
Benomilo	0.94	0.91	0.98	0.88	0.91	0.76	0.67	0.81	0.83	0.78

8.2.6. Metalotioneínas (MT) en *O. niloticus*.

Los resultados indicaron diferencias significativas entre las temporadas de colecta en el hígado, órgano donde se encontraron los niveles más altos de MT en los organismos extraídos en enero, septiembre y noviembre. El músculo presentó un comportamiento semejante, ya que en los mismos meses se detectaron concentraciones elevadas de MT (**Tabla 11**).

Tabla 11. Metalotioneínas presentes en hígado y músculo (promedios y desviaciones estándar).

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>
*MT-H µgMT/gTejido	125.43±48.04	80.46±11.45	79.26±6.18	108.26±36.88	106.35±46.37
*MT-M µgMT/gTejido	79.31±44.65	40.56±7.90	6.59±2.05	68.80±34.9	102.24±47.25

*Estadísticamente diferente entre colectas (P<0.01).

H: Hígado.

M: Músculo.

8.2.7. Relación entre metalotioneínas y concentración de metales en hígado y músculo

Los resultados indicaron una relación positiva entre MT y las concentraciones de metales en los tejidos, es decir, entre mayor concentración de metal en hígado y músculo, mayor concentración de metalotioneínas presentes en el mismo tejido; según sea la temporada y metal (**Tabla 12**).

Tabla. 12. Correlación entre metalotioneínas con la concentración de metal en tejido por temporada de colecta.

Variable	Enero		Abril		Junio		Septiembre		Noviembre	
	MTH	MTM	MTH	MTM	MTH	MTM	MTH	MTM	MTH	MTM
Pb-M	0.88	0.88	0.87	0.85	0.91	0.92	0.90	0.87	0.74	0.89
Pb-H	0.90	0.80			0.89	0.89	0.95	0.96	0.77	0.91
Cd-M	0.55	0.51			0.96	0.98	0.96	0.95		
Cd-H	0.95	0.96			0.97	0.97	0.98	0.95	0.66	0.79
Cr-M	0.91	0.94	0.74	0.67	0.89	0.83	0.95	0.97	0.50	0.60
Cr-H	0.96	0.93			0.89	0.83	0.91	0.92	0.92	0.96
Cu-M	0.73	0.76			0.95	0.94	0.79	0.86	0.67	0.75
Cu-H	0.90	0.94			0.90	0.91	0.78	0.86	0.87	0.96

M: Músculo y H: Hígado.

8.2.8. Actividad de la acetilcolinesterasa

Los resultados de las 75 muestras de músculo analizadas indicaron diferencias significativas temporales en la actividad de AChE, los dos meses que presentaron mayor concentración de AChE fueron en enero y abril (**Tabla 13**).

Tabla 13. Actividad de AChE en nmol/min/mg de proteína en músculo de *O. niloticus* (promedios y desviaciones estándar).

Variable	Enero	Abril	Junio	Septiembre	Noviembre
*AChE	229.29±78.49	74.02±29.47	34.43±10.23	38.32±16.70	44.58±18.37

*Estadísticamente diferente entre colectas (P<0.01).

8.2.9. Relación entre actividad de AChE con la concentración de Benomilo/Carbendazim

Los análisis de correlación entre las concentraciones de Benomilo/Carbendazim detectados en músculo y las concentraciones actividad de la AChE en el mismo tejido de *O. niloticus* indican una correlación negativa, lo que significa que, a mayor concentración de Benomilo, menor actividad de AChE en músculo (**Tabla 14**).

Tabla 14. Correlación entre actividad de acetilcolinesterasa con concentración de Benomilo/Carbendazim en músculo.

	Enero	Abril	Junio	Septiembre	Noviembre
Variable	AChE	AChE	AChE	AChE	AChE
Benomilo	-0.95	-0.95	-0.96	-0.92	-0.78

8.2.10. Factor de bioconcentración de metales

En la **Tabla 15** se presentan los cálculos del factor de bioconcentración (FBC), los valores de plomo oscilaron entre 0.27 y 3.79 en hígado y entre 0.25 y 3.42 en el músculo. Dado que estos valores alcanzaron su nivel más bajo en junio, el Pb se consideró potencialmente bioacumulativo en enero, abril, septiembre y noviembre. Los FBC del Cd variaron de 0.05 a 7.00 en el hígado y de 0.05 a 8.00 en el músculo. Los valores más altos se registraron en septiembre y se consideraron potencialmente bioacumulativos. Las bioconcentraciones de Cr indicaron que este elemento se acumuló potencialmente en los organismos durante cuatro de los cinco meses evaluados, con valores que oscilaron entre 0.72 y 8.37 en el hígado y entre 0.54 y 6.00

en el músculo. El FBC para el Cu en el hígado osciló entre 0.13 y 1.40, lo que hizo que este metal se haya considerado potencialmente bioacumulativo en junio y noviembre. Las bioconcentraciones de Cu en el músculo oscilaron entre 0.08 y 1.28; los valores de los meses de junio y noviembre indicaron que el cobre fue potencialmente bioacumulativo. El hígado fue el órgano con mayor bioconcentración de metales. El elemento más concentrado fue el Cr, seguido del Pb, Cd y Cu.

Tabla. 15. Factor de bioconcentración (FBC) de metales por temporada de colecta y tejido.

Temporada	Pb-H	Pb-M	Cd-H	Cd-M	Cr-H	Cr-M	Cu-H	Cu-M
Enero	3.47	2.13	---	---	3.54	2.11	---	---
Abril	3.79	1.25	---	---	8.37	3.31	---	---
Junio	0.27	0.25	0.05	0.05	7.00	6.00	0.13	0.08
Septiembre	3.42	3.42	7.00	8.00	0.72	0.54	---	---
Noviembre	2.85	3.21	1.00	0.70	3.52	3.52	1.40	1.28

H: Hígado.

M: Músculo.

--- Por debajo del límite de detección

8.2.11. Factor de Bioconcentración de Benomilo/Carbendazim

El factor de bioconcentración del Benomilo se obtuvo a partir de los niveles promedio del plaguicida en agua y tejido muscular de la tilapia *O. niloticus*. Los resultados indican que el Benomilo fue acumulado en todas las temporadas de colecta (**Tabla. 16**).

Tabla. 16. Factor de bioconcentración (FBC) de Benomilo por temporada de colecta.

<i>Variable</i>	<i>Enero</i>	<i>Abril</i>	<i>Junio</i>	<i>Septiembre</i>	<i>Noviembre</i>
<i>FBC-M</i>	1.35	1.53	1.27	1.32	1.82

M: Músculo.

8.3. Geoestadística

En la **Tabla 17** se presentan los resultados estadísticamente significantes de los análisis geoestadísticos, el tipo de kriging efectuado, el modelo teórico de semivariograma ajustado y los $r > 0.50$ y *P-Value* de *leave-one-out cross validation*. Adicionalmente, se presentan los mapas, semivariogramas y los análisis de correlación resultantes de *leave-one-out cross validation* que fueron estadísticamente significativos para parámetros fisicoquímicos tales como: oxígeno disuelto, temperatura, pH y dureza (**Figura 18**); nutrientes como nitritos (**Figura 19**); así como para los metales como Pb, Cr y Cu (**Figura 20**); finalmente el plaguicida Benomilo (**Figura 21**).

Tabla. 17. Resultados de *leave-one-out cross validation* entre los modelos teóricos y experimentales según parámetro y el mes de toma de datos para $r > 0.5$.

Variable	Mes	Método	Modelo	r	RMSE	P-Value
O ₂	Enero	KO	Exp	0.71	0.01	1.74E-06
	Junio	KU	Sph	0.81	0.07	6.44E-09
Temperatura	Enero	KO	Exp	0.69	0.01	5.92E-06
	Abril	KO	Exp	0.66	0.01	1.72E-05
	Septiembre	KO	Hol	0.51	0.02	1.88E-02

	Noviembre	KO	Hol	0.51	0.02	1.88E-02
pH	Abril	KO	Lin	0.81	0.01	3.12E-09
	Junio	KU	Exp	0.86	0.14	3.18E-11
Dureza	Enero	KO	Exp	0.87	0.04	1.39E-11
	Noviembre	KO	Lin	0.88	0.19	6.99E-12
Nitritos	Enero	KU	Sph	0.53	0.18	1.00E-02
	Noviembre	KO	Sph	0.55	0.25	4.71E-02
Pb	Junio	KU	Cir	0.72	0.10	4.21E-05
Cr	Enero	KU	Sph	0.58	0.10	1.93E-03
	Abril	KU	Sph	0.71	0.74	6.19E-05
	Junio	KU	Sph	0.78	0.01	3.12E-06
	Septiembre	KU	Sph	0.52	0.05	2.89E-03
	Noviembre	KO	Lin	0.73	0.34	5.11E-06
Cu	Junio	KU	Sph	0.55	0.51	4.30E-03
Benomilo	Enero	KU	Sph	0.87	0.74	1.84E-05
	Abril	KU	Exp	0.86	0.72	3.11E-05
	Junio	KU	Sph	0.92	0.84	7.98E-07
	Septiembre	KU	Sph	0.92	0.83	1.12E-06
	Noviembre	KU	Sph	0.90	0.81	2.70E-06

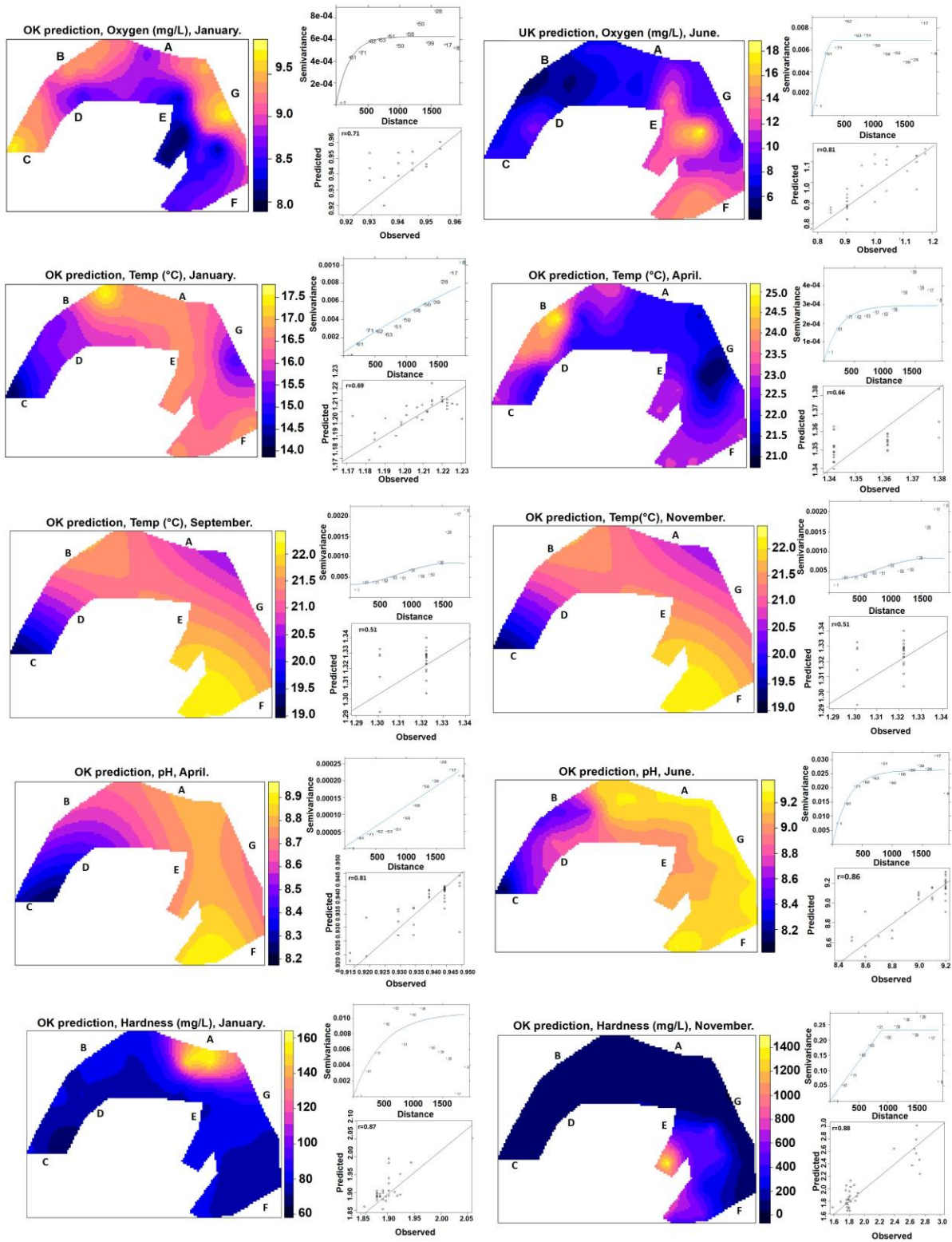


Fig. 18. Interpolaciones de parámetros fisicoquímicos, incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Los mapas obtenidos a través de las interpolaciones para las variables fisicoquímicas del agua de la presa Tenango se presentan en la **figura 18**. El oxígeno disuelto presentó valores altos durante el mes de enero para las zonas que corresponde a la barda de contención de la presa Tenango y el área urbana, así como en las zonas que comprende los cultivos y turismo; mientras que, en el mes de junio, la mayor saturación de este elemento fue las zonas cercanas al ingreso de la presa Nexapa. La temperatura (Temp) registró valores muy homogéneos en casi toda la presa durante los meses enero, septiembre y noviembre; en tanto en el mes de abril se concentró más en las cercanías de la zona de cultivos. Los valores del potencial de hidrogeno (pH) fueron uniformes para las zonas cercanas al ingreso del agua de la presa Nexapa en los meses de abril y junio. La dureza observó valores altos en la zona urbana para el mes de enero, mientras que en noviembre se concentró en la zona ganadera.

El nitrito correspondiente a los nutrientes presentó mayor concentración en las zonas destinadas a cultivos, ganadería, bordo de contención y donde existe el ingreso del agua de la presa Nexapa durante el mes de enero y noviembre (**Figura 19**).

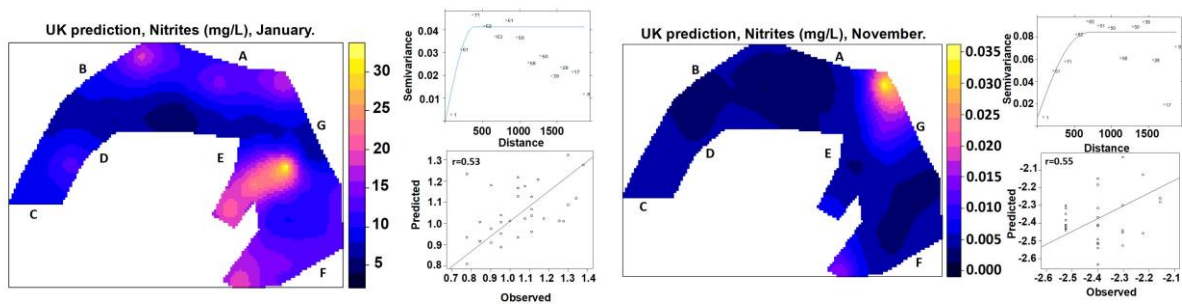


Fig. 19. Interpolaciones de nitritos incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Para los elementos metálicos considerados como contaminantes, el comportamiento se presentó de la siguiente manera. Pb presentó mayor concentración en las áreas urbanas y zona de cultivos las cuales influyeron en las zonas destinadas al turismo, conservación y ganadería durante el mes de junio; durante el mes de septiembre la zona donde claramente se observó mayor concentración es donde hay ingreso de agua de Nexapa. Cr pudo dividirse en dos secciones con altas concentraciones para interpretar su comportamiento, la primera sección la compone, la zona urbana y de cultivos para los meses de enero, abril, septiembre y noviembre; la segunda sección corresponde al ingreso del agua proveniente de Nexapa en junio. Cu se concentró en la zona de cultivos y área de conservación durante el mes de junio (**Figura 20**).

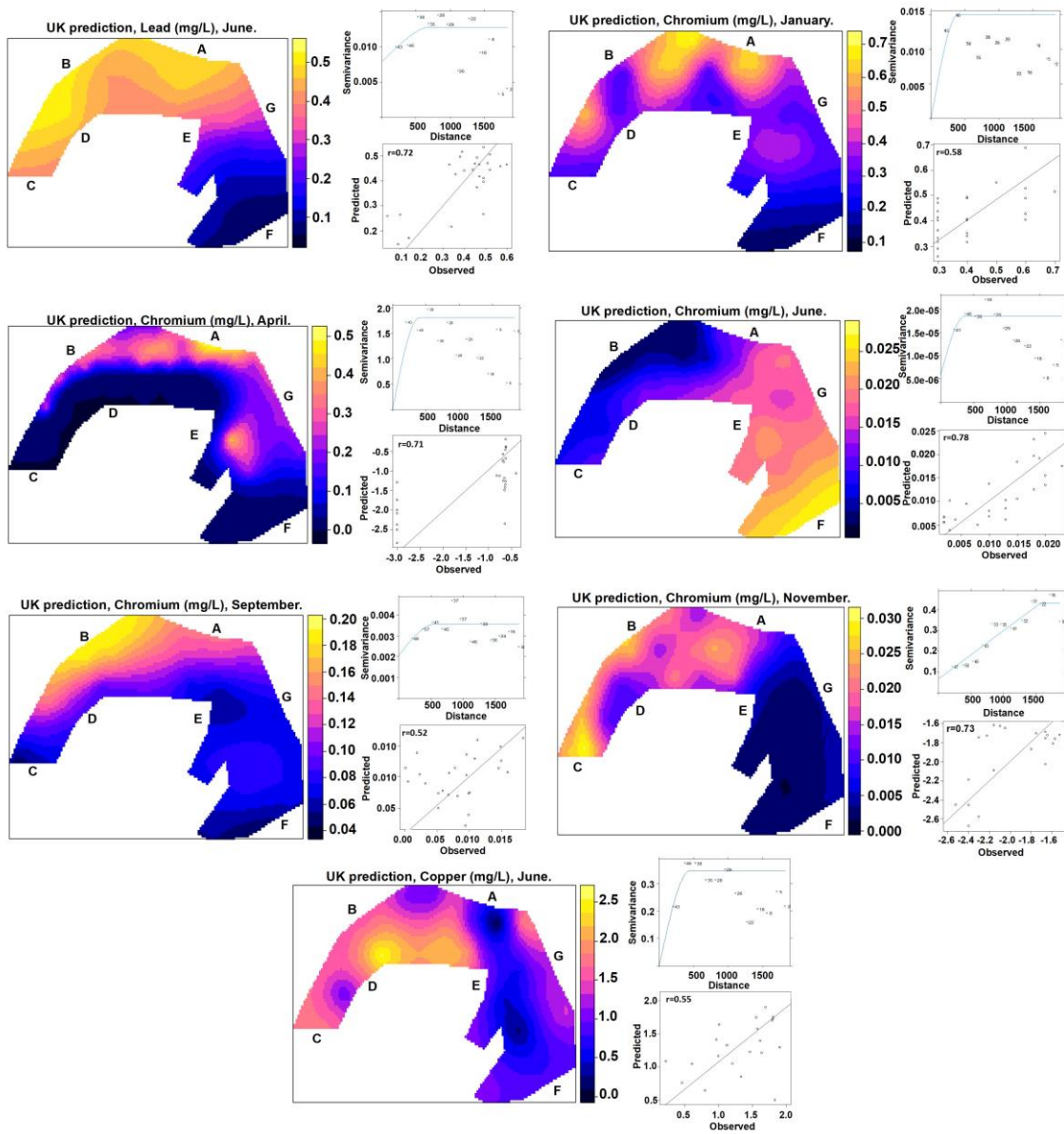


Fig. 20. Interpolaciones de metales incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

El plaguicida Benomilo considerado como otra variable contaminante se concentró siempre en la zona urbana y de cultivos durante las cinco temporadas de colecta (Figura 21).

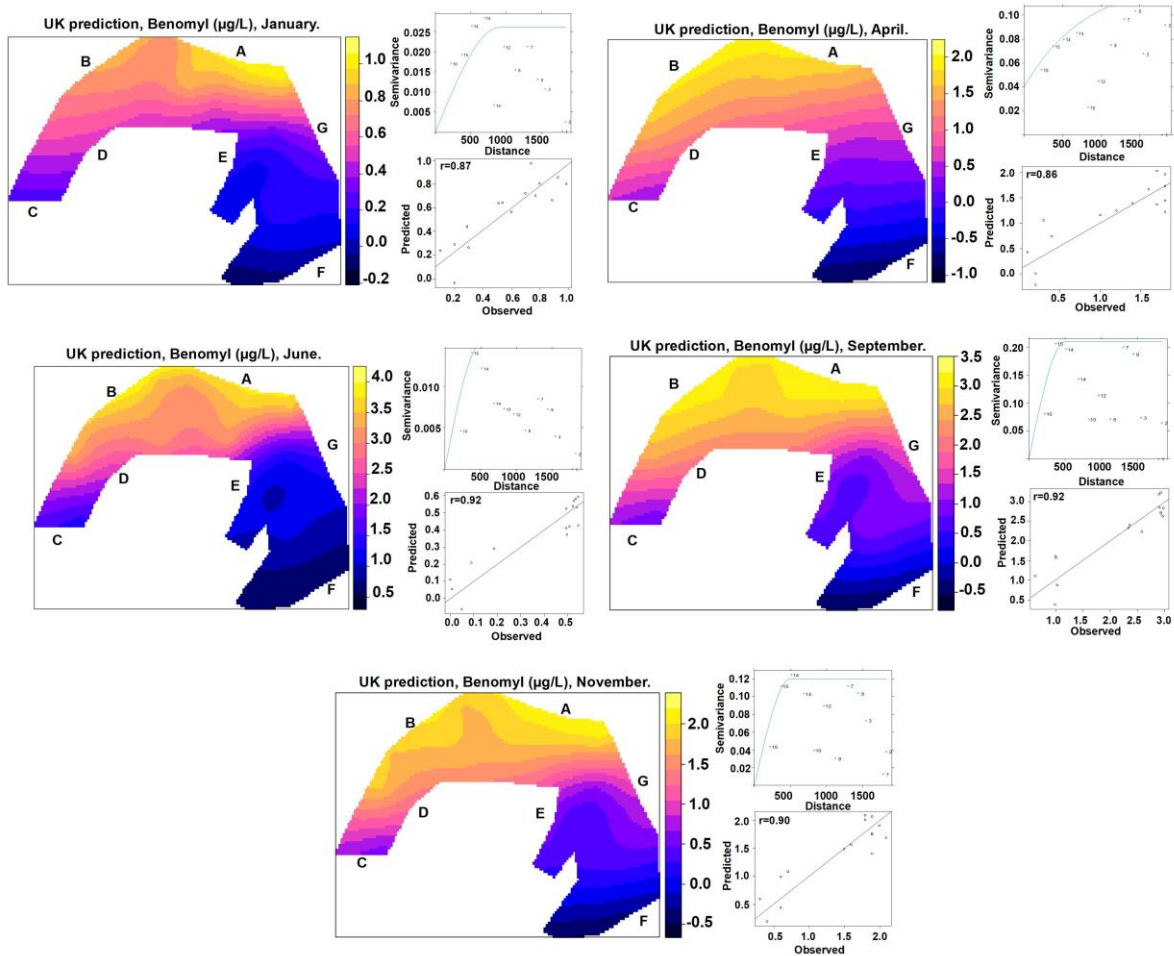


Fig. 21. Interpolaciones de Benomilo incluyendo en recuadros el semivariograma ajustado y gráfico de validación cruzada. Se codifican tipos de cobertura circundantes como A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Algunas variables no mostraron ajuste con algún modelo teórico de acuerdo con los análisis geoestadísticos efectuados por los métodos Kriging ordinaria y Kriging universal. Estos análisis no permitieron dar una explicación sobre el comportamiento de esas variables a nivel espacial. Los meses que presentaron la mayor cantidad de variables con baja correlación fueron: abril, septiembre, noviembre, y junio (**Tabla 18**).

Tabla. 18. Variables que no se ajustaron a algún modelo teórico para kriging ordinario y universal.

<i>Parámetro</i>	<i>Mes</i>	<i>Método</i>	<i>Modelo</i>	<i>Rmse</i>	<i>r</i>	<i>P-Value</i>
<i>O₂</i>	Abril	KO	Hol	0.14	0.39	0.02
		KU	Sph	0.15	0.33	0.05
	Septiembre	KO	Exc	1.92	0.57	0.03
		KU	Exp	2.34	0.22	0.20
	Noviembre	KO	Pen	0.06	0.13	0.43
		KU	Exp	1.95	0.02	0.87
<i>Temp</i>	Junio	KO	Pen	0.03	0.05	0.77
		KU	Sph	1.59	0.08	0.62
<i>pH</i>	Enero	KO	Sph	0.008	0.33	0.05
		KU	Sph	0.009	0.25	0.13
	Septiembre	KO	Exc	0.02	0.16	0.34
		KU	Sph	0.52	0.15	0.37
	Noviembre	KO	-----	-----	-----	-----
		KU	Sph	0.03	0.40	0.01

<i>Nitritos</i>	Abril	KO	Sph	0.35	0.31	0.06
		KU	Sph	0.36	0.22	0.19
	Junio	KO	Pen	0.12	0.14	0.41
		KU	Sph	0.13	0.04	0.79
	Septiembre	KO	Exp	0.18	0.15	0.38
		KU	Sph	0.005	0.22	0.19
<i>Nitratos</i>	Enero	KO	Per	0.15	0.44	0.008
		KU	Sph	0.11	0.31	0.07
	Abril	KO	Exp	0.25	0.17	0.33
		KU	Sph	0.51	0.08	0.62
	Junio	KO	Per	0.50	0.28	0.007
		KU	Per	0.15	0.01	0.09
	Septiembre	KO	Pen	0.12	0.27	0.11
		KU	Sph	0.11	0.46	0.005
	Noviembre	KO	Wav	0.38	0.20	0.25
		KU	Wav	0.50	0.23	0.17
<i>Dureza</i>	Abril	KO	Sph	0.04	0.06	0.71
		KU	Sph	0.04	0.16	0.35
	Junio	KO	Pen	0.03	0.02	0.89
		KU	Exp	0.03	0.06	0.70
	Septiembre	KO	Ste	0.17	0.06	0.69
		KU	---	---	---	---
<i>Fosforo</i>	Enero	KO	----	----	----	----

		KU	Sph	0.63	0.48	0.003	
	Abril	KO	Sph	0.40	0.06	0.70	
		KU	Sph	1.68	0.24	0.15	
	Junio	KO	Pen	0.20	0.17	0.33	
		KU	Cir	0.20	0.06	0.72	
	Septiembre	KO	----	----	----	---	
		KU	Sph	0.06	0.24	0.15	
	Noviembre	KO	---	---	---	---	
		KU	Sph	1.26	0.29	0.08	
<i>Cd</i>	Enero	KO	---	---	----	---	
		KU	---	---	----	---	
	Abril	KO	---	---	---	---	
		KU	---	---	---	---	
	Junio	KO	Exp	0.46	0.01	0.93	
		KU	Sph	0.48	0.03	0.85	
	Septiembre	KO	-----	----	-----	----	
		KU	Sph	0.32	0.03	0.83	
	Noviembre	KO	Wav	0.44	0.41	0.02	
		KU	Wav	0.47	0.02	0.88	
	<i>Pb</i>	Enero	KO	----	----	----	----
			KU	Sph	1.12	0.02	0.90
Abril		KO	Sph	0.41	0.37	0.06	
		KU	Sph	0.40	0.43	0.03	

	Septiembre	KO	----	----	----	----
		KU		0.44	0.33	0.06
	Noviembre	KO	----	-----	-----	-----
		KU	Sph	0.24	0.39	0.03
Cu	Enero	KO	---	---	---	---
		KU	---	---	---	---
	Abril	KO	----	-----	-----	---
		KU	Sph	0.0003	0.14	0.66
	Septiembre	KO	----	-----	-----	-----
		KU	Sph	0.0008	0.21	0.26
	Noviembre	KO	---	-----	-----	-----
		KU	Sph	0.04	0.21	0.26

8.4. Análisis de riesgo ecológico

En el desarrollo del modelo conceptual (**Fig. 22**), se identificaron las actividades antropogénicas de la periferia de la presa Tenango físicamente, las cuales son fuentes de contaminación que influyen en la condición del agua de la presa a través de la aportación de contaminantes específicos. En los alrededores del sitio de estudio se identificaron las siguientes fuentes: ganadería, agricultura intensiva, turismo y asentamientos urbanos(ciudad); además se detectaron otras actividades sobre el propio cuerpo de agua: el nado, los ingresos de aguas provenientes de la presa Nexapa y la pesca. La tilapia *Oreochromis niloticus* fue nuestro modelo biológico de

estudio de la zona por tres razones, la primera de ellas es porque es la especie más representativa de la zona debido a su cultivo en la presa. La segunda es por su valor como recurso alimenticio destinado al consumo humano de los pescadores, personas aledañas a la presa y a los turistas, es por ello que, dicho pez representa una vía importante de exposición a los contaminantes que se bioacumulan en ella, a través de su consumo. La tercera es porque la tilapia permite hacer inferencias de efectos hacia otros organismos que pudieran estar habitando en la presa Tenango y que son de mayor sensibilidad *O. niloticus* ejemplo de ello son *Micropterus Salmoides* o *Chirostoma humboldtiana*, dos especies de peces que se pueden encontrar en el estado de Puebla. Por otro lado, la vía de exposición e ingreso de los contaminantes metálicos como Pb, Cd, Cr, Cu y el plaguicida Benomilo para la tilapia y demás organismos acuáticos que habitan la zona de estudio es la branquial, debido a que a través de las branquias se lleva a cabo el intercambio gaseoso y, por lo tanto, el contacto e ingreso de los contaminantes a los organismos es de mayor facilidad y rapidez.

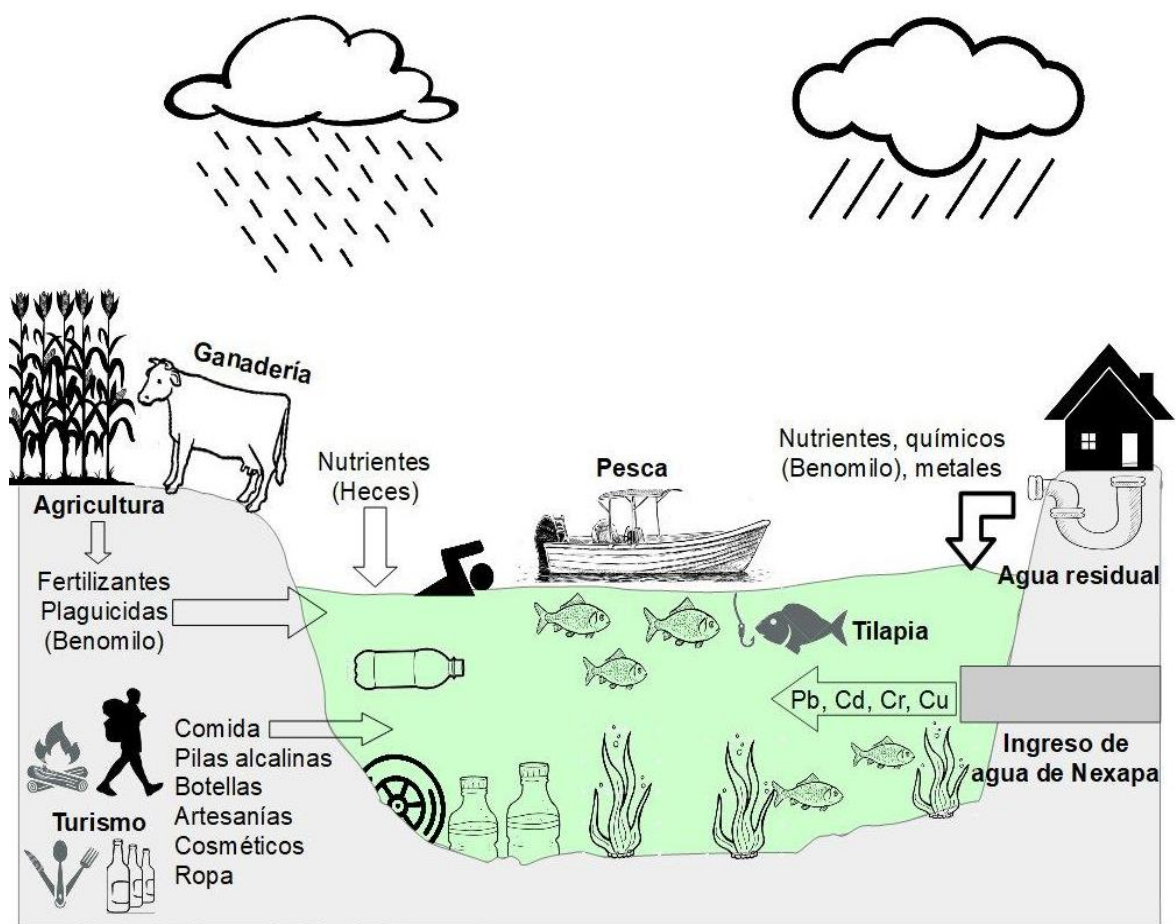


Fig. 22. Modelo conceptual de riesgo de la presa Tenango considerando a las actividades humanas como fuentes de contaminación.

Con las concentraciones ambientales determinadas en el agua y las CL_{50-96h} de metales (1.09 mg_{Cu}/L, 3.75 mg_{Cd}/L, 1.49 mg_{Pb}/L y 1.49 mg_{Cr}/L respectivamente) para la tilapia, se obtuvieron los siguientes coeficientes de peligrosidad (**Tabla 19**).

Tabla 19. Coeficiente de peligrosidad (Q) temporal para *O. niloticus*.

Temporada	Pb	Cd	Cr	Cu
Enero	2.147	---	0.003	---
Abril	1.966	---	0.001	---
Junio	0.268	0.034	0.001	1.256
Septiembre	0.026	0.002	0.001	---
Noviembre	0.020	0.002	0.0002	0.229

--- Por debajo del límite de detección.

Dos elementos se consideraron de riesgo para la tilapia *O. niloticus*, ya que los valores resultantes fueron superiores a 0.1. El primero de ellos fue el Pb durante los meses de enero, abril y junio. El segundo elemento fue el Cu durante los meses de junio y noviembre (**Tabla 19.**).

Por estación de medición se observó lo siguiente. Durante los meses de enero y abril se obtuvieron los coeficientes de peligrosidad más altos para Pb respecto a las demás temporadas de colecta. El 83 % de las estaciones generaron valores superiores a 0.1, siendo las zonas de mayor riesgo para la tilapia: el área urbana, de cultivos, turismo, área conservada e ingreso de agua proveniente de la Presa Nexapa. Para el caso del mes de junio, fueron menores los valores de peligrosidad obtenidos respecto a los meses anteriormente mencionados. No obstante, también se presentó riesgo para el pez en las mismas áreas mencionadas para los meses de enero y abril. En el caso del Cd, únicamente para junio, la primera estación ubicada en el área urbana presentó riesgo. En este sitio se detectó una concentración de 0.37 mg/L de este metal. El Cr no representó riesgo para la especie en los cinco meses de colecta, ésto debido a que la CL_{50-96h} de referencia para este metal es muy elevada. Para el caso del Cu en junio

y noviembre el área urbana, la de cultivos, turismo, área conservada e ingreso de agua proveniente de la Presa Nexapa mostraron valores mayores a 0.1 y, por lo tanto, hubo posibilidad de que se presentaran efectos adversos en la tilapia (**Fig. 23**).

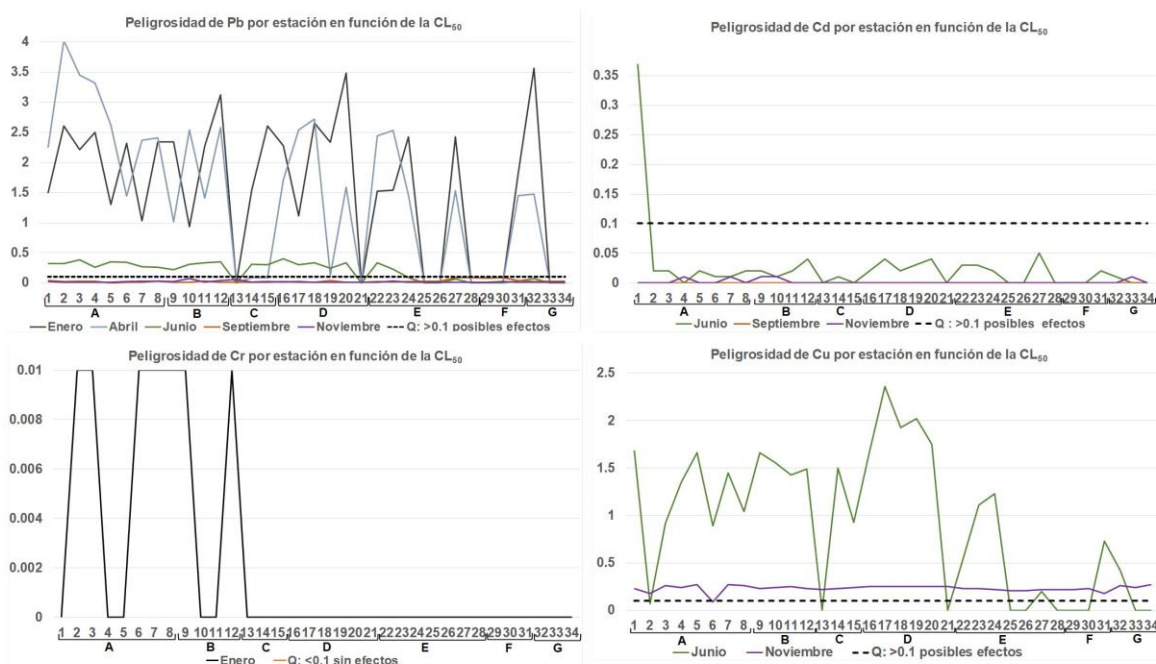


Fig. 23 Coeficientes de peligrosidad por estación en función de la CL_{50} por metal. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligro.

Por otro lado, el análisis de riesgo general al ecosistema efectuado mediante la modificación de la ecuación del coeficiente de peligrosidad con el límite máximo permitido para la protección a la vida acuática ($0.004 \text{ mg}_{Cd}/L$, $0.03 \text{ mg}_{Pb}/L$ y $0.05 \text{ mg}_{Cr, Cu}/L$), arrojó lo siguiente (**Tabla 20**):

Tabla 20. Coeficiente de peligrosidad temporal para el ecosistema acuático de la Presa Tenango.

Temporada	Pb	Cd	Cr	Cu
Enero	106.7	---	8.4	---
Abril	97.7	---	3.2	---
Junio	13.3	32.5	0.2	27.4
Septiembre	1.3	0.3	2.2	---
Noviembre	0.9	2.5	0.3	5

--- Por debajo del límite de resolución.

El Pb fue el elemento que más riesgo representó para la vida acuática de la presa Tenango, es decir, para todos los peces y organismos que tienen una sensibilidad mayor que la tilapia *O. niloticus*. Los meses de enero, abril y junio los valores resultantes estuvieron por arriba de 10, lo que indica probables efectos adversos a la vida acuática según lo establecido por el modelo del coeficiente de peligrosidad. Cd y Cu durante junio, el coeficiente de peligrosidad fue mayor a 10, por lo que, probablemente se produjeron efectos adversos a la vida acuática. Cr en todos los meses el coeficiente de peligrosidad se encontró entre 0.1 y 10, lo que es indicativo según el modelo de posibles efectos adversos a la vida acuática.

El análisis por estación indicó lo siguiente. Para el Pb, durante los meses de enero, abril y junio se generó valores superiores a 10 entre el 61 y 73 % de las estaciones establecidas en la presa. Los sitios de mayor peligro para la vida acuática fueron: área urbana, zona de cultivos, turismo, área conservada, zona ganadera, ingreso de agua de Nexapa y bordo de contención de la presa. Caso similar fue para el Cd y Cu para el mes de junio, donde las mismas áreas representaron riesgo para los organismos

que dependen del agua de la presa. Cr para los meses de enero, abril, septiembre y noviembre presentó valores entre 0.1 y 10. Siendo de nuevamente las áreas mencionadas para el elemento Pb, las estaciones que pueden ocasionar posibles efectos al ecosistema acuático (**Fig. 24**).

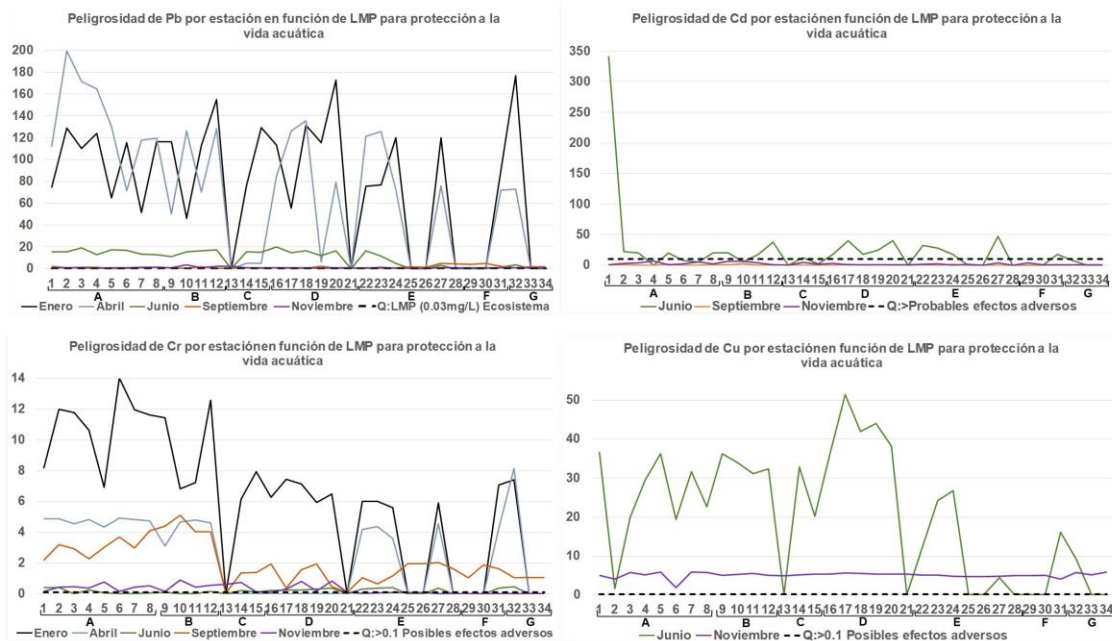


Fig. 24. Coeficientes de peligrosidad por estación en función del límite máximo permitido para la protección a la vida acuática por metal. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligrosidad.

En el caso del plaguicida Benomilo/Carbendazim, El análisis temporal y espacial mostró que los niveles en agua del Benomilo/Carbendazim no generaron valores superiores a 0.1 en ninguna temporada de colecta, por lo que no estuvo en riesgo la tilapia (**Tabla 21**).

Tabla 21. Coeficiente de peligrosidad temporal obtenido a partir de los promedios de las concentraciones de Benomilo/Carbendazim en agua con la CL_{50-96h} para *O. niloticus*.

Temporada	Benomilo/Carbendazim
Enero	0.0000
Abril	0.0003
Junio	0.0006
Septiembre	0.0000
Noviembre	0.0000

Por su parte, el análisis de riesgo por estación mostró lo siguiente:

El plaguicida no representó riesgo para la tilapia en ninguna estación de colecta para las cinco temporadas de colecta (**Fig. 25**).

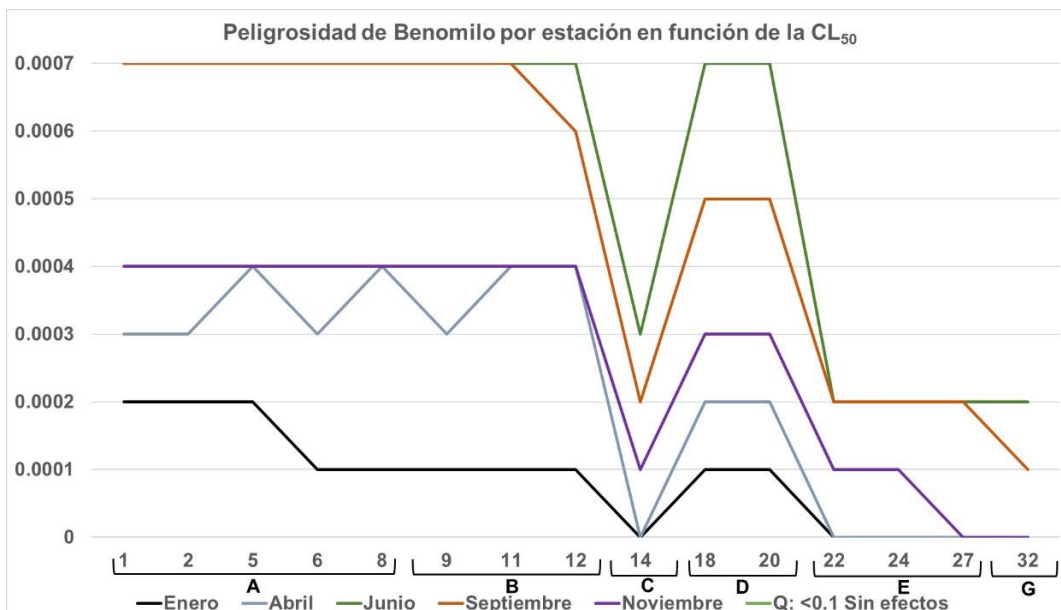


Fig. 25. Coeficientes de peligrosidad por estación en función de la CL₅₀ de Benomilo.

Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona

de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa y, G: bordo de contención de la presa Tenango.

Para el análisis de riesgo general al ecosistema en el que se contempló el límite máximo permitido, se observó que el Benomilo tienen posibilidades de generar efectos adversos para organismos de mayor sensibilidad que la tilapia en todas las temporadas de colecta, ya se obtuvieron valores entre 0.1 y 10 (**Tabla 22**).

Tabla 22. Coeficiente de peligrosidad temporal obtenido a partir de los promedios de las concentraciones de Benomilo/Carbendazim en agua con el límite máximo permitido (0.6 µg/L) para la protección del ecosistema (Dang y Smith, 2008).

Temporada	Benomilo/Carbendazim
Enero	1.0
Abril	1.9
Junio	4.3
Septiembre	3.6
Noviembre	2.3

Por su parte el análisis por sitio mostró que en toda la presa Tenango se tiene posibilidad de que se presenten efectos adversos en organismos de mayor sensibilidad que la tilapia (**Fig. 26**).

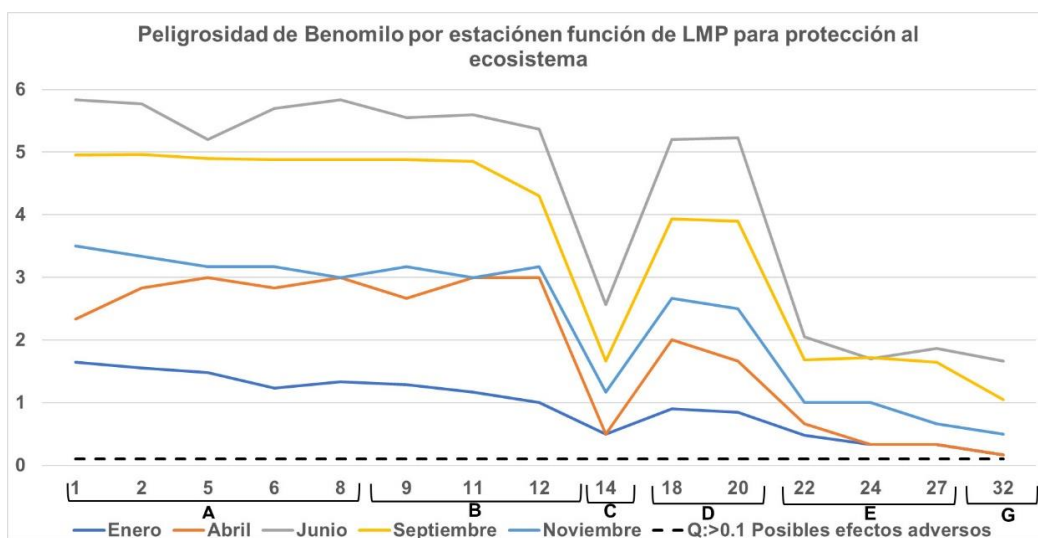


Fig. 26 Coeficientes de peligrosidad por estación en función del límite máximo permitido de Benomilo para el ecosistema. Letras representan las zonas de muestreo A: zona urbana, B: zona de cultivos, C: zona de turismo, D: área conservada, E: zona ganadera, F: ingreso de agua de presa Nexapa, G: bordo de contención de la presa Tenango y, --- coeficiente de peligrosidad.

9. Discusión

9.1. Parámetros fisicoquímicos

Las fluctuaciones en los valores de los parámetros fisicoquímicos se asociaron a la estacionalidad, por ejemplo, el descenso de la temperatura durante el mes de enero se vinculó a los frentes fríos que se presentaron en la zona. El aumento en las

concentraciones de oxígeno durante el mes de junio que corresponde a la temporada de lluvia, se asocia al mayor ingreso de agua pluvial, fenómeno que contribuye a aumentar los niveles de oxígeno en los cuerpos acuáticos (Obregón y Duván, 2006). La dureza fue otra variable posiblemente afectada por la temporada de lluvias, ya que durante los meses de junio y septiembre se incorpora un mayor volumen de agua; en un cuerpo acuático esto implica que disminuyen los niveles de CaCO_3 presentes en el sistema (Arocena y Conde, 1999; Fuentes y Massol, 2002). El aumento del pH durante el mes de septiembre podría deberse a la proliferación de plantas acuáticas que fueron observadas en la zona, ya que según Fuentes y Massol (2002), las plantas acuáticas tienden a capturar el CO_2 presente en el agua para realizar su actividad fotosintética y con ello se contribuye a disminuir la probabilidad de formar ácido carbónico en el medio acuático y, por ende, se favorece la alcalinidad del sistema. Aunado a lo anterior, los ingresos de agua pluvial y escorrentías pueden contribuir con aportes de minerales, aumento del volumen del agua y en consecuencia disminuir la acidez del agua. Por otro lado, el promedio del pH de 10.43 alcanzado durante ese mes pudo haber provocado aletargamiento, inapetencia, así como retardo en el crecimiento y la reproducción de la tilapia (Saavedra, 2006).

9.2. Nutrientes

Los niveles de los nitritos siempre estuvieron más altos en relación con los nitratos. Lo anterior puede ser explicado, por el proceso de fijación del nitrógeno, en el que primeramente el amoníaco es transformado a nitrito y después es oxidado a nitrato por algunos organismos procariontes; por lo que, los niveles de los nitritos tienden a ser

mayores que los nitratos durante el proceso de fijación en los cuerpos acuáticos (Lenntech, 2018). Adicionalmente, existen otros factores que influyen en los niveles de nitritos y nitratos, estos pueden ser: la deposición atmosférica, las escorrentías superficiales, la disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno y la descomposición biológica de la materia orgánica, así como a fuentes antropogénicas entre las que se puede identificar: el aporte de excretas o heces por parte del ganado o animales domésticos, el desperdicio de alimenticios y el uso de fertilizantes (Camargo, 2007; Fuentes y Massol, 2002). Cabe destacar que, la actividad antropogénica en los alrededores de la presa es muy notoria, ya que existe la presencia de residuos alimenticios por parte de la actividad turística; además de, evidentes aportes de heces en las cercanías del cuerpo de agua provenientes de la zona ganadera y el uso excesivo de fertilizantes por parte de los agricultores en las zonas de cultivo ubicadas en las pendientes de una sección de Tenango. Estudios efectuados a la tilapia mencionan que valores de nitritos superiores a 0.1 mg/l pueden ocasionar estrés fisiológico al pez debido a la inducción de lesiones en las branquias, dificultad en la respiración debido a que el nitrito oxida el hierro de la hemoglobina de Fe^{+2} a Fe^{+3} , formando metahemoglobina, la cual imposibilita el transporte del oxígeno en el sistema circulatorio del organismo y generándole letargia (Jensen, 2003; Kroupova *et al.*, 2008; ISA, 2007). Valores elevados se registraron durante los meses de enero, abril, junio y septiembre, en estas condiciones los valores fueron superiores a los establecido como seguro para cultivar a la tilapia. La generación de metahemoglobina implica que, aunque los niveles de oxígeno disuelto sean

aceptables, los organismos afectados por los elevados niveles de nitratos pueden no estar bien oxigenados, lo que afectará en sus funciones y desarrollo.

El agua de la presa no se utiliza directamente para el consumo humano. No obstante, llega a haber contacto con este líquido cuando en ocasiones los pobladores o visitantes ingresan a la presa para nadar, la posible ingestión de agua con niveles de nitritos elevados puede ocasionar la formación de metahemoglobina que imposibilita el transporte de oxígeno a través del sistema circulatorio, lo cual produce dolores de cabeza, calambres y vómito, (ATSDR, 2015).

El fósforo mostró también diferencias significativas estacionales que pudieran asociarse a ingreso de agua residual proveniente de los hogares ubicados en la periferia de la presa Tenango. Se ha reportado que este tipo de agua puede contener materia orgánica rica en fosforo y detergentes, estos últimos pueden contener hasta 40% de fosfatos en relación con el peso del producto (Alfonso y Pérez, 2010; Castiglioni, 2010). Existen otros factores que modifican el nivel de fósforo, los cuales pueden presentarse simultáneamente, las lluvias, las escorrentías y la utilización de fertilizantes en zonas de cultivos son ejemplo de ello. El agua pluvial lava los suelos donde se encuentran los cultivos de plantas ornamentales en los cuales se utilizan los fertilizantes para el crecimiento de estas y, al escurrir a la cuenca acarrea el fósforo que formó parte del fertilizante hacia el agua (Fuentes y Massol, 2002; FAO, 2002). Las concentraciones registradas durante las colectas rebasaron los límites establecidos en las normas mexicanas para uso urbano (0.1 mg/L) y para protección de la vida acuática (0.05 mg/L), a pesar de lo cual estos no se consideraron un

problema para la tilapia ya que se encuentran dentro los intervalos idóneos para su cultivo 0.01 a 3.0 mg/L (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014). Caso similar para el ser humano, ya que su posible contacto con el agua no representa problema para la salud, pues las concentraciones de 2.5 mg/L no representan riesgo (Mencías y Mayero, 2000).

9.3. Metales en agua y tilapia

El incremento del Pb y Cr durante los meses de enero y abril podría ser explicado con el supuesto de que, durante estos meses, la presa Tenango recibió descargas de aguas provenientes de la Presa Nexapa, debido a la apertura de compuertas, actividad que se llevó a cabo como una medida precautoria para disminuir los niveles de agua de este sitio dadas las intensas lluvias que se registraron en la zona. Ello pudo arrastrar trazas metálicas, las cuales fueron detectadas en cantidades mayores sólo cuando ocurrió este evento. El Cd y Cu presentaron los niveles más altos durante junio, mes que coincidió con el inicio de la temporada de lluvia y que probablemente produjo arrastres de materiales provenientes de las zonas destinadas al turismo y la zona agrícola aledañas a la presa Tenango. Como consecuencia de estas actividades se desechan: pilas, llantas, botellas de plástico, así como contenedores de fertilizantes y plaguicidas que podrían contener trazas metálicas en su fabricación (Moreno, 2003). Aunado a lo anterior, existen ingresos de agua residual provenientes de las casas ubicadas en la periferia del sitio de estudio. Las aguas residuales suelen caracterizarse por sus altos contenidos de metales (González-Ramírez *et al.*, 2009), por lo que podrían estar contribuyendo a la contaminación del sitio.

Las altas concentraciones de metales registradas en el agua según el mes de colecta pudieron haber ocasionado diversos efectos tóxicos en los peces locales, incluido *O. niloticus*. El Pb alcanzó niveles promedio 100 veces superiores a los establecidos en las normas mexicanas en los meses de enero y abril. A este nivel es posible proponer que podría generar efectos asociados a la toxicidad de este metal, tales como la disminución en la capacidad de desplazamiento de los peces, estrés oxidativo y daño en los eritrocitos, teniendo en cuenta los estudios previos sobre toxicidad del Pb realizados con tilapia y otros peces, bajo concentraciones de exposición de 0.8 mg/L a 1.6 mg/L (El-Badawi, 2005; Ercal *et al.*, 2001; Hou *et al.*, 2011).

El Cr llegó a presentar concentraciones promedio 8 veces superiores a los límites permitidos en los mismos meses de enero y abril. La exposición a este metal puede provocar secreción excesiva de moco, disminución de la capacidad respiratoria y de osmorregulación, congestión en los vasos sanguíneos e hipertrofia de espermatozoides, como se ha demostrado en estudios con tilapia y trucha expuestas a concentraciones de 0.01, 0.1 y 0.35 mg/L de Cr (Ackerman, 2008; Benoit 1976; Arillo y Melodio, 1988).

La tilapia también reflejó el incremento de las concentraciones del Pb y Cr en el agua durante los meses de enero y abril, ya que en dichos meses se registraron las concentraciones más altas de estos elementos, que rebasaron hasta 14 y 9 veces los límites aceptables para músculo, en el caso de Pb y Cr, respectivamente. Aunado a lo anterior, el consumo de pescado con concentraciones del Pb como las registradas en las muestras, se han asociado en otros estudios a un cuadro de intoxicación por este

metal, el cual se caracteriza por una disminución de las protoporfirinas, pigmentación de eritrocitos, dolor abdominal, cefaleas, estreñimiento y náuseas (Valle, 2000). En el caso del Cr, las concentraciones pueden vincularse con la generación de irritación gastrointestinal, dolor abdominal, vómito o diarrea en humano (Mencías y Mayero, 2000; Kaufman *et al.*, 1970).

El Cd alcanzó niveles promedio 30 veces superiores a los aceptables en las normas, en el mes de junio. La exposición a 0.1 mg/L concentración de Cd genera congestión en los vasos sanguíneos, disminución en la concentración de hemoglobina e inflamación celular (Dyk *et al.*, 2007; Gill y Epple, 1993). Las concentraciones del Cu coinciden con las de Cd en el sentido de que en el mes de junio los límites aceptados fueron rebasados por 30 veces también. Niveles elevados de Cu (0.02 mg/L) ocasionan una variación en las concentraciones de metionina, histidina y cisteína en los organismos acuáticos debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (Harris y Githlin, 1996; Grosell y Wood, 2002).

Los meses de enero y abril presentaron niveles elevados de Cd en tilapia, sin embargo, no coincidieron con el periodo de colecta (junio) en la que hubo una concentración alta en agua, a diferencia del Pb y el Cr, en donde se presentó una correspondencia entre las temporadas con mayor concentración en agua con lo acumulado en tejido. Los niveles elevados de Cd se registraron en los meses de enero y abril, y fueron cuatro veces superiores a los aceptables en músculo. Los niveles de Cd presentes en la tilapia se han llegado a asociar a pequeñas alteraciones en los túbulos renales en

consumidores de pescado (Pérez y Azcona, 2012). Por otro lado, los niveles de cobre no rebasaron los límites definidos en las normas.

La concentración de los metales, excepto el Cd, fue mayor en el hígado que en el músculo en *O. niloticus*, esto se debe a que dicho órgano es el encargado de metabolizar las sustancias que ingresan al cuerpo, incluidos los metales, este resultado coincidió con lo reportado por Abdulali, *et al.* (2012).

El orden de los elementos que presentaron mayor factor de bioconcentración fue Cr>Pb>Cd>Cu, esta tendencia fue similar a lo reportado en estudios efectuados con tilapia, pez gato y pez pulmonado de mármol en Arabia Saudita (Abdel-Baki *et al.*, 2011), Kenia (Francis y Faith, 2016), Egipto (Mostafa *et al.*, 2015) y Nigeria (Ishaq *et al.*, 2011).

En cuanto a la calidad de las tilapias, las características fuera de lo esperado fueron la longitud y peso de los animales. Varios estudios indican que la posible causa de que los organismos tengan pequeños tamaños corporales puede deberse también a los efectos de las concentraciones de metales como el Cd, Cr y Cu, ya que se han reportado problemas en el crecimiento o desarrollo en peces por exposición a estos (Shiau y Ning, 2003; Abbas *et al.*, 2007; Vinodhini y Narayanan, 2008; Reid, 2011).

En cuanto a la relación concentración de metal-peso, metal-longitud; nuestro trabajo coincidió con lo encontrado por Authman (2008), quien menciona que un organismo expuesto a metales puede incorporarlos en sus tejidos de manera paulatina y gradual; por lo que tallas más grandes tienden a presentar mayores concentraciones de metal.

Esto se presentó incluso en el caso del Cu, metal que no alcanzó niveles muy elevados de acumulación, pero que es esencial. Aunado a lo anterior, autores como Canli y Atli (2003) y Evans *et al.* (1993), mencionan que la incorporación de los metales en los peces es favorecida por la alimentación y la respiración, y en algunos casos se presenta menor regulación metabólica conforme adquieren mayor edad por lo que tienden a acumular más.

Muchos metales tienen la capacidad de inducir la síntesis de metalotioneínas como una respuesta para equilibrar los niveles de metales en el organismo, por lo que, entre mayor sea la concentración de metales, mayor será la concentración de metalotioneínas (Atli y Canli, 2003; Roesijadi, 1992; Hamilton y Mehrle, 1986). Esto se confirmó través de correlaciones, en las cuales se observó una relación positiva, que indica que las metalotioneínas son inducidas por la presencia y concentración de los metales. El hígado fue el órgano donde se encontraron los niveles más altos de metales y de metalotioneínas, lo que se coincide con lo reportado por Gülüzar y Canli (2008), Hauser-Davis *et al.* (2014), Lim *et al.* (1998), Chatterjee *et al.* (2016) y Chandrasekera *et al.* (2008), quienes indican que en el hígado se acumulan más metales respecto a otros tejidos y se inducen más metalotioneínas.

9.4. Benomilo en agua y tilapia

El incremento del Benomilo/carbendazim durante los meses de junio, septiembre y noviembre podría estar relacionado con el periodo de lluvia y el aumento del uso del plaguicida durante dicha temporada. Se ha reportado que, durante el periodo de lluvia, el agua pluvial lava los suelos de las zonas agrícolas, ello provoca acarreamiento de

los compuestos químicos que pudieran estar presentes en los suelos de dichas zonas, lo que contamina los cuerpos acuáticos y mantos freáticos circundantes (Rosas, 2001). No obstante, otro factor que también podría estar contribuyendo con la presencia de este compuesto químico en el cuerpo del agua serían los ingresos de aguas residuales provenientes de las casas que se encuentran en la periferia de la presa ya que una parte de ellas son propiedad de los agricultores. Se ha reportado que las aguas residuales pueden contener compuestos químicos como los plaguicidas (Orta, 2002).

De acuerdo con el LMP para el ecosistema ($0.6 \mu\text{g/L}$), las concentraciones de Benomilo se consideraron altas durante los meses de abril, junio, septiembre y noviembre. Sin embargo, Min y Ju-Chan (2008) reportaron que *O. niloticus* puede soportar hasta $99 \mu\text{g/L}$ de Benomilo sin manifestar efectos fisiológicos y solo a partir de $100 \mu\text{g/L}$ se comienza a observar en el pez la disminución de la hemoglobina, el aumento en triglicéridos, en colesterol y en albumina (Min y Ju-Chan, 2008).

En cuanto a la calidad de las tilapias, se observó una correlación positiva entre longitud y peso con la concentración de Benomilo en músculo. Sin embargo, los tamaños corporales pequeños de los ejemplares se pueden atribuir más a la presencia de los metales que al plaguicida, ya que el pez tolera altas concentraciones del químico según Min y Ju-Chan (2008) y porque no hay información en literatura especializada que relacione las concentraciones observadas con la disminución del tamaño y peso de estos.

De esta manera, el presente trabajo coincide con lo reportado por Authman (2008), mencionado con anterioridad, en el cual el autor menciona en síntesis que, entre mayor sea el tamaño y peso de los ejemplares, mayor será la bioacumulación de un contaminante en los tejidos. La presencia de dicho compuesto químico en el tejido de tilapia podría derivar del alimento contaminado por este plaguicida, que posteriormente es consumido por el pez, así como también de una segunda ruta de exposición que es la propia respiración (Badii *et al.*, 2006; Chovanec *et al.*, 2003), ya que el Benomilo se encuentra en el agua.

En el experimento de Min y Ju-Chan (2008), único trabajo publicado en el que se menciona la exposición de la tilapia al Benomilo, no se evaluó la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa (AChE). En el presente estudio se observó una correlación negativa entre la concentración de Benomilo y la actividad de la enzima en músculo, lo que indica que las AChE podría estar inhibida por la presencia de Benomilo/Carbendazim. Por lo que, es adecuado considerar en un futuro la realización de un experimento de laboratorio en el que se evalué la actividad de la enzima en la tilapia a las concentraciones que en nuestro trabajo se registraron, para averiguar si el plaguicida inhibe la AChE. En caso de que fuera corroborado sería una aportación y se contrapondría a lo mencionado por Min y Ju-Chan y en el caso contrario, reforzaría el planteamiento del autor sobre su alta resistencia de *O. niloticus* al químico y entonces podría deberse a algún otro plaguicida de efectos similares que se encuentre en el agua y que no fue evaluado en la investigación

9.5. Análisis de riesgo para tilapia con metales

De acuerdo con el modelo de riesgo. Los metales que representaron un mayor riesgo ecológico para la tilapia fueron el Pb y el Cu. El Pb porque mostró niveles elevados en: enero y abril en agua y en tilapia, y en junio sólo en agua; en tanto que, el Cu tuvo valores elevados en los meses de junio y noviembre en agua y bajos en tejido, pero la correlación entre los niveles del agua y el animal fueron elevados y significativos. Por otro lado, también el Cu se detectó en concentraciones importantes en la tilapia al inicio del año, en enero y en abril.

La hipótesis explicativa de los niveles de metales detectados en la presa es presuntivamente la apertura de las compuertas de las presas aledañas a Tenango, las cuales están interconectadas, para liberarlas del exceso de agua que habían acumulado por los nortes. Dicha liberación de agua pudo acarrear trazas metálicas que pudieron estar presentes tanto en el agua de las otras presas, como en los sedimentos de estas y de la misma de Tenango. Así como también por el efecto del agua pluvial que lavó los suelos de las zonas de agricultura y que posiblemente arrastró trazas metálicas que estaban contenidas en los productos utilizados como plaguicidas y fertilizantes.

Es necesario mencionar que durante los meses de enero y abril para el Pb y junio-noviembre para el Cu, las concentraciones promedio de estos elementos se encontraron por arriba de la CL_{50} de $1.49 \text{ mg}_{\text{Pb}}/\text{L}$ y $1.09 \text{ mg}_{\text{Cu}}/\text{L}$ planteados en el trabajo de Abdulali *et al.* (2013). Es importante analizar estos valores de CL_{50} por dos razones. La primera es explicar porque las tilapias de la Presa Tenango no mueren ante tales

concentraciones, y la segunda, que la pesquería de la especie podría estar afectada. En el primer caso, el supuesto que daría respuesta sería que las tilapias capturadas durante esas temporadas eran ya jóvenes maduras en etapa de reproducción. Según SAGARPA (2006), las tilapias alcanzan un tamaño de 15 cm en un periodo de 6 a 12 meses, meses en los cuales alcanzan su edad de reproducción; las tilapias capturadas en la zona de estudio se encontraban en un intervalo de 15.56 cm a 18.66 cm, por lo que podemos suponer que los ejemplares se encontraban ahí desde tiempo atrás; en tanto que en el trabajo de Abdulali, las tilapias utilizadas en su experimento eran alevines y cuyo tamaño era en promedio de 3.3 cm y 1.5 g. Esto explicaría porque estas concentraciones no son letales para las tilapias maduras extraídas de la presa Tenango. La segunda razón por la cual es necesario asociar estas CL_{50} al comportamiento de la pesquería, es que los pescadores observan cada vez que la producción de la tilapia decae. Esto podría deberse por un lado, a la sobre extracción de los ejemplares y por el otro, a que los metales como plomo y el cobre podrían alcanzar niveles letales (dependiendo de la temporada) y provocar mortandad de los alevines provenientes de las tilapias nativas de la Presa Tenango, o bien, en el caso de las que logran sobrevivir, ocasionar un retardando en el crecimiento de estos animales, lo que se plantea con base en los trabajos de: Shiau y Ning (2003), Abbas *et al.* (2007), Vinodhini y Narayanan (2008) y Reid (2011), los cuales fueron mencionados anteriormente.

Los límites máximos permisibles planteados como seguros por la Ley Federal de Derechos en materia de Aguas Nacionales según la CONAGUA (2016), para proteger

la vida acuática, no se cumplen en la presa, por lo que las condiciones detectadas no protegen en realidad a la tilapia de los efectos del Pb y Cu en la presa Tenango. Esto podría poner en riesgo la presencia y supervivencia de la tilapia en el sitio de estudio. Además, compromete la economía de los pescadores por su escasez y la salud de los consumidores que utilizan este producto como alimento dadas las concentraciones detectadas en el tejido muscular.

9.6. Análisis de riesgo a la vida acuática de Tenango por metales

El análisis indicó que, el Pb, Cd y Cu fueron los elementos de mayor peligro para los organismos acuáticos pertenecientes a la presa. Las altas concentraciones de los metales antes mencionados en el agua ocasionaron que los coeficientes de peligrosidad fueran altos al relacionarlos con los límites máximos para la vida acuática. Es importante indicar que los límites máximos permitidos para la protección de la vida acuática contemplados en la Ley Federal de Derechos (CNA, 2016) son valores que fueron retomados y estandarizados, a partir de los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (DOF, 1989). Por lo tanto, basándonos en dichos criterios, el Pb durante los meses enero, abril y junio y, el Cd y el Cu en junio no cumplieron con la calidad del agua requerido para mantener las interacciones e interrelaciones entre los organismos vivos, de acuerdo al equilibrio natural de los ecosistemas de agua dulce continental. Por lo tanto, especies de peces de mayor sensibilidad que la tilapia *O. niloticus* como, la lobina *Micropterus Salmoides* o el charal *Chirostoma humboldtiana* (Torres-Bugarín *et al.*, 2007), peces que pueden ser encontrados en la Cuenca Hidrográfica del río

Necaxa, Puebla (INE-UACH, 2007); pueden ser afectados más que nuestro organismo de estudio.

Los ingresos de aguas provenientes de la presa Nexapa y las lluvias locales aunado a las actividades antropogénicas ubicadas en la periferia del sistema acuático de Tenango anteriormente expresados, son las posibles causas del por qué el peligro a la vida acuática fue mayor durante los meses antes mencionados y en las zonas que comprenden el área urbana, de cultivos, de turismo, bordo de contención e ingreso del agua de Nexapa, todo ello ya fue argumentado anteriormente.

9.7. Análisis de riesgo para la tilapia y a la vida acuática de Tenango por Benomilo

Si bien las concentraciones de Benomilo/Carbendazim en tilapia no fueron elevadas, se observó un incremento en el agua durante los meses de junio, septiembre y noviembre, y en dichos meses se acumuló más este compuesto químico en los peces. No obstante, el consumo del pescado con dichas concentraciones de plaguicida durante esas temporadas no representó riesgo, debido a que estuvieron muy por debajo del límite establecido como seguro para productos cárnicos según la NOM-004-ZOO.1994, y también muy por debajo de concentraciones consideradas peligrosas. Estudios toxicológicos efectuados en mamíferos, por ejemplo, en ratas indican que a una concentración de 200 mg/Kg de este plaguicida, ocasiona efectos como apoptosis, daño en hígado y cambio en la bioquímica sanguínea (Toxnet, 2016). Es importante mencionar que no existe una norma en México o a nivel internacional en donde se

contemple el límite máximo permitido para este fungicida en productos pesqueros destinados a la venta o consumo humano.

En función de los resultados de riesgo obtenidos con los datos del plaguicida Benomilo/Carbendazim, se considera que: este fungicida no representó riesgo para la tilapia, ya que no compromete su supervivencia en la Presa Tenango y por no poner en riesgo la salud de sus consumidores, debido a las bajas concentraciones del plaguicida acumuladas en el tejido muscular. No obstante, para el ecosistema en general de la presa, el riesgo fue mínimo ya que los valores indican posibles efectos adversos para los organismos o peces de mayor sensibilidad que la tilapia; tal vez en estos organismos se pueda observar, la inhibición de la acetilcolinesterasa más acentuada y los efectos reportados por Min y Ju-Chan para nuestro organismo de estudio (niveles de colesterol, triglicéridos y albumina altos) se presenten más tempranamente en función de la concentración.

Cabe mencionar que, a pesar de que el plaguicida no haya representado riesgo para el organismo de estudio, si existe riesgo para organismos de mayor sensibilidad. Aún más, el Benomilo/Carbendazim no debería estar presente en el sistema acuático de la presa Tenango ya que, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (2018), este fungicida tiende a degradarse rápidamente debido a que su vida media es apenas de 19 horas en el suelo y 2 horas en el agua; por lo que su presencia en el agua debería ser difícil de encontrar. Con lo anteriormente expuesto, el Benomilo no debería detectarse en la presa Tenango, sin embargo, nuestro estudio sí logró cuantificarlo. Probablemente no se le esté dando un buen manejo a este producto y,

por lo tanto, en cualquier momento podría presentarse un riesgo para la tilapia y demás organismos acuáticos de la presa Tenango.

En México hace falta establecer un límite máximo permitido para el Benomilo/Carbendazim en agua, ya que en este momento no existe uno enfocado a la protección de la vida acuática. El límite planteado por Dang y Smith (2018), utilizado en este trabajo para la interpretación de los resultados de Benomilo, representa un esfuerzo para proteger a los ecosistemas de los efectos de este agente químico. Sin embargo, el límite fue rebasado en el agua. Es importante recordar que la tilapia bajo exposición de 100 $\mu\text{g/L}$ manifiesta efectos negativos. No obstante, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA, 2014) ha hecho un esfuerzo importante al reportar valores de toxicidad con este agente químico para solo dos especies de peces dulceacuícolas, tales organismos son el pez gato *Ictalurus punctatus* ($\text{LC}_{50}= 10\mu\text{g/L}$) y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* ($\text{LOAEC}= 54\mu\text{g/L}$). Por tal motivo, se requiere profundizar con más estudios de laboratorio para determinar las concentraciones a los cuales diferentes organismos acuáticos dulceacuícolas presentan efectos adversos por exposición a este químico y con ello, proponer una concentración media que proteja a los peces dulceacuícolas. Finalmente, es importante continuar y profundizar con los estudios en este sitio y con otros organismos nativos de esta presa para detectar posibles efectos adversos que dependen de este recurso líquido y con ello, proponer estrategias de manejo del recurso líquido de la zona y prevenir aun más su deterioro.

9.8. Análisis Geoestadísticos

Respecto al análisis de SIGs se puede inferir que, la temporalidad y las actividades humanas fueron factores que influyeron en la captura de la estructura espacial de las variables analizadas para algunos meses. Por ejemplo, en el caso de oxígeno para enero y junio (r de 0.71 y 0.81 respectivamente) el haber podido capturar la tendencia espacial de la variable puede deberse al efecto de la lluvia. Cuando existen lluvias intensas, el ingreso del agua pluvial tiende a homogenizar las concentraciones de este gas en la superficie de los cuerpos acuáticos. A diferencia de cuando no hay lluvias o son esporádicas o con poca intensidad, la uniformidad de los valores de parámetros del agua de un determinado sitio tiende a fluctuar (Graves *et al.*, 2004; Barceló, 2012; Bayram, 2013). No obstante, los incrementos puntuales de oxígeno disuelto durante enero en las zonas de bordo de contención, área urbana, cultivos y turismo pueden deberse a lo mencionado por Obregón y Duván (2006). Estos autores indican que el agua de lluvia tiende favorecer el incremento de oxígeno disuelto del agua de un sitio particular, debido a su acumulación momentánea en zonas planas en tierra firme, las cuales al saturarse tienden a formar pequeños canales o escurrimientos que se conectan con los cuerpos de agua, favoreciendo con ello un aumento en los niveles de oxígeno disuelto en una o varias zonas puntuales. Esto puede pasar en la Presa Tenango, ya que las zonas antes mencionadas se encuentran en pendientes y cuando llueve, suele observarse la formación de pequeños canales de agua que conectan con la presa producto de la acumulación del agua en tierra firme. Por su parte, durante el

mes de junio el incremento de oxígeno se debió al efecto del ingreso del agua de Nexapa que influyó en los niveles de este gas hasta la zona ganadera.

La homogeneidad en los valores de la temperatura del agua de la presa permitió capturar en buena medida la estructura espacial de esta variable durante los meses de enero, abril, septiembre y noviembre (con r de 0.69, 0.66, 0.51 y 0.52 respectivamente). A excepción de septiembre, en enero, abril y noviembre prácticamente no hay presencia de lluvias y ello pudo favorecer capturar el patrón de variabilidad espacial. También pudo existir influencia de la temperatura ambiental de la zona, ya que al estar ubicada en la parte alta de la sierra y cubierta por las nubes, esta temperatura tiende a ser baja y a influir en la temperatura del sistema acuático (Solís *et al.*, 2010; Gómez- Márquez *et al.*, 2007; Villalobos, 2006). No obstante, la captura de la estructura espacial para abril pudo estar relacionada a ingresos de agua de Nexapa y de pequeños escurrimientos provenientes de la zona de cultivos, ya que de acuerdo con Rodríguez (2009), los ingresos de aguas externas como escorrentías y agua residual provenientes de ciudades o zonas de agricultura pueden influir en la temperatura del agua de una zona (Rodríguez, 2009). En junio la temporada de lluvias está bien establecida y es posible que eso haya impedido la captura del patrón de variabilidad espacial para ese mes.

La uniformidad de los valores de pH durante los meses de abril ($r = 0.81$) y junio ($r = 0.86$) pudieron propiciar la captura de su estructura espacial. Ello puede deberse a los ingresos de aguas provenientes de la presa Nexapa ya que cuando un cuerpo de agua capta el agua de otro, suelen generarse modificaciones en las propiedades químicas

del agua como pH y generar tendencias en la distribución de la variable producto de la corriente del agua que ingresó al sitio (Chapra, 1997). Las lluvias e ingresos de agua por escorrentía suelen acarrear sedimentos que tienen a influir en el pH y conducidos por las corrientes de agua del sitio tienden a distribuir minerales homogéneamente (Fuentes y Massol, 2002). Para enero, septiembre y noviembre no fue posible la captura de la estructura espacial del parámetro. Enero y noviembre son los meses más secos entre los analizados por lo que ese puede ser un factor que explica esta situación.

La captura de la estructura espacial de la dureza durante el mes de enero (0.87) y noviembre (0.88) puede deberse a la presencia de lluvia abundante, ya que cuando son muy intensas el material particulado en el medio acuático tiende a incrementarse. Ello se genera por lavados efectuados al suelo o por remoción de sedimentos que poseen minerales ricos en CaCO_3 . Las corrientes del sistema tienden a distribuir los minerales en el medio acuático. No obstante, con el paso del tiempo e ingreso de volúmenes mayores de agua, las concentraciones de CaCO_3 tienden a diluirse (Kendirim, 2005). Por otra parte, dureza en el mes de enero aumentó en la zona aledaña a las áreas urbanas. Ello puede deberse posiblemente a una fuente puntual como, por ejemplo, un escurrimiento que arrastró sedimentos o suelo arcilloso que propició el aumento de minerales en dicha zona favoreciendo el incremento. En noviembre, el incremento puede atribuirse a factores como el escurrimiento y estancamiento del agua dada la forma de la presa en la zona ganadera, lo cual puede

haber favorecido la acumulación de minerales en dicha área (Rodríguez, 2009; Fuentes y Massol, 2002).

La captura en buena medida de la estructura espacial de nitritos en los meses de noviembre ($r = 0.53$) y enero ($r = 0.53$) puede deberse al efecto que tuvieron los ingresos de agua pluvial durante los meses previos de la época de lluvias que generaron un incremento de aportes provenientes de fuentes externas como los de la presa Nexapa. Las corrientes y la fuerza de arrastre de la masa del agua que ingresa a los sistemas acuáticos tienden a distribuir en algunos casos a los nitratos y nitritos equitativamente en el espacio favoreciendo la captura de un patrón de estructuración espacial (Montiel *et al.*, 2014; Vieira *et al.*, 2015; Resende, 2002; Santos *et al.*, 2002). No obstante, los incrementos de nitritos en enero y noviembre en la zona ganadera y el bordo de contención también pueden deberse a descomposición de materia orgánica como heces de ganado y sus desperdicios alimenticios (Camargo, 2007; Obregón y Duván, 2006). Estos pueden llegar por escorrentías. Es importante mencionar que el sitio de estudio observamos restos de heces y alimentos se encuentran en las orillas de la presa y en contacto con el agua.

El patrón de estructuración espacial de Pb solo pudo ser capturado para el mes de junio ($r = 0.72$) que es de los meses de mayor afluencia turística. En estos se desechan pilas que aunado al ingreso de agua residual proveniente de las zonas urbanas y de cultivos pudieron incrementar la concentración de este metal (Masters y Wendell, 2008). No tenemos evidencia de otros factores que hayan impedido la captura del patrón espacial de Pb para los meses restantes.

Para el caso de Cr, se logró capturar la estructura espacial en todos los meses (r de 0.52 a 0.58). Ello indica que este metal no tiene influencia estacional preponderante.

Los ingresos de Cr pueden deberse al transporte de contaminantes por escurrimientos provenientes de las zonas de cultivos que están presentes durante todo el año. En estas se utilizan productos como fertilizantes y plaguicidas mismos que pueden contener trazas de Cr y otros elementos (Moreno, 2003). Aunado a lo anterior, los ingresos de aguas residuales también pueden aportar trazas metálicas de Cr (Moreno, 2003; Mencías y Mayero, 2000). Esto sucede también durante todo el año. También la actividad turística puede contribuir con el Cr a través del uso y generación de residuos de la zona como pinturas, maquillaje, pigmentos diversos o la propia dieta que aporta pequeñas concentraciones de Cr (Mencías y Mayero, 2000). El sitio de mayor concentración resultante para el mes de junio es la zona que conecta las presas Tenango y Nexapa. Ello indica que el patrón espacial capturado pudo estar influenciado por el ingreso de agua proveniente de Nexapa que presumiblemente arrastró trazas metálicas que fueron dispersadas de manera gradual por la corriente de agua en Tenango.

Al igual que para Pb, solo pudo capturarse en buena medida el patrón espacial del Cu para el mes de junio ($r = 0.55$). Junio es entonces un mes en el que estos metales muestran autocorrelación espacial. Las concentraciones de Cu pueden relacionarse con la descomposición de materia orgánica proveniente de escurrimientos que en junio se ven incrementados por las lluvias. La materia orgánica tiende a incorporar Cu al medio debido a que es un micronutriente esencial que se encuentra en todos los seres

vivos. Adicionalmente es posible que se efectúen aportes por parte de la zona ganadera y de cultivos dado el uso de fertilizantes y plaguicidas que podrían contener trazas de Cu o por el desgaste de las aleaciones de las tuberías que suelen desprender cobre en pequeñas fracciones (Repetto, 2009; Moreno, 2003)

La estructura espacial del plaguicida Benomilo se pudo capturar en todas las temporadas de colecta ($r > 0.86$ a 0.92) debido a su constante presencia en el agua de Tenango y en donde la mayor concentración de este fungicida se encontró asociada a actividades antropogénicas como la zona de agricultura y urbana. La agricultura podría estar contribuyendo con el Benomilo a través de los arrastres de aguas que se dan en la zona debido a que se encuentran en pendiente y ello se podría ver reforzado por los ingresos de aguas residuales que provienen de algunas casas de los propietarios de la zona de cultivos. Es sabido que, tanto los sitios destinados a la agricultura, como de los hogares de los propietarios de los cultivos son fuentes emisoras constantes de plaguicidas en el agua por las descargas que suelen hacer hacia los cuerpos de agua cercanos, las cuales, en muchos casos facilitan su movilización por la ubicación de estos sitios y de las escorrentías propias del lugar, dada la orografía de la zona. Los plaguicidas suelen producir una mancha contaminante que puede ser fácilmente detectada (Rosas, 2001; Orta, 2002).

Por otro lado, para muchos meses de muestreo no fue posible capturar en buena medida el patrón de variabilidad espacial de los parámetros fisicoquímicos, nutrientes y metales medidos mediante los semivariogramas y los métodos de kriging probados. Esta afirmación se basa en los análisis de resultados de validación cruzada,

particularmente en los $r < 0.5$ obtenidos. Estos casos son incluidos en un material adicional para mayor referencia. El no haber capturado su variabilidad espacial puede explicarse considerando que las variables analizadas no presentaron una estructura definida a causa de efectos ambientales o antropogénicos lo suficientemente fuertes como para influir y alterar la estructura espacial de la variable. En estos casos la variable no sigue el principio de que todo lo cercano se parece a sí mismo. Parece haber un patrón aleatorio de estructuración espacial como resultado de estos efectos ambientales y antropogénicos. Así mismo, cabe la posibilidad de que el esfuerzo de muestreo no alcanzó a ser representativo para estos parámetros y probablemente se debió ampliar aumentando el número de puntos de toma y registro de valores de las variables para capturar su estructura espacial.

10. Conclusiones

- La temperatura, el oxígeno disuelto y la dureza presentaron diferencias significativas temporales, las cuales fueron provocadas por la estacionalidad del sitio. Además, se encontraron dentro de los niveles aceptables para uso urbano y protección a la vida acuática. No obstante, el pH durante el mes de septiembre no fue favorable para uso urbano, ya que fue elevado. Los valores alcanzados pueden provocar afectaciones en la tilapia, tales como aletargamiento, inapetencia y contribuir en un retardo en la reproducción y crecimiento.
- Los nitratos y nitritos presentaron variaciones temporales que pueden asociarse también a la estacionalidad y a aspectos ambientales, tales como: la deposición atmosférica, disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno,

así como a actividades antropogénicas como el turismo que contribuye con la presencia de materia orgánica por medio de los restos de comida de los turistas, la zona ganadera con sus aportes de heces provenientes del ganado y la zona de agricultura con la contribución de fertilizantes y/o plaguicidas, los cuales son favorecidos por la ubicación de los cultivos en las pendientes.

- Los valores de los nitritos fueron altos durante todas las temporadas en relación con los nitratos. Ello puede deberse al proceso de nitrificación en el que hay abundancia primeramente del amoníaco, posteriormente es transformado a nitrito y finalmente a nitrato. De acuerdo con las concentraciones de los nitritos, estas pudieron ocasionar estrés en la tilapia y dificultad para respirar, así como daño en branquias.
- Las fluctuaciones de las concentraciones del fósforo que provocaron las diferencias significativas pueden deberse a las escorrentías generadas por las lluvias en la zona de agricultura, que posiblemente aportan fertilizantes y plaguicidas ricos en fósforo y también a los ingresos de aguas residuales provenientes de los hogares de la periferia. Los valores del fósforo fueron altos en las cinco temporadas por lo que no es recomendable darle un uso urbano al agua. No obstante, para la tilapia no representó problema para su supervivencia.
- El incremento del Pb y Cr en el agua de la presa Tenango pueden deberse a los ingresos de aguas provenientes de las otras presas que conectan con el sitio de estudio, las cuales probablemente contribuyen con trazas metálicas de

estos elementos en el agua o propician que los elementos que sedimentados se liberen al generar turbulencia en el fondo del agua.

- El incremento del Cd y Cu se asociaron a posibles escorrentías de las zonas de cultivo producidas por la lluvia. Dichas escorrentías podrían contener trazas metálicas que se encuentran en productos como fertilizantes y plaguicidas.
- Los niveles de los metales presentes en el agua de la Presa Tenango imposibilitan su aprovechamiento para uso urbano y ponen en peligro a la vida acuática.
- La tilapia *O. niloticus* funcionó adecuadamente como biomonitor debido a que bioacumuló los metales y manifestó características morfológicas que podrían representar los efectos esperados de la exposición a metales y al plaguicida.
- Visualmente la tilapia cumplió con las especificaciones de calidad para su venta al público. Sin embargo, los niveles de metales presentes en los tejidos la convierten en un recurso no apto para el consumo humano. Es probable que los niveles de metales en el agua y los tejidos sean la razón por la cual los ejemplares no alcancen el peso y el tamaño requerido para su comercialización restaurantera. Los metales que presentan mayor riesgo para la tilapia son el Pb y el Cu debido a que probablemente estén contribuyendo a su disminución como recurso alimenticio y afectando a la economía de los pescadores.
- El orden de bioconcentración de los metales en la tilapia fue $Cr > Pb > Cd > Cu$.
- Los niveles de Benomilo/Carbendazim presentes en el agua no representaron peligro para *O. niloticus*, ni los encontrados en la carne de la tilapia para el ser

humano. La presencia del Benomilo en el agua probablemente es consecuencia del mal manejo de este plaguicida, cuyo desplazamiento se vincula a la lluvia y la ubicación de la zona de agricultura.

- Los biomarcadores utilizados en la tilapia funcionaron adecuadamente al reflejar la exposición y/o efecto de los contaminantes hacia la tilapia.
- El Benomilo no representó riesgo para la tilapia y el ser humano, pero posiblemente sí para el ecosistema. Se concluye que es necesario incorporar un límite de este plaguicida en la Ley Federal de Derechos en materia de agua nacionales que sirva como un marco de referencia jurídico nacional.
- Los análisis Geoestadísticos indicaron que la estacionalidad y las actividades humanas de la zona de estudio influyen en la captura de la estructura espacial de las variables fisicoquímicas, de nutrientes y de contaminantes.
- Los ingresos de aguas provenientes de la Presa Nexapa, la descomposición de la materia orgánica proveniente de la zona ganadera, la deposición atmosférica y el pH contribuyen a que se mantengan elevados los niveles de nitratos de acuerdo a los análisis Geoestadísticos.
- Las zonas de cultivo y urbana pueden ser las fuentes emisoras del Benomilo/Carbendazim en el agua de la Presa Tenango, dado que la mancha del contaminante siempre se ubica cercana a las zonas antes mencionadas, esto de acuerdo con los análisis Geoestadísticos.
- Los ingresos de aguas provenientes de la Presa Nexapa, zona de cultivos, urbana y turística son pieza clave para entender la razón de la presencia de

metales en el área de estudio en concentraciones elevadas, de acuerdo a los estudios Geoestadísticos efectuados.

- De acuerdo con el modelo de riesgo, solo el Pb y el Cu representan un riesgo para la tilapia. Mientras que el análisis de riesgos general indica que Pb, Cd y Cu son los elementos que representan riesgo para la vida acuática de la presa Tenango
- Los mapas cartográficos de los contaminantes generados en el presente estudio pueden ser utilizados para generar estrategias que favorezcan el manejo apropiado de la Presa y regular más eficientemente las actividades humanas ubicadas en la periferia de esta, así como delimitar las posibles zonas en donde se prohíba la pesca de tilapia dada la presencia constante de un contaminante específico.
- Es pertinente analizar las condiciones del agua de las demás presas vinculadas y en caso de que estas pudieran estar también contaminadas, proponer medidas de manejo del agua y regulación de las actividades humanas cercanas a las presas.
- Es de vital importancia continuar con el estudio de contaminación en la zona, para averiguar si hay la presencia de otros metales y plaguicidas en el agua que puedan representar peligro para la zona y el ecosistema.
- La presente investigación puede servir como base para estudios futuros de la zona, ya que contribuye con información científica que no existía en el sitio relativa a las condiciones del agua y el comportamiento de algunas variables y

contaminantes, así como la determinación de la influencia de las actividades humanas en la condición del agua de la presa y el recurso pesquero de la zona.

11. Bibliografía

1. Abbas, H.H.H., Hammada, M.M., & Miller, J.D. 2007. Vitamin C and cadmium toxicity in fish *Oreochromis niloticus*. *Online Journal of Veterinary Research*, 11(1): 54-74.
2. Abdel-Baki, A.S., Dkhil, M.A., & Al-Quraishy, S. 2011. Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah, Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology* 10(13): 2541-2547.
3. Abdulali, K.A., Shuhaimi-Othman, M., & Ahmad, A.K. 2012. Analysis of heavy metal concentrations in Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) From Four Selected Markets in Selangor, Peninsular Malaysia. *Journal of Biological Sciences* 12(3): 138-145.
4. Abdulali, Tawee. I., Shubaimi-Othman, M., & Ahmad, A.K. 2013. In vivo acute toxicity tests of some heavy metals to Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Biological Science* 13(5): 365-371.
5. Ackermann, C. 2008. A quantitative and qualitative histological assessment of selected organs of *Oreochromis mossambicus* after acute exposure to cadmium, chromium and nickel. M. Sc. dissertation, University of Johannesburg, South Africa.

6. Adams, S. M. 2002. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. American Fisheries Society. Maryland. EEUU.
7. Adazabra, A. N., Kombat, E. O., & Fletcher, J.J. 2014. Parameterization of non-essential heavy metals concentration in different tissues of inland commercial fish *Oreochromis niloticus* from Veia Dam, Bolgatanga, Northern Ghana. *International Journal of Current Research and Academic Review* 2(7): 247-258.
8. Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades (ATSDR). 2015. Resumen de salud pública: nitrato y nitrito. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs_204.pdf. Consultado el 2 de agosto de 2018.
9. Aguilar, M. J., Prieto, G. F., Román, G. A.D., Monks, S. W.S., & Pulido, F. G. 2008. *Niveles de pesticidas organoclorados en Cyprinus carpio y Oreochromis niloticus del lago de Tecocomulco, Hidalgo, México*. UAEH.
10. Albert, L. A. 2011. *Curso Básico de toxicología ambiental*. Limusa. México.
11. Alcántar-Vázquez, J.P., Santos, S.C., Moreno, T. R., & Antonio, E. C. 2014. *Manual para la producción de supermachos de tilapia del Nilo (Oreochromis niloticus)*. Universidad del Papaloapan.
12. Alfonso, I. D., & Pérez, G.C. 2010. Evaluación ecotoxicológica de detergentes comerciales y naturales, como criterio de contaminación ambiental. *Revista electrónica de veterinaria* 11(03): 1-9.
13. Angermeier, P.L., & Schlosser, I.J. 1995. Conserving aquatic biodiversity: beyond species and populations. *American Fisheries Society Symposium* (7): 402-414.

14. APHA. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th edition. American Public Health Association. Washington. D. C.
15. Arafam, M.M., & Ali, A.T.2008. Effect of some heavy metal's pollution in Lake Mariount on *Oreochromis niloticus* fish. *Egyptian Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology* 2(3): 191-201.
16. Aranguré, Z. J., Zambrano, C.R.M., González, T. L., & Robledo, M. M. 2011. Evaluación de los niveles de contaminación por residuos de plaguicidas organoclorados en sedimento y peces, de la presa de Aguamilpa, Nayarit, México. *Waxapa* 1(4): 20-35.
17. Arillo, A., & Melodio, F.1988. Effects of hexavalent chromium on trout mitochondria. *Toxicology Letters* 44: 71-76.
18. Arocena, R., & Conde, D. 1999. *Métodos en Ecología de Aguas Continentales, con Ejemplos de Limnología en Uruguay*. Montevideo: DIRAC/FC/UDELAR.
19. Arredondo, F.J., Díaz, Z.G., & Ponce, P.J.T. 2007. *Limnología de presas mexicana*. AGT editor, S.A y UAM. México.
20. Atli, G., & Canli, M.2003. Natural occurrence of metallothionein-like protein in liver of fish *Oreochromis niloticus* and effects of cadmium, lead, copper, zinc, and iron exposures on their profiles. *Bulletin Environmental Contamination Toxicol* 70: 619-627.
21. Authman, M.M.N. 2008. *Oreochromis niloticus* as a biomonitor of heavy metal pollution with emphasis on potential risk and relation to some biological aspects. *Global Veterinaria* 2(3): 104-109.

22. Badii, M., Garza, A.V., & Landeros, J. 2006. Efecto de los plaguicidas en la fauna silvestre. *Cultura, Ciencia y Tecnología* 3(14): 22-44.
23. Badii, Z.M.H., Garza, C.R., Garza, A.V., & Landeros, F.J. 2005. Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. *Cultura, Ciencia y Tecnología* 2(6):1-20.
24. Báez, R. O.A. 2001. *Toxicidad del arsénico de fuentes subterráneas naturales de agua potable y presa Fernando Hirirart Balderrama de Zimapán, Hgo. en Oreochromis niloticus*. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional (IPN), D.F. México.
25. Barceló, Q. I., López, G. E., Solís, C. H., Domínguez, M. E., & Gómez, S. S. 2012. Water Quality Assessment of Jose Antonio Alzate Dam, the Lerma River and its Tributaries in the State of Mexico, Mexico. *Journal of Environmental Protection* 3: 878-888, doi:10.4236/jep.2012.328103.
26. Bayram, A., Önsoy, H., Numan, B. V., & Akinci, G. 2013. Influences of Urban Wastewaters on the Stream Water Quality: A Case Study from Gumushane Province, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment* 185: 1285-1303, doi: 10.1007/s10661-012-2632-y.
27. Bendschneider, K., & Robinson, R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea-water. *Journal of Materials Research* 11: 87-96.
28. Bengtsson, B.E., Bengtsson, A., & Himberg, M. 1985. Fish deformities and pollution in some Swedish waters. *Ambio* 14: 32–35.

29. Benoit, D.A. 1976. Toxic effects of hexavalent chromium on brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Water Research* 10: 497-500.
30. Benton, T.G., Bryant, D.M., Cole, L., & Crick, H.Q.P. 2002. Linking agricultural practice to insect and bird populations: a historical study over three decades. *Journal of Applied Ecology* 39(4): 673-87.
31. Boon, P.J., Davies, B.R., & Petts, G.E. 2000. *Global perspectives on river conservation. Science, policy and practice*. Wiley. Winchester.
32. Borgmann U. 2000. Methods for assessing the toxicological significance of metals in aquatic ecosystems: Bioaccumulation-toxicity relationships water concentrations and sediment spiking approaches. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 3: 277-289.
33. Boulton, A.J. 1999. An overview of river health assessment: philosophies, practice, problems and prognosis. *Freshwater Biology* (41): 469-479.
34. Bradford, M. M.1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72(1-2): 248-254.
35. Braunbeck, T. 1998. *Cytological alterations in fish hepatocytes following in vivo and in vitro sublethal exposure to xenobiotics-structural biomarkers of environmental contamination*. In: Braunbeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds), *Fish Ecotoxicology*. Birkhauser Verl., Basel, pp. 61-140.
36. Brewer, S.K., Little, E.E., Delonay, A.J., Beauvais, S.L., Jones, S.B., & Ellersieck, M.R. 2000. Behavioral dysfunctions correlate to altered physiology in

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to cholinesterase-inhibiting chemicals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40: 70-76.
37. Burgueño, M.A. 2010. *Beneficios medio ambientales de las presas*. FFC. España.
38. Burrough, P.A., & McDonnell, R.A. 1998. *Principles of Geographical Information Systems*. Oxford Univ. Press, New York, USA.
39. Cairns, J., McCormick, P.V., & Niederlehner, B.R. 1993. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia* 263: 1–44.
40. Calabrese, E.J & Baldwin, L.A. 1993. *Performing Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers. Chelsea, 105-141.
41. Camargo, J. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medio ambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas* 16(2): 1-13.
42. Campbell, A. 1999. Declines and disappearances of Australian frogs. Canberra. *Environment Australia* (9):26-36
43. Canli, M., & Atli, G. 2003. The relationships between heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental pollution* 121(1):129-136.
44. Capó, M.A. 2002. *Principios de Ecotoxicología. Diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente*. McGraw-Hill. España.
45. Castiglioni, M. 2010. Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *Daphnia magna*. *The Biologist* 8(1): 43-53.

46. Celi, P. J. W., Siabato, V.W.L., Sánchez, I. A. H., & Rangel, S. A.P. 2002. Geoestadística aplicada a estudios de contaminación ambiental. *Ingeniería* 7(2): 31-38.
47. Cerón-Carpio, A.B., Contreras-Jiménez, J.L., & Gante-Cabrera, V.H. 2012. *Inventario Pteridoflorístico del área de protección de recursos naturales "Cuenca hidrográfica del río Necaxa", porción Puebla, México*. CONAGUA. México.
48. Chandrasekara, L.W.H.U., & Pathiratne, A. 2007. Body size-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by chlorpyrifos and carbosulfan. *Ecotoxicology and Environmental safety* 67: 109-119.
49. Chandrasekera, L.W.H.U., Pathiratne, A., & Pathiratne, K.A.S. 2008. Effects of water borne cadmium on biomarker enzymes and metallothioneins in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 36(4): 315-322.
50. Chapman P. Ramírez-Romero P. 2006. Evaluación de riesgo ecológico bases y aplicaciones. Curso pre congreso que se llevó en el II Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental y la Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Chapter México.
51. Chapman, P.M. & Wang, F., 2000. Issues in Ecological Risk Assessment of Inorganic Metals and Metalloids. *Journal of Human and Ecological Risk Assessment* 6, no. 6: 965-988.
52. Chapra, S. C. 1997. *Surface Water-Quality Modeling*. McGraw-Hill, New York.

53. Chatterjee, S., Chattopadhyay, B., & Mukhopadhyay, S. K. 2006. Trace metal distribution in tissues of cichlids (*Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus*) collected from wastewater-fed fishponds in east Calcutta wetlands, a Ramsar site. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 36(2):119-125.
54. Chatterjee, S., Datta, S., Das, T. K., Veer, V., Mishra, D., Chakraborty, A., Chattopadhyay, B., Datta, S., Mukhopadhyay, K.S., & Gupta, K. D. 2016. Metal accumulation and metallothionein induction in *Oreochromis niloticus* grown in wastewater-fed fishponds. *Ecological Engineering* 90 (16): 405-416.
55. Chovanec, A., Hofer, R., & Schiemer. 2003. *Fish as bioindicators*. En Markert, B.A., Breure, A. M., Zechmeister, H.G. (Ed), *Bioindicators and monitoring* (pp 639-676). Netherlands. Elsevier Science Ltd.
56. Chovanec, A., Schiemer, F., Cabela, A., Gressler, S., Grotzer, C., Pascher, K., Raab, R., Teufel, H., & Wimmer, R. 2000. Constructed inshore zones as river corridors through urban areas-the Danube in Vienna: preliminary results. *Regulated Rivers: Research & Management* 16: 175–187.
57. Chovanec, A., Schiemer, F., Waidbacher, H., & Spolwind, R. 2002. Rehabilitation of a heavily modified river section of the Danube in Vienna (Austria): biological assessment of landscape linkages on different scales. *Internat. Hydrobiologia* 87 (2/3): 183–195.
58. Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED). 2001. Agua potable para comunidades rurales, rehusó y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas. En Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. *CYTED*: 155-67.

59. Cleoni Dos Santos, C., Aline, B.V., Sobreiro, S.H., Gaeta, E. E., & Narciso, F. M. 2012. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere* 89: 60-69.
60. Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2016. *Ley federal de derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales*. Diario Oficial de la Federación, México. Noviembre 13.
61. Contreras, E. F. 1984. *Manual de técnicas hidrobiológicas*. UAM. México.
62. Couch, J.A. 1975. *Histopathological effects of pesticides and related chemicals on the liver of fishes*. In: Ribelin, W.E., Migaki, G. (Eds), *The Pathology of Fishes*, University of Wisconsin Press, Madison. 559-584 pp.
63. Cowx, I.G., & Collares-Pereira, M.J. 2002. *Freshwater fish conservation: options for the future*. En: Collares-Pereira, M.J., Cowx, I.G., Coehlo, M.M. (eds) *Conservation of freshwater fishes: options for the future*. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, 443-452 pp.
64. Dallinger, R., Egg, M., Kock, G., & Hofer, R. 1997. The role of metallothionein in cadmium accumulation of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from high mountain lakes. *Aquatic Toxicology* 38: 47-66.
65. Dang, Z., & Smit, C.E. 2008. Environmental risk limits for carbendazim. National Institute for Public Health and the Environmental. Netherlands.
66. Davis, J.C. 1973. *Statistics and Data Analysis in Geology*. Wiley, New York.
67. Dembele, K., Haubruge, E., & Gaspar, C. 2000. Concentration effects of selected insecticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology Environmental Safety* 45: 49–54.

68. Díaz-Reséndiz, K.J.G., & Girón-Pérez, M.I. 2014. Efecto de clorpirifos sobre la respuesta inmune de la Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Revista Bio Ciencias* 3(1):58-63
69. DOF. 1989. Acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89. Diario Oficial de Federación. Recuperado de <http://legismex.mty.itesm.mx/acu/acca001.pdf>
70. Duncan, J.R., & Lockwood, J.L. 2001. Extinction in a field of bullets: a search for causes in the decline of the world's freshwater fishes. *Biological Conservation* 102: 97-105.
71. Dyk, J.C.V., Pieterse, G.M., & Van Vuren, J.H.J. 2007. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 432-440.
72. Edem, C. A., Osabor, V., Iniama, G., Etiuma, R., & Eke, J. 2009. Distribution of heavy metals in bones, gills, livers and muscles of (Tilapia) *Oreochromis niloticus* from Henshaw town Beach Market in Calabar Nigeria. *Pakistan Journal or Nutrition* 8(8): 1209-1211.
73. Ekpo, F. E., Agu, Nn., & Udoakpan, U.I. 2013. Influence of heavy metals concentration in three common fish, sediment and water collected within quarry environment, Akamkpa L. G. area, Cross river State, Nigeria. *European Journal of Toxicological Sciences* 3: 1-11.
74. El-Badawi, A.A. 2005. Effect of lead toxicity on some physiological aspects of Nile tilapia fish, *Oreochromis niloticus*. International Conferences of the Veterinary Research Division. Cairo, Egypt: NRC.

75. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology* 7(2): 88-95.
76. El-Sayed, M. Y., Abdel-Wahab, M.W., Nasser, A. Hossam, E., & Mohamed, M. 2013. Histological changes in the liver and intestine of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to sublethal concentrations of cadmium. *Pakistan Journal of Zoology* 45(3): 833-841.
77. EPA. 1995. Method 3015A. Microwave assisted acid digestion of aqueous sample and extract. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3015a.pdf>. Consultado el 15 de enero de 2016.
78. Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. 2001. Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1: 529-539.
79. Essa, H.H., & Rateb, H.Z. 2011. Residues of some heavy metals in freshwater fish (*Oreochromis niloticus* and *Labeo niloticus*) in Assiut city markets. *Assiut University Bull Environmental* 14(1): 31-39.
80. Evans, D.W., Dodoo, D.K., & Hanson, P.J. 1993. Trace elements concentrations in fish livers implications of variations with fish size in pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin* 26(6): 329-334.
81. Evans, J., Fernández, B.A., Gavilán, G.A., Ize, L., Yarto, R., & Zuk, M. 2003. *Introducción al análisis de riesgos ambientales*. INE-SEMARNAT. México.
82. FAO. 2002. Los fertilizantes y sus usos. <http://www.fao.org/3/a-x4781s.pdf>. Consultado el 1 de agosto de 2018.

83. Faush, K.D., Lyons, J., Karr, J.R., & Angermeier, P.L.1990. *Fish communities as indicators of environmental degradation*. American Fisheries Society Symposium. EU.
84. Flores, T. F.J., Flores, P.L., Valenzuela, C. I.C., & Flores, S.E.A. 2010. Lixiviados de biosólidos sobre la biota dulceacuícola. *Investigación y Ciencia* 18(48): 38-48.
85. Francis, O., & Faith, B.2016. Fish Tissue Bioconcentration and Interspecies Uptake of heavy metals from Waste Water Lagoons. *Journal of pollution Effects & Control* 4:157. doi: 10.4172/2375-4397.1000157.
86. Fuentes, F., & Massol, A. 2002. *Manual de laboratorios: ecología de microorganismos*. Universidad de Puerto Rico, Puerto Rico.
87. Fundación MAPFREE. 1994. *Manual de contaminación ambiental*. ITSEMAP AMBIENTAL. Madrid. España.
88. Geyer, H.J., Scheunert, I., Bruggemann, R., Matthies, M., Steinberg, C.E.W., Zitko, V., Kettrup, A., & Garrison, W. 1994. The relevance of aquatic organisms' lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: toxicity of lindane to different fish species. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 28: 53-70.
89. Gill, T.S., & Epple, A.1993. Stress-related changes in the hematological profile of the American eel (*Anguilla rostrata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 25: 227-235.
90. Giraldo, H. R. 2002. *Introducción a la Geoestadística. Teoría y aplicación*. Bogotá: Departamento de estadística. Universidad Nacional de Colombia.

91. Goetz, C.A., & Smith, R.C. 1959. Evaluation of various methods and reagents for total hardness and calcium hardness in water. *Iowa State Journal of Science* 34:81.
92. Goldberg, E.D., Koide, M., Hodge, V., Flegal, A.R., & Martin, L. 1983. MusselWatch: 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 16: 69-93.
93. Gold-Bouchot, G., & Zapata-Pérez, O. 2004. "Contaminación, ecotoxicología y manejo costero" In: Rivera Arriaga, E., G. J. Villalobos, I. Azuz Adeath, & F. Rosado May (eds.). *El Manejo Costero en México*. Universidad Autónoma de Campeche, SEMARNAT, CETYS-Universidad, Universidad de Quintana Roo 654: 277-286.
94. Gold-Bouchot, G., Zapata-Pérez, O., Rodríguez-Fuentes, G., Ceja-Moreno, V., Rio-García, M., & Chan-Cocom, E. 2006. Biomarkers and pollutants in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in four lakes from San Miguel, Chiapas, Mexico. *International Journal of environment and pollution* 26(1-3):129-141.
95. Gómez-Márquez, J.L., Peña-Mendoza, B.P., & Arredondo-Figueroa, J.L. 2007. Análisis limnológico y pesquero del lago Coatetelco, Morelos. En: *Limnología de las presas mexicanas. Aspectos teóricos y prácticos*, J.L. Arredondo-Figueroa, G. Díaz-Zavaleta & J.T. Ponce-Palafox (Eds): 484-494. AGT Editor S.A.
96. González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Prieto-Méndez, Judith., & Román-Gutiérrez, A. D. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* Sin mes: 29-44.

97. Goovaerts, P. 1997. *Geostatistics for Natural Resources Evaluation*. Oxford Univ. Press. New York, USA.
98. Graves, G. A., Wan, Y., & Fike, D. L. 2004. Water quality characteristics of storm water from major land uses in south Florida. *Journal of the American Water Resources Association* 40(6): 1405-1419.
99. Gossel, M, & Wood, C. M. 2002. Copper Uptake across rainbow trout gills: Mechanisms of apical entry. *Journal of Experimental Biology*, 205: 1179-1188.
100. Guérin, F. 2008. Nitrous Oxide Emissions from Tropical Reservoirs. *Geophysical Research Letters* (4): 1-35.
101. Gülüzar, A., & Canli, M. 2008. Responses of metallothionein and reduced glutathione in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* following metal exposures. *Environmental toxicology and pharmacology* 25: 33-38.
102. Gutiérrez-López, A., Ramírez, I.A., Lebel, T., Santillán, O., & Fuentes, C. 2011. El variograma y el correlograma, dos estimadores de la variabilidad de mediciones hidrológicas. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia* 59: 193-202.
103. Hamilton, S.J., & Mehrle, P.M. 1986. Metallothionein in fish: a review of its importance in assessing stress from metal contaminants. *Transactions of the American Fisheries Society* 115: 596–609.
104. Harris, Z.L., & Githlin, J.D. 1996. Genetic and molecular basis for copper toxicity. *American Journal of Clinical Nutrition* 63: 836S- 841S.
105. Hauser-Davis, R. A., Bastos, F. F., Tuton, B., Chávez, R. R., Saint, P.T., Ziolli, L. R., & Arruda, M. A. Z. 2014. Bile and liver metallothionein behavior in copper-exposed fish. *Journal of trace elements in medicine and biology* 28: 70-74.

106. Heaney, S.I., Foy, R.H., Kennedy, G.J.A., Crozier, W.W., & O'Connor, W.C.K. 2001. Impacts of agriculture on aquatic systems: lessons learnt and new unknowns in Northern Ireland. *Marin & Freshwater Research* 52(1): 151-63.
107. Helliker, P. E. 1999. *BenomyI: Risk caracterización document*. California Environmental Protection Agency. E.U.
108. Hengl, T.A. 2009. *Practical Guide to Geostatistical Mapping*. Official Publications of the European Communities.
109. Hinton, D.E., & Lauren, D.J.1990. *Liver structural alterations accompanying chronic toxicity: potential biomarkers of exposure*. In: McCartney, J.F., Shugart, L.R. (Eds), *Biomarkers of environmental contamination*. Lewis, Boca Raton, pp. 15–57.
110. Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Burton Jr, G. A., & Cairns Jr, J.2002. *Handbook of ecotoxicology*. CRC Press.
111. Hope, B.K. 2006. An examination of ecological risk assessment and management practices. *Journal of Environment international* 32: 983-95.
112. Hou, J.L., Zhuang, P., Zhang, L.Z., Feng, L., Zhang, T., & Lium, J.Y.2011. Morphological deformities and recovery, accumulation and elimination of lead in body tissues of Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, early life stages: a laboratory study. *Journal of Applied Ichthyology* 27: 514-519.
113. INEGI. 2004. Conjunto de datos vectoriales serie 1. *Edafología*. Escala 1:250 000 conjunto F1411 y F1412.
114. INEGI. 2005a. Conjunto de datos vectoriales Serie I. *Climas*. Escala 1 :250 000 Conjunto F1411 y F1412.

115. INEGI. 2005b. Conjunto de datos vectoriales Serie II. *Uso de Suelo y Vegetación*. Escala 1:250 000. Conjunto F1411 y F1412.
116. INE-UACH.2007. Estudio de Ordenamiento Ecológico Territorial de las Cuencas Hidrológicas de los ríos Necaxa y Laxaxalpa. <https://www.agua.org.mx/biblioteca-tematica/manejo-de-cuencas/95--sp942/676-ordenamiento-de-las-cuencas-de-los-rios-necaxa-y-laxaxalpa>. Consultado el 15 de mayo de 2017.
117. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. 2018. Datos de identificación: Benomilo. <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/benomilo.pdf>. Consultado el 16 de agosto de 2018.
118. Instituto Sinaloense de Acuicultura (ISA). 2007. Plan maestro de tilapia en el estado de Sinaloa. https://cadenasproductivas.conapesca.gob.mx/pdf_documentos/comites/csp/Programa_Maestro_Estatal_Tilapia_Sinaloa.pdf. Consultados el 1 de agosto de 2018.
119. Ishaq, S. E., Rufus, S. A., & Annune, P.A.2011. Bioaccumulation of heavy metals in fish (*Tilapia Zilli* and *Clarias gariepinus*) organs from river Benue, North-Central Nigeria. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry* 12(1&2): 1-37.
120. Janssens de Bisthoven, L. 2000. Biomonitoring with morphological deformaties in aquatic organisms. In: Gerhardt, A. (Ed): Biomonitoring of polluted water: 65-93, Trans Tech Publications. Switzerland.

121. Jensen, F.2003. "Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals." *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A. Molecular & Integrative Physiology* 135(1): 9-24.
122. Jungwirth, M. 1998. *River continuum and fish migration – going beyond the longitudinal river corridor in understanding ecological integrity*. In: Jungwirth, M., Schmutz, S., Weiss, S. (Eds), *Fish Migration and Fish Bypasses. Fishing News Books, Oxford*, pp. 19–32.
123. Karr, J.R., & Chu, E.W. 1999. *Restoring Life in Running Waters. Better Biological Monitoring*. Island Press, Washington, DC.
124. Karr, J.R., Fausch, K.D., Angermeier, P.L., Yant P.R., & Schlosser, I.J.1986. Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale. *Illinois Natural History Survey Special Publication* 5: 1-28.
125. Kaufman, D.B., DiNicola, W., & McIntosh, R.1970. Acute potassium dichromate poisoning: Treated by peritoneal dialysis. *American Journal of Diseases of Children* 119:374-376.
126. Keckeis, H., Frankiewicz, P., & Schiemer, F. 1996. The importance of inshore areas for spawning nase *Chondrostoma nasus* (Cyprinidae) in a free-flowing section of a large river (Danube, Austria). *Archiv fur Hydrobiologie* 10: 51-64.
127. Kendirim, E.C. 2005. Studies on the hydrochemistry of Kangimi reservoir, Kaduna State, Nigeria. *Afr. J. Ecol.* 43: 7-13.
128. Kestemont, P., Didier, J., Depiereux, E., & Micha, J.C. 2000. Selecting ichthyological metrics to assess river basin ecological quality. *Archives für Hydrobiologie Supplement* 121: 321-348.

129. Kock, G., Triendl, M., & Hofer, R. 1996. Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from oligotrophic Alpine lakes related to temperature. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 780-786.
130. Krebs, J.R., Wilson, J.D., Bradbury, R.B., & Siriwardena, G.M. 1999. The second silent spring. *Nature* 400: 611-12.
131. Kroupova, H., Machova, J., Piackova, V., Blahova, J., Dobsikova, R., Novotny, L., & Svobodová, Z. 2008. "Effects of subchronic nitrite exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." *Ecotoxicology and environmental safety* 71(3): 813-820.
132. Kumar, V. 2007. Optimal contour mapping of groundwater levels using universal kriging-a case study. *Hydrological Sciences Journal* 52 (5): 1038-1050. DOI: 10.1623/hysj.52.5.1038.
133. Legislación brasileña de metales pesados (LBMP). 2017. Metales pesados en materia de alimentos. <http://paguicidas.comercio/MetalPesado.pdf>. Consultado el 15 de mayo de 2017.
134. Lenntech. 2018. Treatment Solutions. <https://www.lenntech.es/ciclo-nitrogeno.htm>. Consultados el 1 de Agosto de 2018.
135. Lim, L. K., Wai, K. P., Ka-Yee, J., & Ming, C. K. 1998. Metal toxicity and metallothionein gene expression studies in common Carp and Tilapia. *Marine environmental research* 46(1-5): 563-566.
136. Lozada-Zarate, E.J., Monks, S., Pulido-Flores, G., Gordillo-Martínez, A.J., & Prieto-García, F. 2006. *Determinación de metales pesados en Oreochromis niloticus en la laguna de Metztitlan, Hidalgo, México.*

https://www.researchgate.net/profile/Alberto_Martinez15/publication/209827913_Determinacion_de_metales_pesados_en_Cyprinus_carpio_en_la_Laguna_de_Metztitlan_Hidalgo_Mexico/links/0046353bd88c3a19d8000000/Determinacion-de-metales-pesados-en-Cyprinus-carpio-en-la-Laguna-de-Metztitlan-Hidalgo-Mexico.pdf. Consultado el 24 de abril de 2018.

137. Mackay, D., & Fraser, A. 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environmental Pollution* 110: 375-391.
138. Mallatt, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42: 630-648.
139. Markert, B.A., Breure, A.M., & Zechmeister, H.G. 2003. *Bioindicators & Biomonitoring, principles, concepts and applications*. Elsevier Science Ltd. Netherlands.
140. Masters, G. M., & Wendell. P.E. 2008. *Introducción a la ingeniería medio ambiental*. Pearson. 3era edición. España.
141. Masurn, M.B., Espíndola, E.L.G., Noguera, A. de M., & Simóes, F.C.F. 2006. Sensibilidad a cobre e cromo por *Oreochromis niloticus* e *Pistia stratiotes*. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol* 1(1): 37-42.
142. McDowall, R.M., & Taylor, M.J. 2000. Environmental indicators of habitat quality in a migratory freshwater fish fauna. *Environmental Management* 25: 357-374.
143. Mencías, R. E., & Mayero, F.L.M. 2000. *Manual de toxicología básica*. Madrid: Díaz de Santos. Madrid.

144. Menzel, D.W., & Corwin, N. 1965. The measurements of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnology and Oceanography* 10:280-282.
145. Min, E., & Ju-Chan, K. 2008. Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Pesticide biochemistry and physiology* 9: 138-143.
146. Mohamed, E. H., & Osman, A.R. 2014. Heavy metals concentration in water, muscles and gills of *Oreochromis niloticus* collected from the sewage-treated water and the White Nile. *International Journal of Aquaculture* 4(6): 36-42.
147. Montiel, P.S., Armienta, H. M.A., Rodríguez, C.R., & Domínguez, M. E. 2014. Identificación de zonas de contaminación por nitratos en el agua subterránea en la zona sur de la cuenca de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 30(2): 149-165.
148. Moral, G. F.J. 2004. Aplicación de la geoestadística en las ciencias ambientales. *Ecosistemas* 13(1): 78-86.
149. Moreno, G. M. D.2003. *Toxicología ambiental. México*. Mc Graw Hill.
150. Mostafa, M. E., Rabie, S. F., Aida, A. D., & Mohammad F.2015. Assessment of Heavy Metals Concentration in Water and Edible Tissues of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) from two Fish Farms Irrigated with Different Water Sources, Egypt. *International Journal of Environment* 4(1): 108-115.
151. Muhammad, J.L., Shehu, R.A., Bilbis, L.S., & Dangoggo, S.M. 2013. Estimation of some heavy metals and mineral elements in tissues of *Oreochromis niloticus* collected from Goronyo Dam and its two tributaries in North-Western sub-Saharan

- Nigeria. *Journal of environmental science, toxicology and food technology* 3(5):46-52.
152. Mulu, B.D., & Mehari, M.W. 2013. Distribution of trace metals in two commercially important fish species (*Tilapia zilli* and *Oreochromis niloticus*) sediment and water from lake Gubdahri, Eastern Tigrar of Northern Ethiopia. *International journal of scientific and research publications* 3(9):1-7.
153. Nelson, J.S. 1994. *Fishes of the world*, New York, John Wiley and Sons. EU.
154. Noss, R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology* 4: 355–364.
155. NRC.1987 Committee on biological markers. (National Research Council) The Committee on Biological Markers of the National Research Council. (1987). Biological Markers in Environmental Health Research. *Environmental Health Perspectives*, 3-9.
156. Oberdorff, T., Pont, D., Hugueny, B., & Porcher, J.P.2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in France. *Freshwater Biology* 47: 1720-1734.
157. Obregón, A., & Duván, A.2006. Limnología aplicada a la acuicultura. *Revista Veterinaria REDVET* 7(11): 1-24.
158. Olson, K.R., Squibb, K., & Crusin, R.J.1978. Tissue uptake, cellular distribution, and metabolism of $^{14}\text{CH}_3\text{HgCl}$ and $^{203}\text{CH}_3\text{HgCl}$ by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 381-390.
159. Orta, A. L. 2002. Contaminación de las aguas por plaguicidas químicos. *Fitosanidad* 6(3): 55-62.

160. Osman, A.G. 2012. Biomarkers in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to assess the impacts of river Nile pollution: bioaccumulation, biochemical and tissues biomarkers. *Journal of environmental protection* 3: 966-977.
161. Pérez, G. P. E., & Azcona, C. M. I. 2012. Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de especialidades Médico-Quirúrgicas* 17(3): 199-205.
162. Pezo, D.R., Paredes, A. H., & Bedayán, A.N.Y. 1992. Determinación de metales pesados bioacumulables en especies ícticas de consumo humano en la Amazonia peruana. *Folia Amazonica* 4(2): 171-181.
163. Phillips, D.H. 1977. The use biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments a review. *Environmental Pollution* 13: 28-317.
164. Phillips, D.H., & Segar, D.A. 1986. Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants: program design imperatives. *Marine Pollution Bulletin* 17:10-17.
165. Prat, N., Ríos, B., Acosta, R., & Rieradevall, M. 2009. *Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas*, p. 631-654. In E. Domínguez & H.R. Fernández (eds.). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
166. Ramírez, R. P., & Mendoza, C. A. 2008. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo*. La experiencia en México. SEMARNAT-INE. México.

167. Ramírez, R. P., & Mendoza, C. A. 2010. Fundamentos de la evaluación del riesgo ecológico. En *Introducción al análisis de riesgos ambientales* (pp. 125–147). México: Instituto Nacional de Ecología.
168. Ramos, O., Guevara, N., Macías, B., & Ortiz, Y. 2004. Evaluación de riesgo a la salud por la presencia de metales pesados en pescado. *Toxicología* (1): 2-4.
169. Ramos-Gutiérrez, L.J., & Montenegro-Fragoso, M. 2012. Las Centrales hidroeléctricas en México: Pasado, presente y futuro. *Tecnología y ciencias del agua* 3(2): 103-121.
170. Reid, S.D.2011. Molybdenum and chromium. New York: Academic Press.
171. Repetto, M. 2009. *Toxicología fundamental*. Díaz de Santos. Madrid.
172. Resende, A. V. 2002. Agricultura e qualidade da água: contaminação da água por nitrato. Planaltina: Embrapa Cerrados. ISSN 1517-5111.
173. Rodríguez, Z. J. 2009. Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las asociaciones administradoras del acueducto (ASADAS) de cada distrito de Grecia, canto de Alajuela, noviembre del 2008. *Revista Veterinaria* 9(12):125-134.
174. Rodríguez-Fuentes, G., & Gold-Bouchot, G. 2000. Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition in vitro. A case study in two Mexican lagoons. *Marine Environmental Research* 50:357-360.
175. Roesijadi, G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic toxicology* 22: 81-114.

176. Rosas, R.H. 2001. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona.
177. Rosenberg, D.M., King, R.S., & Resh, V.H. 2008. Use of aquatic insects in biomonitoring, p. 123-137. In R.W. Merritt K. W. Cummins, and M. Berg (editors). *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*, 4th edition. Kendall/Hunt. Dubuque, IA.
178. Ruiz, S. U. 2006. *Guía técnica para orientar la elaboración de estudios de evaluación de riesgos ambiental de sitios contaminados*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México
179. Saavedra, M.A.2006. *Manejo del cultivo de tilapia*. CIDEA-Coastal Resources Center. Nicaragua
180. Saeed, S.M., & Shaker, I. M. 2008. Assessment of heavy metals pollution in water and sediments and their effect on *Oreochromis niloticus* in the northern delta lakes. *Egypt. 8th International symposium on tilapia in aquaculture* 1:475-483.
181. Santaella, V.L., & Morales, L.Y. 2001. Conceptos básicos en presas. *Ciencia e ingeniería Neogranadina* 11:27-34.
182. Santos, A. B., Fageria, N. K., & Zimmermann, F. J. P. 2002. Atributos químicos do solo afetado pelo manejo da água e do fertilizante potássico na cultura de arroz irrigado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campinas Grande* 6 (1): 12-16.

183. Sartipi, Y. S., & Reza, A. M. 2018. Ecological risk assessmen of heavy metals (Zn, Cr, Pb, As, and Cu) in sediments of Dohezar River, North of Iran, Tonekabon city. *Acta Ecologica Sinica* 38:126-134.
184. Scheuhammer, A.M., & Cherian, M.G.1986.Quantification of metallothionein by silver saturation methods. *Toxicology and Applied Phamacology* 82(3): 417-425.
185. Schiemer, F. 2000. Fish as indicators for the assessment of the ecological integrity of large rivers. *Hydrobiologia* 422(423): 271-278.
186. Schiemer, F., Spindler, T., Wintersberger, H., Schneider, A., & Chovanec, A. 1991. Fish fry associations: important indicators for the ecological status of large rivers. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 24: 2497-2500.
187. Schmutz, S., Kaufmann, M., Vogel, B., Jungwirth, M., & Muhar, S. 2000. A multi-level concept for fishbased, river-type-specific assessment of ecological integrity. *Hydrobiologia* 422(423): 279-289.
188. Scott, M.C., & Hall, L.W.1997. Fish assemblages as indicators of environmental degradation in Maryland coastal plain streams. *Transactions of the American Fisheries Society* 126: 349-360.
189. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1994. *NOM-004-ZOO-1994. Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bóvidos, equinos, porcinos y ovinos*. Diario Oficial de la Federación, México. Agosto 11.
190. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. 1995. *NOM-028-ZOO-1995. Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados, en hígado y*

- músculo de bóvidos, equinos, porcinos, ovinos, caprinos, cérvidos y aves, por cromatografía de gases. Diario oficial de la Federación, México, junio 22.*
191. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo regional, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2012. *Criterios técnicos y económicos para la producción sustentable de Tilapia en México.* SAGARPA. México.
 192. Secretaría de agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimento (SAGARPA). 2006. *Manual de producción de tilapia con especificaciones de calidad e inocuidad.* SAGARPA. México.
 193. Secretaría de Economía. 2001. *NMX-AA-051-SCFI-2001. Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas.* Diario oficial de la federación, México. 25 de marzo.
 194. Secretaria de Salud. 2011. *NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.* México: Diario Oficial de la Federación.
 195. Shephard K.L. 1994. Functions for fish mucus. *Fish Biology and Fisheries* 4: 401-429.
 196. Shiau, S.Y., & Ning, Y.C.2003. Estimation of dietary copper requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Journal of Animal Science* 77: 287-292.
 197. Siepman, S., & Bruhn, L. 1999. *Hazard Assessment of the fungicides Benomyl, Captan, Chlorothalonil, Maneb and Ziram to Aquatic organisms.* The Resources Agency Department of fish and game. State of California. EU.

198. Sokal, R.R., & Rohlf, F.J. 2012. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 4th edition. W. H. Freeman and Co: New York.
199. Solís, G.G., Gómez-Álvarez, A., Villalba-Atondo, A., Nubes-Ortiz, G., & Romero A. 1996. *Efecto de la calidad del agua sobre los ecosistemas los Ecosistemas Riparios en el Río Santa Cruz, Sonora, México*. Informe Académico Final. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Convenio de Cooperación
200. Soto. G, E., Díaz, P, E., López. L, E., & Lyons, J. 1998. Fish as indicators of environmental quality in the Rio Lerma Basin, Mexico. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 1: 267-276.
201. Suedel, B.C., Boraczek, J.A., Peddicord, R.K., Clifford, P.A., & Dilton, T.M. 1994. Trophic transfer and biomagnification potential of contaminants in aquatic ecosystems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 136: 21-89.
202. Suter, II, G. W., Norton, S. B. & Fairbrother, A. 2005. Individuals versus organisms versus populations in the definition of ecological assessment endpoints. *Integrated Environmental Assessment and Management* 1: 397-400.
203. Suter, II. G. W. 1996. *Risk characterization for ecological risk assessment of contaminated sites*. U.S. Department of Energy.
204. Suter, II.G.W. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers. United Stated

205. Tataruch, F., & Kierdorf, H. 2003. *Mammals as bioindicators. Bioindicators and Biomonitoring: principles, concepts and applications* (Ed. Markert B.A., A.M. Breure., H.G. Zechmeister). Elsevier. Oxford.
206. Taweel, A., Shuhaimi-Othman, M., & Ahmad, A.K. 2011. Heavy metals concentration in different organs of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from selected areas of Bangi, Selangor, Malaysia. *African Journal of Biotechnology* 10(55): 11562-11566.
207. Téllez-Bañuelos, M.C., Santerre, A., Casas, S. J., & Zaitseva, G. 2010. Concentraciones bajas de plaguicida endosulfán incrementan in vivo e in vitro la proliferación de esplenocitos en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *scientia-CUCBA* 12(1-2): 21-27.
208. Thomann, R.V. 1989. Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains. *Environmental Science & Technology* 23: 699-707.
209. Torres-Bugarín, O., Zavala-Aguirre, J.L., Gómez-Rubio, P., Buelna-Osben, H.R., Zúñiga-González, G., García-Ulloa, G.M. (2007). Especies de peces con potencial como bioindicadores de genotoxicidad en el lago "La alberca", Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 17(1):75-81.
210. Toxnet. 2016. Carbendazim [.https://toxnet.nlm.nih.gov/cgibin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+6581](https://toxnet.nlm.nih.gov/cgibin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+6581). Consultado el 3 de agosto de 2018.
211. Uresti, M. R.M., Santiago, A. R., Díaz, M. N.E., & Gutiérrez, L. J. 2008. Evaluación preliminar de la presencia de pesticidas organoclorados en pescados de la Presa Vicente Guerrero (Tamaulipas, México). *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 6(1):48-55

212. USEPA. 1991. Ecological Assessment of superfund site: an overview. *ECO-Update* 1(2):1-8.
213. USEPA. 1992. *Framework for Ecological Risk Assessment*. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/630/R-92/001
214. USEPA. 1998. Guidelines Ecological Risk Assessment. Washington, Dc: Environmental Protection Agency. EPA/630/R-95/002F.
215. USEPA. 2014. Memorandum: Preliminary problem formulation for the environmental fate, ecological risk, endangered species, and human drinking water exposure assessments in support of the registration review of Thiophanate Methyl and Carbendazim. Washington, Dc: Environmental Protection Agency. PC Code: 102001 and 128872.
216. Valle, V. P.2000. *Toxicología de Alimentos*. Instituto Nacional de Salud Pública. México.
217. Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk. *Assessment Environmental Toxicology and Pharmacology* 13:57-149.
218. Vieira, E.M., Santos, N. T., d'Almeida, D., Christina, I., Fernández, B, N.J., Rodríguez, S. M.L., & Pinto, C. R.M. 2015. Variabilidad espacial de la concentración de nitratos en el embalse de Nova Ponte, minas Gerais, Brasil, por medio de la geoestadística y los sistemas de información geográfica-SIG. *Aqua-LAC* 7(1): 49-55.

219. Villalobos, G.U. 2006. Ciclo anual de estratificación y circulación en el Embalse Arenal, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 54(1): 257-263.
220. Vinodhini, R., & Narayanan, M.2008. Bioaccumulations of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *International Journal of Environmental Science and Technology* 5: 179-182.
221. Wackernagel, H. 2003. *Multivariate Geostatistics: An Introduction with Applications*, (3rd ed.) Heidelberg: Springer, Berlin.
222. Wael, A.O., Khalid, H. Z., Amr, A. A.K., & Abo-hegab, S. 2012. Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. *Mutation research* 746:7-14.
223. Wayne, W. D. 2011. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la Salud*. Limusa. México.
224. Wichert, G.A., & Rapport, D.J.1998. Fish community structure as a measure of degradation and rehabilitation of riparian systems in an agricultural drainage basin. *Environmental Management* 22: 425-443.
225. Wood, E.D., Amstrong, F.A.J., & Richards, F.A. 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium cooper reduction to nitrite. *Journal of the Marine Biological Association* 47: 23-31.
226. Xie, Y., Chen, T., Lei, M., Yang, J., Guo, Q., Song, B., & Zhou, X. 2011. Spatial distribution of soil heavy metal pollution estimated by different interpolation methods: Accuracy and uncertainty analysis. *Chemosphere* 82: 468-476.
227. Yilmaz, F. 2009. The comparison of heavy metal concentrations (Cd, Cu, Mn, Pb, and Zn) in tissues of three economically important fish (*Anguilla anguilla*,

Mugil cephalus and *Oreochromis niloticus*) inhabiting Koycegiz Lake-Mugla.
Turkish Journal of science & Technology 4(1): 7-15.

228. Yoder, C.O., & Rankin, E.T. 1995. *Biological criteria program development and implementation in Ohio*. In: Davis, W.S., Simon, T.P. (Eds), *Biological Assessment and Criteria-Tools for Water Resource Planning and Decision Making*. Lewis, Boca Raton, pp. 109–144.
229. Zapata-Pérez, O., R. Simá-Álvarez, E., Noreña-Barroso, J., Guemes, G., Gold-Bouchot, A., Ortega & Albores-Medina, A. 2000. Toxicity of sediments from Bahía de Chetumal, Mexico, as assessed by hepatic EROD induction and histology in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Marine Environmental Research* 50(1-5): 385-391.

ANEXO 1 (Publicación)

Heavy metal bioaccumulation in *Oreochromis niloticus* from Tenango Dam, Puebla, Mexico

Mario Alejandro Muñoz-Nájera  · Guadalupe Barrera-Escorcía · Patricia Ramírez-Romero · Felipe Omar Tapia-Silva · Ricardo Rosas-Cedillo

Received: 15 July 2017 / Accepted: 6 April 2018
© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018

Abstract *Oreochromis niloticus* was used to determine the effects of heavy metals and their concentration in aquatic environments. Its wide distribution, resistance, and economical importance make it a suitable biomonitor. The present study was conducted in the Tenango Dam (Puebla, Mexico) to determine water quality and its impact on *O. niloticus*, a species that is cultured and commercialized in this area. Five samples were collected over 1 year to evaluate the water's physicochemical parameters (temperature, dissolved oxygen, pH, and hardness) and metal contents (cadmium, chromium, copper, and lead). Metal concentrations, bioconcentration factors, and metallothionein levels were also assessed in *O. niloticus* livers and muscle tissues. Water and tilapia quality were estimated according to current Mexican guidelines. Results indicated that the water's physicochemical parameters were within acceptable ranges. Metal concentrations, however, suggested that this resource was not suitable for urban use. Moreover, metal levels in

fish tissues exceeded the acceptable limits during two periods, rendering it unsuitable for human consumption. The bioconcentration factor indicated that the metals can potentially accumulate in organisms. Furthermore, metallothionein levels in liver and muscle showed a direct correlation with metal concentrations in these tissues. This is the first study to use tilapia as an indicator of contamination in the Tenango Dam, and also the first to describe the presence of metals in this water body.

Keywords *Oreochromis niloticus* · Metals · Bioconcentration · Metallothioneins

Introduction

Toxic contaminants from human activities—such as mining, agriculture and industry—enter the ecosystems and disperse through water, air, and soil. Their toxicity depends on their chemical composition, concentration, and dispersion pattern, among other factors. They can have short-, middle-, and long-term effects on organisms.

As a consequence, it is essential for environmental analyses to determine contaminant concentrations, especially for pollutants that are regulated by ecosystem protection laws. Moreover, it is crucial to acknowledge the effects these substances can have on the organisms that are present in ecosystems, since their concentration alone does not directly reflect the potential environmental risk to these populations. Since the 1980s, living creatures have been used to assess the effect of contaminants present in the environment. These organisms,

M. A. Muñoz-Nájera (✉)
Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, San Rafael
Atlixco No. 186, Col. Vicentina, 09340 Iztapalapa, Mexico
e-mail: biolexmn@hotmail.com

G. Barrera-Escorcía · P. Ramírez-Romero · F. O. Tapia-Silva
Department of Hydrobiology, Universidad Autónoma
Metropolitana – Unidad Iztapalapa, San Rafael Atlixco No. 186,
Col. Vicentina, 09340 Iztapalapa, Mexico

R. Rosas-Cedillo
Department of Hydraulic and Process Engineering, Universidad
Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa, San Rafael Atlixco
No. 186, Col. Vicentina, 09340 Iztapalapa, Mexico

called biomonitors, are currently essential tools to analyze the effects of toxic materials. These substances tend to accumulate in specific organs, such as lungs, kidneys, and liver, as well as in specific tissues, including fat, muscle, and bone. Accumulation analyses are the best indicators of their biological impact, given that they reflect substance availability for living organisms (Phillips and Segar 1986; Borgmann 2000).

Some authors have indicated that fish are the most diverse vertebrate organisms on Earth (Nelson 1994). Thus, they can be used as indicators of water quality and are useful for communicating results. They also exhibit the effects of a number of chemical compounds in an ecosystem (Cowx and Collares-Pereira 2002). Fish are excellent tools for making decisions about environmental issues (Oberdorff et al. 2002). These animals are also considered to be the best indicators of aquatic degradation (Wichert and Rapport 1998). Fish biomonitoring must meet health and environmental guidelines for human consumption and the evaluation of natural aquatic environments (Chovanec et al. 2000).

A number of ecotoxicological analyses have used *Oreochromis niloticus* (tilapia) as a biomonitor. Several studies using this species have been published in international journals, including in Egypt where aluminum, arsenic, cadmium, copper, chromium, iron, lead, manganese, mercury, and zinc concentrations were quantified in tilapia muscle (Authman 2008; Essa and Rateb 2011; Osman 2012). Similar studies have been conducted in Ethiopia (Mulu and Mehari 2013), Nigeria (Ekpo et al. 2013), Saudi Arabia (El-Sayed et al. 2013), Sudan (Mohamed and Osman 2014), and northern Ghana (Adazabra et al. 2014).

Tilapia has also been used by several studies in Mexico, including as a biomonitor in Tamaulipas, where heavy metals were quantified in samples from the Laguito de Nuevo Laredo water body (Ramos et al. 2004). In Chiapas, another research group used biomarkers to quantify metal concentrations and their effects (Gold-Bouchot et al. 2006). A different study assessed metal-contaminated sediments and toxicity in *O. niloticus* specimens from the state of Quintana Roo (Zapata-Pérez et al. 2000). Additionally, Flores et al. (2010) analyzed the effects of metals from bio-solid lixiviates released from a treatment plant in Aguascalientes.

According to the aforementioned studies, *O. niloticus*' role as a biological model is crucial to investigations. Furthermore, it is widely distributed

throughout freshwater bodies and its physiological characteristics and economic importance make it an appropriate biomonitor. In consequence, the present study was conducted in the Tenango Dam (Puebla, Mexico) over an annual cycle to determine water quality and its impact on *O. niloticus*, a species which is cultured and commercialized in this area.

Materials and methods

Study area

The Tenango Dam is located 1472 m above sea level, between 20° 12' 12.8" north latitude and 97° 59' 26.8" west longitude in the Sierra Norte de Puebla, next to Tenango de las Flores, a town in the municipality of Huachinango (Fig. 1). It is part of the Necaxa hydroelectric system, which consists of the Los Reyes, Laguna, Nexapa, Tenango, and Necaxa dams (INE-UACH 2007; Cerón-Carpio et al. 2012).

This water body generates electrical power. And given its remarkable cloud forest landscape, its inhabitants use it as a tourist attraction (INE-UACH 2007). The services provided to tourists include boating, camping, ornamental plants, and restaurants, whose menus offer *O. niloticus* from the dam itself.

The surrounding areas contain crops of chrysanthemums, gardenias, carnations, roses, poinsettia, Mexican marigolds, and orchids. The dam receives wastewater from surrounding restaurants and household sewage, and there is a notable presence of bottles, clothes, garbage, food wastes, tires, and other solid wastes left by tourists.

Given that no studies have been published regarding water quality in Tenango and the surrounding dams, it is very important to describe the water quality in this protected site, which was declared a natural resource protection area on September 9, 2002.

Field sampling

A total of five samplings were taken, one each in January, April, June, September, and November of 2015. The water samples were collected at 34 collection stations spread around the dam's 341 ha. Physicochemical parameters were registered in situ, including dissolved oxygen (using a YSI54A oximeter, ± 0.05 mg/L), pH, and temperature (with a Hanna HI981 field

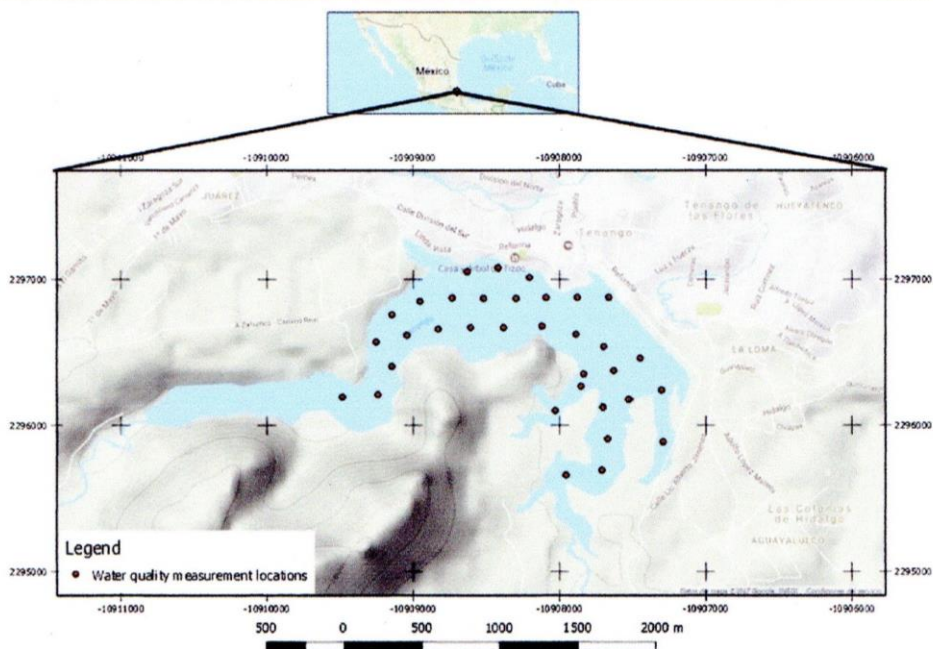


Fig. 1 Tenango Dam location and sampling

potentiometer, ± 0.005 pH units, ± 0.005 °C). To determine hardness (± 0.005 mg/L) and metal concentrations (i.e., cadmium, chromium, copper, and lead, ± 0.0005 mg/L), the samples were collected manually and separately in 1-L plastic recipients previously treated according to APHA specifications (1992).

For each sampling, 30 specimens of tilapia were obtained from the dam using nylon nets. Morphometric data, including length (± 0.05 mm) and weight, were measured according to the quality specifications for the commercialization of this species (SAGARPA 2006). Certain morphological features were also registered, including eye physiognomy, presence of tumors, skin color, and general appearance. Biological and water samples were labeled for identification and transported in an icebox for further refrigeration.

Laboratory analyses

Water hardness was determined using the EDTA titration method (APHA 1992). Metal levels were measured with atomic absorption spectrophotometry, a technique for natural and potable water as well as treated and

untreated wastewater. This was performed according to Mexican official guideline NMX-AA-051-SCFI-2001 (Secretaría de Economía 2001).

To determine metallic traces in fish, each specimen was dissected to obtain liver and muscle biopsies, using plastic instruments to prevent potential contamination. Three grams of tissue were placed on a watch glass and dried out in a Felisa 131 incubator at 40 °C for 3 days, until a constant weight was reached. Subsequently, 0.5 g of tissue were processed in a Teflon recipient with 5 mL of reactive grade HNO₃ (J. T. Baker) for further digestion in a CEM MARSX5 microwave oven at 170 °C for 20 min (EPA Method 3015 1995; Lozada-Zarate et al. 2006). The resulting product was diluted to 30 mL for its analysis in a Varian 220 FS flame atomic absorption spectrophotometer. Readings of the concentrations in the water and tissue samples were performed in duplicate. Water samples of the National Metrology Center (Key DMR469) with 0.5 to 1.0 mg Cd/L and 1.0 to 5.0 mg Cr/L were used as reference. Metal concentrations in tissue were expressed as dry weight. The bioconcentration factor (BCF) of each metal was determined based on the

metal concentrations found in the tissue and water samples for each season, using the following equation:

$$\text{BCF} = \frac{\text{Chemical compound concentration in tissue}}{\text{Chemical compound concentration in water}}$$

As a general rule, a BCF > 1.0 suggests that the contaminant can bioaccumulate and a BCF > 100 means that this possibility is high (Badii et al. 2005).

Metallothioneins were determined using the silver saturation technique (Scheuhammer and Cherian 1986), which consisted of homogenizing 0.2 g of fresh tissue with 0.8 mL of sucrose (0.25 M), followed by freezing at $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ for further processing. Then, processed rabbit blood, along with hemoglobin, was used to sweep the metals that were not taken up by metallothioneins. The unwanted molecules were pelleted by boiling the sample in a water bath for 2 min and spinning it at 4000 RPM for 5 min. The supernatant was then retrieved and centrifuged at 13,000 RPM for 5 min. For the remaining silver concentration, metallothionein concentrations (in $\mu\text{g/g}$ of fresh tissue) were determined using a Varian 220 FS flame atomic absorption spectrophotometer.

Statistical analysis

Statistical inference analyses were performed for: physicochemical parameters of the water; metal concentrations in water, liver, and muscle; metallothionein levels; and fish size and weight. To define the presence of seasonal variations, Omnibus (K^2) and Levene tests were used to assess the data's behavior based on the normality of the distribution and homoscedasticity. Normally distributed data groups were analyzed using ANOVA (F), and non-normally distributed datasets were analyzed with the Kruskal-Wallis test (H). Correlations were determined to identify relationships among morphometric variations, bioaccumulated metal concentrations, and metallothionein levels in fish. Normality was determined with Kolmogorov-Smirnov ($K-S$) tests. Normally distributed data were correlated with Pearson's correlation and non-normally distributed numbers were correlated with Spearman tests (Sokal and Rohlf 2012).

Results

Water quality

The water's physicochemical parameters—including temperature, pH, dissolved oxygen, and hardness—were significantly different throughout the seasons (Table 1). The mean temperature registered in January was $16.15\text{ }^{\circ}\text{C}$, making this month colder than the others (April, June, September, and November). The average dissolved oxygen concentration reached its highest level (17.8 mg/L) in June, while hardness was lowest in April (56.41 mg/L) and September (44.76 mg/L). The highest mean pH (10.43) was observed in September.

The concentrations of lead, cadmium, chromium, and copper differed according to season. The highest Pb and Cr values were observed in January and April, while cadmium quantities peaked in June and copper levels in June and November (Table 1). Lead was the most abundant element in the study site, followed by chromium, copper, and cadmium.

Tilapia quality

A total of 150 *O. niloticus* specimens were evaluated according to the guidelines established by the tilapia production manual, including SAGARPA's (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) specifications for quality and innocuousness. Only two specimens did not meet the visual quality requirements, one in January and one in April. This was due to the presence of hematomas and the loss of over 15% of their scales. The specimens generally met the visual requirements for commercialization (Table 2).

Despite the fact that all but two specimens passed the visual inspection, none reached the minimum weight (150 g) or length (18 cm) considered suitable for commercialization. In addition, significant length differences were observed in April and November.

Figure 2 and Table 3 show the metal concentrations in *O. niloticus* liver and muscle samples. In January and April, lead, cadmium, and chromium were well above the 0.5 mg/kg limit considered safe by Mexican guideline NOM-242-SSA1-2009 (Secretaría de Salud 2011), which stipulates the sanitary specifications for fresh, refrigerated, frozen, and processed fishing products. In consequence, consumption of these products could

Table 1 Average and standard deviations for temperature, pH, dissolved oxygen, hardness, and metal concentrations for water in the Tenango Dam

Variable	January	April	June	September	November	Maximum allowed limit
Temperature* (°C)	16.15 ± 0.73	22.47 ± 0.87	23.91 ± 0.58	24.14 ± 1.32	19.23 ± 1.16	40 ^{a,b,c}
pH*	8.13 ± 0.17	8.67 ± 0.19	8.99 ± 0.28	10.43 ± 0.50	7.65 ± 0.67	6.0–9.0 ^{a,c} 6.5–8.5 ^{b,c}
O ₂ * (mg/L)	8.9 ± 0.5	11.9 ± 0.9	17.8 ± 1.8	9.4 ± 0.9	13.2 ± 1.3	4.0 ^{a,d} 5.0 ^{b,d}
Hardness* (mg/L)	85.36 ± 21.03	56.41 ± 5.85	56.52 ± 5.05	44.76 ± 9.79	196.12 ± 47.84	400.0 ^{a,c}
Pb* (mg/L)	3.20 ± 1.05	2.93 ± 1.50	0.40 ± 0.15	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.02	0.05 ^{a,c} 0.03 ^{b,c}
Cd* (mg/L)	BDL	BDL	0.13 ± 0.05	< 0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.007	0.01 ^{a,c} 0.004 ^{b,c}
Cr* (mg/L)	0.42 ± 0.13	0.16 ± 0.11	0.01 ± 0.007	0.11 ± 0.06	0.02 ± 0.01	0.05 ^{a,b,c}
Cu* (mg/L)	< 0.01 ± 0.007	< 0.01 ± 0.005	1.37 ± 0.62	< 0.01 ± 0.001	0.25 ± 0.03	1.0 ^{a,c} 0.05 ^{b,c}

BDL below the detection limit

*Statistically significant differences (*p* < 0.01)

^a Mexican limits for urban use (CNA 2016)

^b Mexican limits for protection of aquatic life (CNA 2016)

^c Highest allowed limit

^d Lowest allowed limit

potentially compromise the consumers' health. The high metal concentrations registered during the first 2 months and the subsequent reduction (Fig. 2) in the later samplings resulted in statistically significant seasonal differences (Table 3). In contrast, copper levels were always within the limits considered safe for food consumption (30 mg/kg).

Bioconcentration factor

Table 4 presents the bioconcentration factor (BCF) calculations, which shows lead levels between 0.27 and 3.79 in liver and between 0.25 and 3.42 in muscle. Since these values reached their lowest level in June, lead was considered potentially bioaccumulative in January,

Table 2 Percentage of specimens meeting the quality specifications established by SAGARPA

	January	April	June	September	November
Clear cornea	100	100	100	100	100
Red or pink gills	100	100	100	100	100
Complete operculum	100	100	100	100	100
Complete pelvic and pectoral fins	100	100	100	100	100
Absence of body wounds	100	100	100	100	100
Absence of tumors	100	100	100	100	100
Absence of hematomas	96.6	96.6	100	100	100
Absence of skeletal deformities	100	100	100	100	100
Clear mucus	100	100	100	100	100
Firm body texture	100	100	100	100	100
Red, gray, or black shin	100	100	100	100	100
Loss of scales under 15%	100	96.6	100	100	100

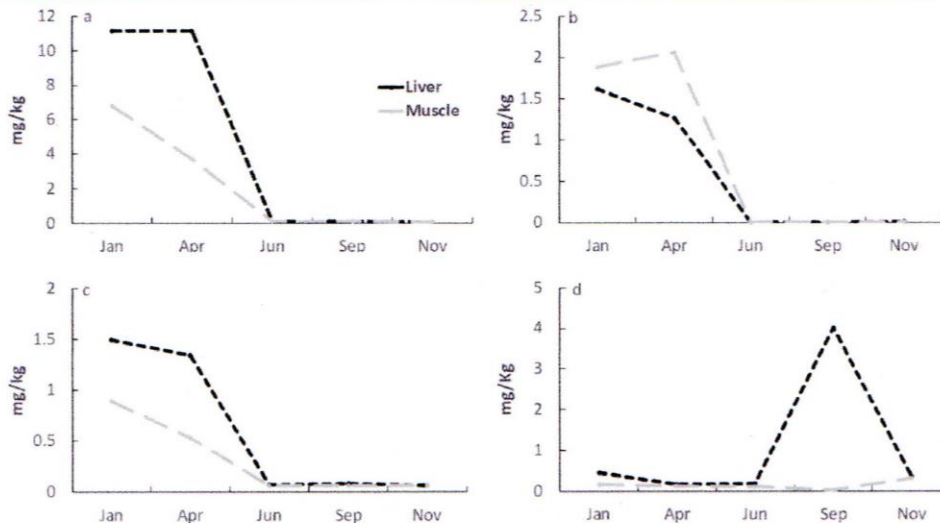


Fig. 2 Metal concentrations. **a** Pb, **b** Cd, **c** Cr, and **d** Cu in the liver and muscle of *O. niloticus*

April, September, and November. Cadmium concentrations ranged from 0.05 to 7 in liver and 0.05 to 8 in muscle. The highest values were registered in September and were therefore considered potentially bioaccumulative. Chromium bioconcentrations indicated that this substance potentially accumulated in the organisms during four of the 5 months evaluated, with values ranging from 0.72 to 8.37 in liver and 0.54 to 6 in

muscle. The copper BCF in liver ranged between 0.13 and 4010, making this metal highly bioaccumulative in January, April, and September. Muscle copper bioconcentrations ranged from 0.08 to 170; January and April were highly bioaccumulative months and September and November were potentially bioaccumulative months. The liver was the organ with the highest metal bioconcentration. The most

Table 3 Average and standard deviations for weight (g), length (cm), and metal concentrations (mg/kg dry weight) in liver and muscle of *O. niloticus*. SAGARPA's commercial quality values and maximum limits included

	January	April	June	September	November	Quality limits
Weight	120 ± 42	100 ± 21	122 ± 45	112 ± 33	111 ± 27	150–300 ^a
Length*	18.7 ± 2.7	15.6 ± 1.4	18.4 ± 2.2	18.4 ± 1.2	16.4 ± 4.1	18–25 ^a
Pb-L*	11.12 ± 3.63	11.13 ± 0.42	0.11 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.5 ^b
Pb-M*	6.82 ± 4.18	3.68 ± 1.06	0.10 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.5 ^b
Cd-L*	1.62 ± 0.98	1.26 ± 0.51	0.01 ± 0.004	0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.008	0.5 ^b
Cd-M*	1.89 ± 0.89	2.06 ± 0.47	0.01 ± 0.003	0.01 ± 0.003	0.01 ± 0.001	0.5 ^b
Cr-L*	1.49 ± 0.76	1.34 ± 0.10	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.05	0.06 ± 0.02	0.1 ^b
Cr-M*	0.89 ± 0.43	0.53 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.04	0.06 ± 0.01	0.1 ^b
Cu-L*	0.45 ± 0.06	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.04	4.01 ± 0.04	0.35 ± 0.11	30 ^c
Cu-M*	0.17 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.32 ± 0.11	30 ^c

L liver, M muscle

*Statistically significant differences ($p < 0.01$)

^a Quality and innocuousness specifications for tilapia production according to SAGARPA's guidelines

^b Sanitary specifications for fresh, refrigerated, frozen and processed fish products, NOM-242-SSA1-2009 (Secretaria de Salud 2011)

^c Maximum limit for fishing products for human consumption (LBMP 2017)

Table 4 Average metal bioconcentration factor in liver and muscle of *O. niloticus* from the Tenango Dam

Season	Pb-L	Pb-M	Cd-L	Cd-M	Cr-L	Cr-M	Cu-L	Cu-M
January	3.47 ^a	2.13 ^a	BLD	BLD	3.54 ^a	2.11 ^a	450 ^b	170 ^b
April	3.79 ^a	1.25 ^a	BLD	BLD	8.37 ^a	3.31 ^a	160 ^b	130 ^b
June	0.27	0.25	0.05	0.05	7 ^a	6 ^a	0.13	0.08
September	3.42 ^a	3.42 ^a	7 ^a	8 ^a	0.72	0.54	4010 ^b	30 ^a
November	2.85 ^a	3.21 ^a	1	0.7	3.52 ^a	3.52 ^a	1.4 ^a	1.28 ^a

BLD below the limit of detection, L liver, M muscle

^a Potentially bioaccumulative

^b Highly bioaccumulative

concentrated element was copper, followed by chromium, lead, and cadmium.

Metal concentration/Morphometry rate

The correlation analyses shown in Table 5 indicates a direct correlation between weight, length, and metal concentrations in tissue. Larger fish bioaccumulated higher metal concentrations in liver and muscle; however, some variations were observed in individual metals and according to season.

Metallothioneins

Table 6 shows significant seasonal differences in metallothionein (MT) levels in liver (where the highest concentrations were found) and muscle. MT concentrations also showed significant differences among sampling seasons, with the highest concentrations registered in January, September, and November (Fig. 3). High MT levels are

positively correlated with high Pb, Cd, Cr, and Cu tissue contents and the month the samples were collected (as shown in Table 3).

Discussion

According to the 2016 Mexican Federal Water Law (CNA 2016), temperature, dissolved oxygen, and hardness registered in Tenango were within permissible limits. These values are not hazardous to aquatic life and indicate that the water could be used for urban supply. Nevertheless, in September, the average pH (10.43 ± 0.50) was slightly higher than the values specified as safe for the protection of aquatic life and urban supply (6.5 to 8.5 and 6.0 to 9.0, respectively). Changes in physicochemical parameters may be associated with seasonal changes. For instance, the lower temperature in January was related to cold fronts that entered the area, which could have affected water temperature. Dissolved oxygen increased in June, which is the rainy season,

Table 5 Significant correlations between morphometric variables and metal concentrations in muscle and liver of *O. niloticus*

	January		April		June		September		November	
	Weight	Length	Weight	Length	Weight	Length	Weight	Length	Weight	Length
Pb-M	0.91	0.83	0.93	0.82	0.82	0.79	0.89	0.89	0.83	0.65
Pb-L	0.84	0.79	–	–	0.82	0.76	0.90	0.92	0.86	0.71
Cd-M	–	–	–	–	0.95	0.89	0.87	0.90	–	–
Cd-L	0.97	0.94	–	–	0.96	0.89	0.90	0.97	0.90	–
Cr-M	0.94	0.88	0.77	0.70	0.84	0.77	0.86	0.96	0.84	–
Cr-L	0.96	0.90	–	–	0.84	0.77	0.90	0.91	0.91	0.83
Cu-M	0.81	0.77	–	–	0.97	0.89	0.91	0.79	0.92	–
Cu-L	0.93	0.87	–	–	0.95	0.85	0.91	0.78	0.89	0.80

L liver, M muscle

Table 6 Correlation between metallothioneins (MT) and metals in muscle and liver of tilapia from the Tenango Dam. Average ($\mu\text{g MT/g}$ of tissue), standard deviation and significant differences reported

	January		April		June		September		November	
	MT-L	MT-M	MT-L	MT-M	MT-L	MT-M	MT-L	MT-M	MT-L	MT-M
Pb	0.90	0.88	–	0.85	0.89	0.92	0.95	0.87	0.77	0.89
Cd	0.95	0.51	–	–	0.97	0.98	0.98	0.95	0.66	–
Cr	0.96	0.94	–	0.67	0.89	0.83	0.91	0.97	0.92	0.60
Cu	0.90	0.76	–	–	0.90	0.94	0.78	0.86	0.87	0.96
MT-L* (mean \pm SD)	125.43 \pm 48.04		80.46 \pm 11.45		79.26 \pm 6.18		108.26 \pm 36.88		106.35 \pm 46.37	
MT-M* (mean \pm SD)	79.31 \pm 44.65		40.56 \pm 7.90		6.59 \pm 2.05		68.80 \pm 34.9		102.24 \pm 47.25	

L liver, M muscle

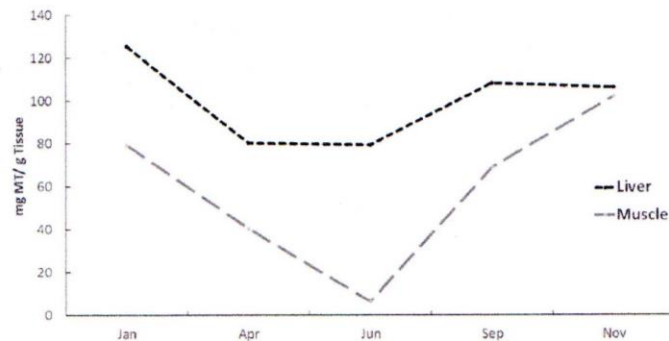
*Statistically significant differences ($p < 0.01$)

presumably due to pluvial water input (Obregón and Duván 2006). Hardness was also affected by the rainy season in June and September, when a larger water volume reduced CaCO_3 levels in the system (Fuentes and Massol 2002). The increased pH in September may have been caused by aquatic plant proliferation in the area, which increased photosynthetic activity, thereby removing CO_2 from the water and increasing its alkalinity (Fuentes and Massol 2002). In addition, these pH values could have induced lethargy, a lack of appetite, a slower growth rate, and less reproduction in tilapia specimens during this month (Saavedra 2006).

The metal concentrations found in the Tenango Dam indicated that this water was not suitable for urban supply and that it could also endanger aquatic life, according to the Mexican law mentioned above. Lead and chromium concentrations increased in January and April. This rise could be explained by the water input from the Nexapa Dam, given that the sluice gates were occasionally opened as a preventive measure to reduce the water level during these months. This water input

could have dragged metal traces, which were detected only when this measurement was taken. Cd and Cu were higher in June, which was the beginning of the rainy season, and they may have been dragged by rainwater from the tourist and agricultural areas surrounding the dam. It is common for people to dump batteries, plastic bottles, tires, and fertilizer and pesticide containers, which could have metallic traces (Moreno 2003). In addition, household wastewater in the area, which usually has a high metal content (González-Ramírez et al. 2009), is discharged into the dam, likely polluting the site further.

Heavy metals have metabolic and behavioral effects on fish. For example, high amounts of lead in water could reduce *O. niloticus* displacement capacity and induce oxidative stress and erythrocyte damage (Ercal et al. 2001; El-Badawi 2005). Chromium exposure can greatly increase mucus production, reduce respiratory capacity and osmotic regulation, contribute to blood vessel congestion, and induce sperm hypertrophy in fish (Arillo and Melodio 1988; Ackermann 2008). Cadmium

Fig. 3 Metallothionein concentrations in the liver and muscle of *O. niloticus*

contamination may congest blood vessels, reduce hemoglobin levels, and cause the swelling of cells in aquatic organisms (Dyk et al. 2007). And copper could potentially alter methionine, histidine, and cysteine concentrations in fish due to an increased production of reactive oxygen species (Grossel and Wood 2002).

Regarding the quality of the tilapia, their small size could have been caused by exposure to cadmium, chromium, and copper, as reported previously by Shiau and Ning (2003), Abbas et al. (2007), and Vinodhini and Narayanan (2008).

Bioaccumulation of lead and chromium in tilapia was greater in January and April, reflecting an increased concentration of these metals in the water. It is important to mention that the consumption of fish contaminated with these lead concentrations has been related to Pb toxicity, characterized by protoporphyrin reduction, erythrocyte pigmentation, abdominal pain, headache, constipation, and nausea (Valle 2000). In addition, the cadmium levels detected in this study have been associated with mild kidney damage (Moreno 2003). And chromium ingestion is related to bowel irritation, abdominal pain, vomiting, and diarrhea (Mencías and Mayero 2000). With the exception of cadmium, the bioaccumulation of these metals in *O. niloticus* was higher in liver than in muscle, in agreement with findings by Abdulali et al. (2012) in Malaysian tilapia.

Copper was the most bioconcentrated element, followed by chromium, lead, and cadmium, in that order. This tendency was similar to reports from Saudi Arabia (Abdel-Baki et al. 2011), Nigeria (Ishaq et al. 2011), Egypt (Mostafa et al. 2015), and Kenya (Francis and Faith 2016).

The relationships between metal concentrations and weight and between metal concentrations and length concur with Authman's conclusions (2008). He stated that an organism exposed to metals slowly and gradually incorporates them into its tissues, and therefore, larger fish accumulate more metal. Moreover, a number of authors (e.g., Evans et al. 1993; Canli and Atli 2003) have reported that fish incorporate metals through feeding and breathing, and in certain cases homeostatic and metabolic regulatory capacities diminish as they grow old.

The metals analyzed in this study induced the production of metallothionein to equilibrate their levels in the organism, thereby preventing harmful effects. In consequence, there was a directly proportional correlation between metal and metallothionein concentrations (Roesijadi 1992; Atli and Canli 2003). This was

confirmed by the correlation analyses, which suggested that the metallothionein was induced by the presence of metals. MT and metals were most concentrated in the liver, which coincides with the results published by Lim et al. (1998), Gülüzar and Canli (2008), Chandrasekera et al. (2008), Hauser-Davis et al. (2014), and Chatterjee et al. (2016).

Conclusions

The high levels of heavy metals found in the water posed a health risk for the organisms living there. These concentrations also indicated that this resource was hazardous to public health and that urban use should be restricted. Even though it is considered a pollution-resistant fish, *O. niloticus* was a suitable biomonitor given that it exhibited the effects of exposure to metals through changes in metallothionein in muscle and liver (correlating positively with bioaccumulated metal concentrations) and through having lower weights and sizes than those recommended for commercialization.

Based on the metal bioaccumulation levels found in muscle in this study, *O. niloticus* from the Tenango Dam was not suitable for human consumption during the period analyzed, even though the specimens complied with the appearance specifications for commercialization. Its consumption could compromise human health. More studies are necessary in order to identify the sources of the metals and control them. A system to monitor metals in tilapia is needed so as to prevent their consumption until the proper standards are reached.

Acknowledgements This research was sponsored by the Indicadores de integridad ecológica y salud ambiental 2014-2018 project, from the Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). These results are linked with the UAM Biological and health sciences PhD, part of the Census of Quality Postgraduate Program supported by CONACYT, Mexico. We would like to thank Dr. Héctor Barrera Villa Zevallos for reviewing this manuscript.

References

Abbas, H. H. H., Hammada, M. M., & Miller, J. D. (2007). Vitamin C and cadmium toxicity in fish *Oreochromis niloticus*. *Online Journal of Veterinary Research*, 11(1), 54–74.

Abdel-Baki, A. S., Dkhil, M. A., & Al-Quraishy, S. (2011). Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah,

- Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2541–2547.
- Abdulali, K. A., Shuhaimi-Othman, M., & Ahmad, A. K. (2012). Analysis of heavy metal concentrations in Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from four selected markets in Selangor, Peninsular Malaysia. *Journal of Biological Sciences*, 12(3), 138–145.
- Ackermann, C. (2008). A quantitative and qualitative histological assessment of selected organs of *Oreochromis mossambicus* after acute exposure to cadmium, chromium and nickel. M. Sc. dissertation, University of Johannesburg, South Africa.
- Adazabra, A. N., Kombat, E. O., & Fletcher, J. J. (2014). Parameterization of non-essential heavy metals concentration in different tissues of inland commercial fish *Oreochromis niloticus* from Ve a Dam, Bolgatanga, Northern Ghana. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(7), 247–258.
- APHA. (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington, DC: American Public Health Association.
- Ariño, A., & Melodío, F. (1988). Effects of hexavalent chromium on trout mitochondria. *Toxicology Letters*, 44, 71–76.
- Atli, G., & Canli, M. (2003). Natural occurrence of metallothionein-like protein in liver of fish *Oreochromis niloticus* and effects of cadmium, lead, copper, zinc, and iron exposures on their profiles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70, 619–627.
- Authman, M. M. N. (2008). *Oreochromis niloticus* as a biomonitor of heavy metal pollution with emphasis on potential risk and relation to some biological aspects. *Global Veterinaria*, 2(3), 104–109.
- Badii, Z. M. H., Garza, C. R., Garza, A. V., & Landeros, F. J. (2005). Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. *Cultura, Ciencia y Tecnología*, 2(6), 1–20.
- Borgmann, U. (2000). Methods for assessing the toxicological significance of metals in aquatic ecosystems: bioaccumulation-toxicity relationships water concentrations and sediment spiking approaches. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 3, 277–289.
- Canli, M., & Atli, G. (2003). The relationships between heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121(1), 129–136.
- Cerón-Carpio, A. B., Contreras-Jiménez, J. L., & Gante-Cabrera, V. H. (2012). *Inventario Pteridoflorístico del área de protección de recursos naturales "Cuenca hidrográfica del río Necaxa", porción puebla, Mexico*. Mexico: CONAGUA.
- Chandrasekera, L. W. H. U., Pathiratne, A., & Pathiratne, K. A. S. (2008). Effects of water borne cadmium on biomarker enzymes and metallothioneins in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 36(4), 315–322.
- Chatterjee, S., Datta, S., Das, T. K., Veer, V., Mishra, D., Chakraborty, A., Chattopadhyay, B., Datta, S., Mukhopadhyay, K. S., & Gupta, K. D. (2016). Metal accumulation and metallothionein induction in *Oreochromis niloticus* grown in waste fed fishponds. *Ecological Engineering*, 90(16), 405–416.
- Chovanec, A., Schiemer, F., Cabela, A., Gressler, S., Grotzer, C., Pascher, K., Raab, R., Teufel, H., & Wimmer, R. (2000). Constructed inshore zones as river corridors through urban areas—the Danube in Vienna: preliminary results. *Regulated Rivers: Research & Management*, 16, 175–187.
- Comisión Nacional del Agua (CNA). (2016). *Ley federal de derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales*. México: Diario Oficial de la Federación, México.
- Cowx, I. G., & Collares-Pereira, M. J. (2002). Freshwater fish conservation: options for the future. In M. J. Collares-Pereira, I. G. Cowx, & M. M. Coehlo (Eds.), *Conservation of freshwater fishes: options for the future* (pp. 443–452). Oxford: Fishing News Books.
- Dyk, J. C. V., Pieterse, G. M., & Van Vuren, J. H. J. (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, 432–440.
- Ekpo, F. E., Agu, N. N., & Udoakpan, U. I. (2013). Influence of heavy metals concentration in three common fish, sediment and water collected within quarry environment, Akamkpa L. G. area, Cross river State, Nigeria. *European Journal of Toxicological Sciences*, 3, 1–11.
- El-Badawi, A. A. (2005). Effect of lead toxicity on some physiological aspects of Nile tilapia fish, *Oreochromis niloticus*. International Conferences of the Veterinary Research Division. Cairo, Egypt: NRC.
- El-Sayed, M. Y., Abdel-Wahab, M. W., Nasser, A., Hossam, E., & Mohamed, M. (2013). Histological changes in the liver and intestine of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to sub lethal concentrations of cadmium. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(3), 833–841.
- EPA Method 3015. (1995). Microwave assisted acid digestion of aqueous sample an extract. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3015a.pdf>. Accessed on January 15, 2016.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 529–539.
- Essa, H. H., & Rateb, H. Z. (2011). Residues of some heavy metals in freshwater fish (*Oreochromis niloticus* and *Labeo niloticus*) in Assiut city markets. *Assiut University Bulletin for Environmental*, 14(1), 31–39.
- Evans, D. W., Dodoo, D. K., & Hanson, P. J. (1993). Trace elements concentrations in fish livers implications of variations with fish size in pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 26(6), 329–334.
- Flores, T. F. J., Flores, P. L., Valenzuela, C. I. C., & Flores, S. E. A. (2010). Lixiviados de biosólidos sobre la biota dulceacuícola. *Investigación y Ciencia*, 18(48), 38–48.
- Francis, O., & Faith, B. (2016). Fish tissue bio-concentration and interspecies uptake of heavy metals from waste water lagoons. *Journal of Pollution Effects & Control*, 4, 157. <https://doi.org/10.4172/2375-4397.1000157>.
- Fuentes, F., & Massol, A. (2002). *Manual de laboratorios: ecología de microorganismos*. Puerto Rico: Universidad de Puerto Rico.
- Gold-Bouchot, G., Zapata-Pérez, O., Rodríguez-Fuentes, G., Ceja-Moreno, V., Río-García, M., & Chan-Cocom, E. (2006). Biomarkers and pollutants in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in four lakes from San Miguel, Chiapas, Mexico. *International Journal of Environment and Pollution*, 26(1-3), 129–141.

- González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Prieto-Méndez, J., & Román-Gutiérrez, A. D. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. Tropical and Subtropical. Agroecosystems, without month, pp. 29–44.
- Grossel, M., & Wood, C. M. (2002). Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry. *Journal of Experimental Biology*, 205, 1179–1188.
- Gülüzar, A., & Canli, M. (2008). Responses of metallothionein and reduced glutathione in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* following metal exposures. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25, 33–38.
- Hauser-Davis, R. A., Bastos, F. F., Tuton, B., Chávez, R. R., Saint, P. T., Zioli, L. R., & Arruda, M. A. Z. (2014). Bile and liver metallothionein behavior in copper-exposed fish. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28, 70–74.
- INE-UACH. (2007). Estudio de Ordenamiento Ecológico Territorial de las Cuencas Hidrológicas de los ríos Necaxa y Laxaxalpa. <https://www.agua.org.mx/biblioteca-tematica/manejo-de-cuencas/95-sp-942/676-ordenamiento-de-las-cuencas-de-los-rios-necaxa-y-laxaxalpa>. Accessed on May 15, 2017.
- Ishaq, S. E., Rufus, S. A., & Annune, P. A. (2011). Bioaccumulation of heavy metals in fish (*Tilapia Zilli* and *Clarias gariepinus*) organs from river Benue, North-Central Nigeria. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 12(1&2), 1–37.
- Legislación brasileña de metales pesados (LBMP). (2017). Metales pesados en materia de alimentos. <http://paguicidas.comercio/MetalPesado.pdf>. Accessed on May 15, 2017.
- Lim, L. K., Wai, K. P., Ka-Yee, J., & Ming, C. K. (1998). Metal toxicity and metallothionein gene expression studies in common carp and tilapia. *Marine Environmental Research*, 46(1–5), 563–566.
- Lozada-Zarate, E. J., Monks, S., Pulido-Flores, G., Gordillo-Martínez, A. J., & Prieto-García, F. (2006). Determinación de metales pesados en *Cyprinus* en la laguna de Metztitlan, Hidalgo, México. https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_Helminfos/Griselda_Pulido/Lozada-Zarate-2006a.pdf. Accessed on May 15, 2017.
- Mencías, R. E., & Mayero, F. L. M. (2000). *Manual de toxicología básica*. Madrid: Díaz de Santos. Madrid.
- Mohamed, E. H., & Osman, A. R. (2014). Heavy metals concentration in water, muscles and gills of *Oreochromis niloticus* collected from the sewage-treated water and the White Nile. *International Journal of Aquaculture*, 4(6), 36–42.
- Moreno, G. M. D. (2003). *Toxicología ambiental*. México: Mc Graw Hill.
- Mostafa, M. E., Rabie, S. F., Aida, A. D., & Mohammad, F. (2015). Assessment of heavy metals concentration in water and edible tissues of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from two fish farms irrigated with different water sources, Egypt. *International Journal of Environment*, 4(1), 108–115.
- Mulu, B. D., & Mehari, M. W. (2013). Distribution of trace metals in two commercially important fish species (*Tilapia zilli* and *Oreochromis niloticus*) sediment and water from Lake Gubdahri, Eastern Tigrar of Northern Ethiopia. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(9), 1–7.
- Nelson, J. S. (1994). *Fishes of the world*. New York: John Wiley and Sons.
- Oberdorff, T., Pont, D., Huguency, B., & Porcher, J. P. (2002). Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in France. *Freshwater Biology*, 47, 1720–1734.
- Obregón, A., & Duván, A. (2006). Limnología aplicada a la acuicultura. *Revista Veterinaria REDVET*, 7(11), 1–24.
- Osman, A. G. (2012). Biomarkers in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to assess the impacts of river Nile pollution: bioaccumulation, biochemical and tissues biomarkers. *Journal of Environmental Protection*, 3, 966–977.
- Phillips, D. H., & Segar, D. A. (1986). Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants: program design imperatives. *Marine Pollution Bulletin*, 17, 10–17.
- Ramos, O., Guevara, N., Macías, B., & Ortiz, Y. (2004). Evaluación de riesgo a la salud por la presencia de metales pesados en pescado. *Toxicología*, 1, 2–4.
- Roesijadi, G. (1992). Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 22(2), 81–114.
- Saavedra, M. A. (2006). *Manejo del cultivo de tilapia*. Nicaragua: CIDEA-Coastal Resources Center.
- Scheuhammer, A. M., & Cherian, M. G. (1986). Quantification of metallothionein by silver saturation methods. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82(3), 417–425.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimento (SAGARPA). (2006). *Manual de producción de tilapia con especificaciones de calidad e inocuidad*. México: SAGARPA.
- Secretaría de Economía. (2001). *NMX-AA-051-SCFI-2001. Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas*. México: Diario Oficial de la Federación.
- Secretaría de Salud. (2011). *NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba*. México: Diario Oficial de la Federación.
- Shiau, S. Y., & Ning, Y. C. (2003). Estimation of dietary copper requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Journal of Animal Science*, 77, 287–292.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2012). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York: W. H. Freeman and Co..
- Valle, V. P. (2000). *Toxicología de Alimentos*. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Vinodhini, R., & Narayanan, M. (2008). Bioaccumulations of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *International journal of Environmental Science and Technology*, 5, 179–182.
- Wichert, G. A., & Rapport, D. J. (1998). Fish community structure as a measure of degradation and rehabilitation of riparian systems in an agricultural drainage basin. *Environmental Management*, 22, 425–443.
- Zapata-Pérez, O., Sima - Álvarez, R., Noreña-Barroso, E., Guemes, J., Gold-Bouchot, G., Ortega, A., & Albores-Medina, A. (2000). Toxicity of sediments from Bahía de Chetumal, Mexico, as assessed by hepatic EROD induction and histology in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Marine Environmental Research*, 50(1–5), 385–391.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00080

Matrícula: 2143800464

Análisis de riesgo ecológico asociado a contaminantes en el agua y la tilapia *Oreochromis niloticus* (Linneaus, 1758), de la prensa Tenango, Puebla.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 12 del mes de septiembre del año 2019 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. GUADALUPE BARRERA ESCORCIA
- DRA. MARCELA GALAR MARTINEZ
- DR. RODOLFO OMAR ARELLANO AGUILAR
- DR. FELIPE OMAR TAPIA SILVA
- DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO



MARIO ALEJANDRO MUÑOZ NAJERA
ALUMNO

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:


DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DE: MARIO ALEJANDRO MUÑOZ NAJERA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR


REVISÓ



MTRA. ROSALVA HERRERA DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

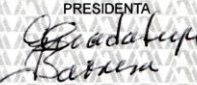
Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS




DRA. SARA LUCÍA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA



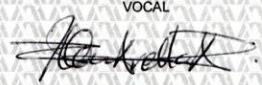
DRA. GUADALUPE BARRERA ESCORCIA

VOCAL



DRA. MARCELA GALAR MARTINEZ

VOCAL



DR. RODOLFO OMAR ARELLANO AGUILAR

VOCAL



DR. FELIPE OMAR TAPIA SILVA

SECRETARIA



DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO