



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

Tesis que presenta

**IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE TIBURONES  
COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE MÉXICO  
COMO CARNE DE PESCADO Y EVALUACIÓN DEL  
RIESGO A LA SALUD POR SU CONSUMO**

**Laura Guadalupe Elizalde Ramírez**

**Matricula: 2151801000**

Para obtener el grado de:

**Maestra en Ciencias (Energía y Medio Ambiente)**

Dra. Patricia Ramírez Romero

Asesores

Dr. Héctor Barrera Villa Zevallos

Jurado:

Presidente: Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa

Secretario: Dr. José Guadalupe Reyes Victoria

Vocal: Dra. Ania Mendoza Cantú

Vocal: Dr. Héctor Barrera Villa Zevallos

**Iztapalapa, Ciudad de México, diciembre de 2018**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la maestría en Ciencias (Energía y Medio Ambiente) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, la cual pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad CONACyT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo a través del convenio Indicadores de integridad ecológica y salud ambiental, por lo que agradezco la beca recibida para el desarrollo de esta tesis, con el No de becario 659582.

Al Laboratorio de Ecotoxicología, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa.

Al Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Planta Experimental de Producción Acuícola, del Departamento de Hidrobiología, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa.

Al Laboratorio Divisional de Biología Molecular, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa.

Mi especial agradecimiento por el apoyo académico brindado a mis asesores e integrantes del jurado calificador: **Dra. Patricia Ramírez Romero, Dr. Héctor Barrera Villa Zevallos, Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa, Dr. J. Guadalupe Reyes Victoria y Dra. Ania Mendoza Cantú**, quienes además de sus valiosos conocimientos y comentarios, dedicaron su valioso tiempo para ayudarme en mi desarrollo profesional.

Agradezco el apoyo de aquellas personas que me brindaron sus asesorías, acceso a equipos, materiales y me apoyaron con el montaje de técnicas además de su valioso tiempo **Dra. Patricia Ramírez Romero, Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa, Dra. Alejandra Serrato Díaz, Dr. Héctor Barrera Villa Zevallos, Dra. Guadalupe Barrera Escorcía.**

Un especial agradecimiento a la Dra. Patricia Ramírez Romero quien me ha acompañado en este largo camino en mi desarrollo académico y profesional, gracias por ser y estar en mi vida.

Agradezco a mis amigos y compañeros del Laboratorio de Ecotoxicología, por su apoyo y ayuda en todo momento, su compañía ha sido muy enriquecedora para mi vida.

A mis amigos con los que curse la maestría, sin ustedes este camino no hubiera sido el mismo, agradezco formar parte de esta generación de excelentes personas de las cuales aprendí mucho y atesoro sus enseñanzas.

## **DEDICATORIA**

A mi amado esposo Isidro, por acompañarme en esta aventura tan hermosa llamada vida, por todo el apoyo que siempre me brindas, por más objetivos que terminar juntos.

A mi querido hijo Isidro Daniel, al tenerte solo pienso en ser una mejor persona para ti, eres mi motor para continuar esta aventura y el motivo de mi felicidad.

A mi mamá, por enseñarme a terminar todo lo que comienzo, por tu apoyo incondicional y por ser quién eres.

A mi papá, por ser mi modelo a seguir, nunca dejare de admirarte y sentirme orgullosa de ser tu hija.

A mis hermanos Eduardo y Benjamín, por su apoyo incondicional y acompañarme con mucho cariño.

## GLOSARIO

**ADN mitocondrial:** Es una molécula circular, cerrada y de doble cadena. Presenta una herencia principalmente materna y su tasa de mutación permite introducir una escala temporal en la evolución molecular y estimar el tiempo de divergencia entre ellos.

**ADN nuclear:** Es una molécula lineal, cerrada y de doble cadena. Se encuentra dentro del núcleo de las células en organismos eucariotas. Los genes nucleares siguen el patrón mendeliano de herencia.

**ADN polimerasa:** Es una enzima que puede sintetizar una cadena nueva de ADN sobre una cadena molde.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico. Un polímero de subunidades llamadas desoxirribonucleotidos que es el material genético primario de todas las células.

**Ahumado:** procedimiento que consiste en someter el alimento al efecto del humo originado en la combustión de madera no resinosa y/o extractos con sabor a humo.

**Amenazadas (A):** Aquellas que podrían llegar a encontrarse en peligro de desaparecer a corto o mediano plazo, si siguen operando los factores que inciden negativamente en su viabilidad, al ocasionar el deterioro o modificación de su hábitat o disminuir directamente el tamaño de sus poblaciones.

**Amplicón:** fragmento de ADN formado mediante una amplificación, se suele referir a los productos amplificados en una PCR.

**BLASTn:** Herramienta básica para la búsqueda de alineaciones locales (nucleótidos), del inglés *Basic Local Alignment Search Tool (Nucleotides)*. Es una herramienta para buscar secuencias similares dentro del GenBank. Encuentra el puntaje (*score*) más alto de las secuencias locales entre las secuencias que son analizadas y las secuencias que se encuentran en la base de datos.

**bp:** Par de bases, del inglés *base pairs*. Son dos bases nitrogenadas apareadas dentro de una doble cadena de una molécula de ADN o ARN. Las bases nitrogenadas en el ADN son: Adenina-Timina y Citosina-Guanina. En el ARN se sustituye la Timina por el Uracilo.

**Barrera hematoencefálica:** Barrera protectora entre los vasos sanguíneos del cerebro y los tejidos cerebrales que permite que la sangre fluya libremente hacia el cerebro, pero impide el contacto entre la mayoría de las sustancias del torrente sanguíneo y las células cerebrales. Esta barrera protege al cerebro de los efectos de numerosas

sustancias nocivas, pero al mismo tiempo dificulta la administración de fármacos al cerebro.

**Bioacumulación:** hace referencia a la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales (u otras sustancias persistentes) en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua).

**Biomagnificación:** Tendencia de algunos productos químicos a acumularse a lo largo de la cadena trófica, exhibiendo concentraciones sucesivamente mayores al ascender el nivel trófico. La concentración del producto en el organismo consumidor es mayor que la concentración del mismo producto en el organismo consumido.

**Caotrópico:** es una sustancia que desorganiza la red tridimensional del agua influyendo en la organización de sus moléculas a través de sus enlaces de hidrógeno, y en la interacción de estas con otros solutos como macromoléculas tales como proteínas, ADN o ARN, tendiendo a desnaturalizarlas o disolverlas

**CITES:** Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, del inglés *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna*. También conocido como la convención de Washington, es un acuerdo internacional entre gobiernos que tiene como objetivo asegurar que, en el comercio internacional de especímenes de fauna y flora silvestres, no habrá ninguna amenaza para su supervivencia.

**Coefficiente de riesgo:** medida del riesgo de que cierta situación suceda en un grupo en comparación con el riesgo de que la misma situación suceda en otro grupo. En el campo de la investigación del cáncer, el cociente de riesgos se usa en los estudios prospectivos (mirada hacia adelante), tales como los estudios de cohorte y los ensayos clínicos. Un cociente de riesgos igual a 1 significa que no hay ninguna diferencia entre dos grupos en cuanto a su riesgo de contraer cáncer, sobre la base de si estuvieron o no estuvieron expuestos a una sustancia o factor determinados, o sobre la base de cómo respondieron a dos tratamientos que se comparan. Un cociente de riesgos mayor que 1 o menor que 1 significa por lo general significa que la exposición a cierta sustancia o factor determinados aumenta (cociente de riesgos mayor de 1) o disminuye (cociente de riesgos menor de uno) el riesgo de contraer cáncer, o que los tratamientos que se comparan no tienen los mismos efectos.

**Contaminante:** Cualquier sustancia en el ambiente que a determinadas concentraciones puede ser perjudicial para el hombre, los animales y las plantas.

**Desnaturalización:** Es el proceso de separación de las cadenas de ADN. Se produce en un estrecho intervalo de temperatura. Las dos cadenas de la doble hélice se separan completamente cuando se rompen todos los puentes de hidrógeno que hay entre ellas.

**Dirección Forward:** Sentido en el que está orientada una secuencia de ADN que va de 5' a 3'. Hace referencia a la unión fosfodiéster que va de la terminal 5' de la molécula correspondiente (purina o pirimidina) a la terminal 3'.

**Dosis:** La cantidad de una sustancia a la que se expone una persona durante un período de tiempo. La dosis es una medida de la exposición. Se expresa corrientemente en miligramos (cantidad) por kilo (medida del peso corporal) por día (medida del tiempo) cuando la gente come o bebe agua, comida o suelo contaminados. En general, cuanto mayor es la dosis, mayor es la probabilidad de un efecto. Una "dosis de exposición" es la cantidad de una sustancia que se encuentra en el medioambiente. Una "dosis absorbida" es la cantidad de sustancia que ha entrado realmente en el cuerpo a través de los ojos, la piel, el estómago, los intestinos o los pulmones.

**Elasmobranquio:** Peces con esqueleto cartilaginoso. Piel cubierta por dentículos dérmicos. No tienen vejiga natatoria. Los elasmobranquios o condriictios son peces muy arcaicos, con esqueleto cartilaginoso. La boca, en los escualos o tiburones, está provista de una poderosa dentadura armada con varias filas de dientes, que se van sustituyendo. Poseen lóbulos olfatorios muy desarrollados. Cola heterocerca (dos mitades desiguales). Fecundación interna; el macho posee un par de órganos copuladores. Son generalmente depredadores y carroñeros.

**En peligro de extinción (P):** Aquellas cuyas áreas de distribución o tamaño de sus poblaciones en el Territorio Nacional han disminuido drásticamente poniendo en riesgo su viabilidad biológica en todo su hábitat natural, debido a factores tales como la destrucción o modificación drástica del hábitat, aprovechamiento no sustentable, enfermedades o depredación, entre otros.

**Especie:** La unidad básica de clasificación taxonómica, formada por un conjunto de individuos que son capaces de reproducirse entre sí y generar descendencia fértil, compartiendo rasgos fisonómicos, fisiológicos y conductuales. Puede referirse a subespecies y razas geográficas.

**Extremo 3' y 5':** se refiere a la numeración de los átomos de carbono en la desoxirribosa que es el azúcar que forma parte de la molécula de ADN.

**Gen:** Unidad básica Mendeliana. Unidad hereditaria que representa una región contigua de ADN (o ARN en el caso de los virus) que corresponde usualmente a una unidad de transcripción.

**GenBank:** Es la base de datos de secuencias genéticas perteneciente al NIH (Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, *National Institutes of Health*). Es una colección registrada de todas las secuencias de ADN disponibles al público.

**Homología de secuencias:** se refiere al hecho en el que las secuencias de dos o más proteínas o ácidos nucleicos guardan gran similitud debido a que presentan un mismo origen evolutivo.

**ITS2:** Es una subporción del ADN ribosomal nuclear. Es una de las regiones más usadas frecuentemente para análisis filogenéticos a nivel género y especie (Coleman 2003).

**IUCN:** Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, del inglés *International Union for Conservation of Nature*. Es la organización más antigua y grande del mundo con más de 1200 miembros de ONGs y gubernamentales en 160 países. Se enfoca en evaluar y conservar la naturaleza, asegurando un uso efectivo y equitativo de los gobernantes y demostrando soluciones a los retos globales en el clima, el alimento y el desarrollo.

**Límite máximo:** a la cantidad establecida de aditivos, microorganismos, parásitos, materia extraña, plaguicidas, radionúclidos, biotoxinas, residuos de medicamentos, metales pesados y metaloides, entre otros, que no se deben exceder en un alimento, bebida o materia prima.

**Lista Roja de la IUCN:** Es un inventario mundial que permite alertar el estado de la biodiversidad mundial. Provee información taxonómica, el estado de conservación e información de distribución de las plantas, hongos y animales que han sido evaluados usando los criterios y las categorías de esta misma lista roja.

**Magnitud:** la magnitud de la dosis administrada depende de la concentración, duración y frecuencia de la exposición, toxicológicamente se clasifican de acuerdo con el periodo de exposición. Crónica es la exposición que dura entre 10 y 100% del tiempo de vida. Subcrónica es de corta duración, menores al 10% del tiempo e vida. Aguda es un día o menos y sucede en un único evento.

**Marcador molecular:** un marcador genético o marcador molecular es un segmento de ADN con una ubicación física identificable en un cromosoma y cuya herencia se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen, o puede ser alguna sección del ADN sin función conocida.

**Marcador:** Alelo usado como una prueba experimental para marcar un núcleo, un cromosoma o un gen.

**Neurotoxicidad:** El sistema nervioso puede ser afectado por diversos agentes neurotóxicos: gases como el monóxido de carbono, dióxido de carbono, ácido sulfhídrico, cianuro y óxido nitroso son asfixiantes de efecto agudo. Los metales pesados como plomo, mercurio, manganeso y aluminio producen un deterioro de funciones cognitivas.

**Oligonucleótido:** Cebador o iniciador en español. Es un oligonucleótido complementario a una de las dos hebras del ADN. Delimita la región del ADN de la cual se quieren obtener más copias. Normalmente está constituido por 18 a 25 pares de bases.

**Osteíctios:** o peces óseos son vertebrados que incluye a todos los peces dotados de esqueleto interno óseo, es decir, hecho principalmente de piezas calcificadas y muy pocas de cartílago. Junto con los condriictios (peces cartilaginosos), forman los dos grandes grupos que comprenden los animales llamados vulgarmente “peces”.

**Parestesia:** Sensación o conjunto de sensaciones anormales de cosquilleo, calor o frío que experimentan en la piel ciertos enfermos del sistema nervioso o circulatorio.

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa, del inglés *Polymerase Chain Reaction*. Es una técnica para amplificar secuencias de ADN *in vitro* por medio de la separación del ADN en dos hebras e incubándolas con oligonucleótidos y ADN polimerasa.

**Peligro:** se refiere a cualquier situación, que puede ser una acción o una condición, que ostenta el potencial de producir un daño sobre una determinada persona o cosa. Ese daño puede ser físico y por ende producir alguna lesión física o una posterior enfermedad, según corresponda o bien el daño puede estar destinado a provocar una herida en un ambiente, una propiedad o en ambos.

**Porcentaje de identidad:** Es el grado en el cual dos secuencias de nucleótidos tienen los mismos residuos en las mismas posiciones en una alineación expresado en porcentaje.

**Probablemente extinta en el medio silvestre (E):** Aquella especie nativa de México cuyos ejemplares en vida libre dentro del Territorio Nacional han desaparecido, hasta donde la documentación y los estudios realizados lo prueban, y de la cual se conoce la existencia de ejemplares vivos, en confinamiento o fuera del Territorio Mexicano.

**Ración:** alimento o preparación que se entrega a cada persona o grupo, en cada tiempo de comida (desayuno, comida, cena).

**Riesgo:** Es la probabilidad que se presente un efecto perjudicial para la salud y de la gravedad de ese efecto, como consecuencia de un factor de peligro.

**Riesgo de efecto tóxico:** se expresa como la relación de la dosis resultante de la exposición a los medios de contaminados de un sitio con la dosis de seguridad, ha esta relación se llama el cociente de riesgo (CR).

**Score:** Utilizado en el BLAST. Es la puntuación obtenida de una alineación. Se calcula al tener la sumatoria de la puntuación de las substituciones y la puntuación de los GAPS.

**Sujetas a protección especial (Pr):** Aquellas que podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas.

**Temperatura de fusión (Tm):** se define como la temperatura a la cual se ha desnaturalizado la mitad de ADN de doble hélice de una mezcla desconocida que se

ha sometido a calentamiento. Cuanto mayor es el contenido en GC, mayor cantidad de calor se deberá suministrar para desnaturalizar al ADN.

**Tóxico:** se utiliza como adjetivo para designar y calificar a todos aquellos elementos o sustancias que resulten nocivos y dañinos para algún tipo de organismo, por lo general se lo utiliza en referencia al ser humano, aunque la mayoría de ellos suelen ser tan dañinos para él como para los animales, plantas y cualquier otro ser vivo. La palabra 'tóxico' viene del idioma griego, para el cual toxon significaba 'punta de flecha', el elemento normalmente cargado con veneno para matar al enemigo.

**Valor E:** En estadísticos de BLAST, es el valor esperado. Este valor es el número de alineaciones con un score particular que se espera obtener por probabilidad cuando se comparan dos secuencias al azar. Entre más bajo sea el valor de E, más significativo será el puntaje (*score*) y la alineación.

## Índice

1. RESUMEN .....	17
2. ABSTRACT.....	18
3. INTRODUCCIÓN.....	20
4. ANTECEDENTES.....	23
5. MARCO TEÓRICO .....	27
5.1 Mercurio en el ambiente.....	27
5.2 Tiburones comerciales .....	28
5.3 Tiburones .....	30
5.3.1 Carcharhinus limbatus Müller y Henle, 1839 .....	30
5.3.2 Carcharhinus leucas Müller y Henle, 1839 .....	31
5.3.3 Carcharhinus falciformis Müller y Henle, 1839.....	32
5.3.4 Galeocerdo cuvier Péron y Lesueur, 1822.....	33
5.3.5 Isurus oxyrinchus Rafinesque, 1810.....	34
5.4 Identificación de especies mediante la PCR de punto final .....	35
5.5 Identificación genética de tiburones .....	36
5.6 ITS2 (Espaciador interno transcrito 2).....	38
5.7 Efectos tóxicos del metilmercurio en humanos .....	39
5.7.1 Exposición a metilmercurio .....	40
5.7.2 Respuestas toxicas de la exposición a metilmercurio.....	40
5.8 Riesgo a la salud.....	41
5.9 Incertidumbre .....	41
6. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	44
7. HIPÓTESIS.....	44

8.	OBJETIVOS.....	45
8.1	Objetivo general .....	45
8.2	Objetivos específicos .....	45
9.	MÉTODO .....	46
9.1	Determinación de los sitios monitorizados en la Central de Abasto .....	46
9.2	Identificación genética.....	47
9.2.1	Extracción de ADN .....	47
9.2.2	Cuantificación de ADN.....	49
9.2.3	Oligonucleótidos para conductos .....	51
9.2.4	La PCR de punto final.....	52
9.3	Riesgo a la salud.....	55
9.3.1	Diseño de la encuesta .....	55
9.3.2	Modelación de la dosis .....	56
9.3.3	Riesgo cuantitativo .....	57
9.3.4	Cálculo de riesgo por consumo no intencional de carne de tiburón.....	57
9.3.5	Caracterización del riesgo a la salud.....	60
9.3.6	Identificación de las incertidumbres.....	61
9.4	Análisis matemático para la estimación del riesgo .....	63
9.4.1	Campo escalar.....	64
9.4.2	El campo de vectores de riesgo.....	71
9.4.3	La superficie de riesgo.....	72
10.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	76
10.1	Determinación del número de locales .....	76
10.2	Cuantificación y determinación de la calidad del ADN .....	77
10.3	Resultados de la PCR de punto final .....	81

10.3.1	Carne de pescado para hacer ceviche .....	81
10.3.2	Filete económico .....	85
10.3.3	Filete de pescado ahumado .....	89
10.3.4	Filete de pescado para capear .....	90
10.3.5	Carne de pescado para hacer caldo.....	92
10.3.6	Carne de pescado para hacer quesadillas .....	94
10.4	Comercio y consumo .....	97
10.5	Salud.....	98
10.6	Riesgo a la salud .....	100
10.6.1	Encuesta .....	100
10.6.2	Hábitos de consumo, modelación de la dosis de metilmercurio y estimación.....	101
	de riesgo a la salud por consumo no intencional de carne de tiburón .....	101
10.6.3	Incertidumbres.....	113
10.6.4	Opinión de expertos .....	114
10.6.5	Análisis matemático para la estimación del riesgo .....	116
11.	CONCLUSIONES.....	121
12.	RECOMENDACIONES .....	124
13.	BIBLIOGRAFÍA.....	126
	ANEXO I “ENCUESTA” .....	142
	ANEXO II “CONSULTA DE EXPERTOS” .....	145
	ANEXO III “INFORMACIÓN ADICIONAL” .....	150

## Índice de Figuras

Figura 1. Tiburón volador o puntas negras <i>Carcharhinus limbatus</i> (imagen tomada de Elasmodrives, 2017) .....	30
Figura 2. Tiburón toro <i>Carcharhinus leucas</i> (imagen tomada de Elasmodrives, 2017) .....	31
Figura 3. Tiburón sedoso, <i>Carcharhinus falciformis</i> (imagen tomada de Fishtag, 2017) .....	32
Figura 4. Tiburón tigre, <i>Galeocerdo cuvier</i> (imagen tomada de STRI, 2017) .....	34
Figura 5. Tiburón mako, <i>Isurus oxyrinchus</i> (imagen tomada de Elasmodrives, 2017) .....	35
Figura 6. Esquema representativo de la región ITS2 de ADNr de tiburón. Tomado de Shijvi y colaboradores (2002) .....	39
Figura 7. Incubación de las muestras en baño de agua marca Riosh .....	48
Figura 8. Centrifuga Beckman utilizada para obtener el ADN de las .....	49
Figura 9. Extracción de residuos de etanol de las distintas .....	49
Figura 10. Equipo Nanodrop 2000 marca Thermo Scientific .....	51
Figura 11. Electroforesis de muestra de tiburón en el gel de agarosa al 1%. En el primer pozo de abajo hacia arriba en color azul se aprecia, el marcador de peso molecular, en el segundo pozo el control negativo (huachinango) y en los pozos en color verde las muestras de tiburón y pescado .....	53
Figura 12. Gel de agarosa al 1% en el equipo fotodocumentador DNR Minilumi .....	54
Figura 13. Control positivo de tiburón .....	55
Figura 14. Control negativo de osteóctios .....	55
Figura 15. Coeficiente de riesgo para hombres de diferentes etapas de la vida. Considerando tres concentraciones de metilmercurio .....	65
Figura 16. Función $R_c(t)$ .....	67
Figura 17. Región crítica de riesgo $R(D)$ .....	69
Figura 18. Curvas de nivel debidas al consumo involuntario de tiburones para varones .....	70
Figura 19. Campo de vector de riesgo $\nabla rR(t; c)$ para el consumo no intencional de tiburones para hombres .....	71
Figura 20. Superficie de riesgo para los hombres debido a la exposición involuntaria a MeHg .....	72
Figura 21. Curvatura de la superficie de riesgo para varones .....	75

Figura 22. Muestra de carne para hacer ceviche comprada en la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México .....	82
Figura 23. A Producto de la PCR de la muestra 1 a 6 de carne para hacer ceviche y figura .....	83
Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de los productos .....	84
Figura 25. Proporción de los resultados de identificación genética para el caso.....	84
Figura 26. Muestras de filete económico vendido como diversos tipos de pescado la foto A. muestra el filete de robalo; B. filete de blanco del Nilo; C. filete de bagre. Al estar rebanado el producto, es difícil diferenciar de carne de tiburón .....	85
Figura 27. Amplificación de productos de la PCR de la muestra 1 a 6 de filete económico .....	86
Figura 28. Producto de la PCR de la muestra 7 a 10 de filete económico .....	87
Figura 29. Electroforesis de ADN de muestras de filete económico (muestras 11 a 16).....	88
Figura 30. Identificación genética de muestras de filete económico.....	89
Figura 31. Muestra de filete ahumado de Marlín .....	89
Figura 32. Electroforesis de ADN de muestras de filete ahumado .....	90
Figura 33. Muestra de filete para capear comprada en la Central de Abasto de.....	91
Figura 34. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de muestras de carne de pescado para capear .....	91
Figura 35. Muestra de carne para hacer caldo de pescado (pechuga de pescado); figura B. (restos de un pescado). .....	92
Figura 36. Electroforesis en gel de agarosa al 1%. Muestras de carne para caldo de pescado.....	93
Figura 37. Resultados de la PCR en porcentaje de los resultados obtenidos de las muestras de carne para para caldo de pescado .....	93
Figura 38. Muestra de carne para hacer quesadillas de pescado, como se aprecia el tejido de diversos pescados .....	94
Figura 39. Electroforesis de ADN de carne para hacer quesadillas de pescado .....	95
Figura 40. Resultados de la PCR en porcentaje de los resultados obtenidos de las muestras de carne para quesadillas de pescado .....	96
Figura 41. Hábitos de consumo de la población adulta muestreada .....	102

Figura 42. Hábitos de consumo para la población sensible muestreada.....	102
Figura 43. Consumo máximo permitido (número veces/mes) para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 0.27 mg/kg .....	106
Figura 44. Consumo máximo permitido para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 3.33 mg/kg .....	107
Figura 45. Consumo máximo permitido (porciones/mes) para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 3.33 mg/kg .....	107
Figura 46. Coeficiente de peligrosidad para varones .....	111
Figura 47. Coeficiente de peligrosidad de mujeres.....	112
Figura 48. Curvas de riesgo por consumo no intencional de tiburón en hombres de la muestra analizada. (I.) Superficie de riesgo, (II.) Campo Vectorial de Riesgo, (III.) Región crítica del riesgo, (IV.) Líneas de contorno o curvas de nivel de riesgo .....	117
Figura 49. Curvatura de riesgo varones .....	118
Figura 50. Curvas de riesgo por consumo no intencional de tiburón en mujeres de la población analizada. (I.) Superficie de riesgo, (II.) Campo Vectorial de Riesgo, (III.) Región crítica del riesgo, (IV.) Líneas de contorno o curvas de nivel de riesgo. ....	119
Figura 51. Curvatura del riesgo para mujeres .....	120

## Índice de tablas

Tabla 1. Especies de tiburones y tamaño de los amplicones esperados para productos generados con el uso de los oligonucleótidos universales para condriictios.....	52
Tabla 2. Programa de ciclos de la PCR para amplificar la región ITS2 .....	53
Tabla 3. Muestreo de productos pesqueros obtenidos de la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México .....	76
Tabla 4. Resultados de calidad (tasas de absorción) y concentración (ng/μl) de ADN de tiburones.....	78
Tabla 5. Lecturas obtenidas para calidad tasas de A260/280 y A260/230 y concentración de ADN en muestras de pescado .....	78
Tabla 6. Resultados de las encuestas aplicadas a jefes de familia de diversas delegaciones y municipios en la Ciudad de México y Estado de México .....	100
Tabla 7. Promedios de los parámetros usados para el cálculo de riesgo por consumo no intencional de tiburón, de la muestra analizada de la Ciudad de México y el Área Metropolitana.....	103
Tabla 8. Dosis diaria promedio de metilmercurio y dosis de referencia para diferentes grupos poblacionales.....	105
Tabla 9. Consumo de tiburón máximo permitido (porciones/semana) para diferentes países y recomendaciones (tomado de Stan, 2013) .....	108
Tabla 10. Riesgo a la salud por consumo no intencional de carne de tiburón.....	110

## 1. RESUMEN

El uso indiscriminado de carbón para la generación de energía es la principal fuente de emisiones de mercurio (Hg) en México, posteriormente este se deposita en los mares y a través de procesos microbianos se transforma en metilmercurio (MeHg), por lo que ingresa a los diversos productos pesqueros. La ingesta de pescado con elevadas concentraciones de MeHg puede ocasionar daños graves al sistema nervioso central como los observados en Minamata, Japón. Debido a que la concentración de metilmercurio en pescado aumenta con la talla, los depredadores tope, como los tiburones, alcanzan concentraciones de metilmercurio (MeHg) por encima de 1 mg/Kg. En el presente trabajo se analizó la sustitución de carne de pescado por carne de tiburón en el mercado de Pescado y Marisco de la Central Abasto en la Ciudad de México. Esto ocurre debido a que no existe una característica morfológica que ayude a diferenciar la carne de los tiburones de otros productos, ya que los primeros se ofertan de manera procesada (sin aletas, sin cabeza, en filetes, en carne ahumada o molida). Para la identificación de los productos pesqueros se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR, Polymerase Chain Reaction*) con oligonucleótidos universales para tiburones (que se hibridan en la región nuclear). Se analizaron productos ofertados como carne de pescado para hacer ceviche, filete económico (robalo, blanco del Nilo, Bagre), filete ahumado (marlín), filete para capear, carne para caldo de pescado y carne para hacer quesadillas de pescado. Se analizaron 53 muestras de productos pesqueros, de las cuales 60.37% fue positivo para la sustitución de pescado por alguna especie de tiburón. Se finalizó con una estimación de riesgo a la salud, en la que se calculó el coeficiente de peligrosidad (CP), considerando un  $CP > 1$  como riesgo para diferentes grupos de edad utilizando tres concentraciones de metilmercurio (0.27, 2.43, 3.33 mg/Kg de MeHg) y la exposición se calculó con los datos de las encuestas. Se analizó cómo cambia el riesgo con la etapa de la vida y la concentración de MeHg a través de métodos numéricos y analíticos. La superficie de riesgo asociada tiene una curvatura gaussiana no positiva y los puntos donde dicha curvatura es cero determinan las edades críticas de riesgo: la más alta fue en bebés (5.37 años) seguidos por mujeres adultas en edad reproductiva (32.64 años) y adultos mayores (74.4 años). Los resultados mostraron un riesgo generalizado; sin embargo, la respuesta a este de este

problema es comprar pescado entero en lugar de carne procesada, para evitar de esta manera la introducción de carne de tiburón en el producto que se consumirá.

## **2. ABSTRACT**

The indiscriminate use of coal for the generation of energy is the main source of mercury (Hg) emissions in Mexico, later it is deposited in the seas and through microbial processes it is transformed into methylmercury (MeHg), later it enters the various fishery products. Ingestion of fish with high concentrations of MeHg can cause serious damage to the central nervous system as observed in Minamata, Japan. Because the concentration of methylmercury in fish increases with size, top predators, such as sharks, reach concentrations of methylmercury (MeHg) above 1 mg/kg. In the present work, the substitution of fish meat for shark meat in the Fish and Shellfish market of the Central Abasto in Mexico City was analyzed. This occurs because there is no morphological feature that helps to differentiate shark meat from other products, since the former are offered in a processed manner (without fins, without heads, in fillets, in smoked or ground meat). For the identification of fishery products, the polymerase chain reaction (PCR) was used with universal oligonucleotides for sharks (which hybridize in the nuclear region). We analyzed products offered as fish meat to make ceviche, inexpensive steak (sea bass, white of the Nile, catfish), smoked fillet (marlin), battered fillet, meat for fish stock and meat to make fish quesadillas. We analyzed 53 samples of fishery products, of which 60.37% were positive for the substitution of fish by some shark species. To finalize, the health risk due to unintentional exposure to MeHg was estimated, in which the hazard coefficient (PC) was calculated, considering a  $CP > 1$  as risk for different age groups using three concentrations of methylmercury (0.27, 2.43, 3.33 mg / Kg) and, MeHg exposure was calculated with the survey data. We analyzed how the risk changes with the stage of life and the concentration of MeHg through numerical and analytical methods. The associated risk surface has a non-positive Gaussian curvature and the points where the curvature is zero determine the critical ages of risk: the highest was for babies (5.37 years) followed by adult women of

reproductive age (32.64 years) and older adults (74.4 years). The results showed a generalized health risk; however, the answer to this problem can be solved by buying whole fish instead of processed meat, to avoid in this way the introduction of shark meat in the product to be consumed.

### 3. INTRODUCCIÓN

En México existen fuentes puntuales de emisión de mercurio (Hg) y compuestos de mercurio a la atmósfera, estos se clasifican de las siguientes maneras: centrales eléctricas de carbón, calderas industriales de carbón, los procesos de fundición y calcinación utilizados en la producción de metales no ferrosos, las plantas de incineración de desechos y las fábricas de cemento clinker (DOF, 2017). Este metal se clasifica como una sustancia tóxica persistente y bioacumulable. Entre las características más relevantes se encuentra su capacidad para transportarse grandes distancias en la atmósfera, gracias a su volatilidad y larga vida (de seis meses a dos años) (Díaz, 2011). En el caso de los mares, el mercurio se deposita en los sedimentos e ingresa a la cadena trófica mediante un proceso microbiano que lo transforma en su forma orgánica metilmercurio (MeHg); se bioacumula y biomagnifica hasta llegar a los depredadores tope, como el tiburón y el ser humano. En este último, el ingreso de este contaminante al organismo se debe, entre otras fuentes, al consumo de alimentos elaborados con tiburón (Oceana, 2013).

Como se mencionó con anterioridad, el metilmercurio es una sustancia que se bioacumula en el tejido nervioso humano y que provoca deterioro del sistema nervioso central, daño pulmonar, nefropatías y efectos teratogénicos (Perez y Mesa, 2012). Algunas especies de peces, y en especial los tiburones, debido a su tamaño pueden presentar altas concentraciones de metilmercurio, por lo que su consumo en gran cantidad y de manera frecuente puede ser peligroso para los humanos.

Otro factor que agrava este problema de exposición a metilmercurio es la dificultad de identificar qué especies de peces se están consumiendo, ya que algunos tienen un sabor y textura similares. También se complica la identificación cuando el pescado se entrega sin sus partes corporales características (e. g., piel, escamas, cabeza y aletas), especialmente cuando el pescado es procesado en filetes o rebanadas. En otras investigaciones también se ha detectado la sustitución o el etiquetado erróneo de productos, lo que lo hace peligroso debido a la presencia de

sustancias tóxicas o alergénicas (Holmes *et al.*, 2009; Ward *et al.*, 2008; Wong y Hanner 2008).

En México se ha reportado la existencia de 104 especies de tiburones, de las cuales 55 habitan en el Pacífico y el resto están distribuidas en el Golfo de México y el Caribe (Espinosa-Pérez *et al.*, 2004). Estos organismos son muy importantes en la pesquería nacional por su alta demanda para el consumo humano, costo y sabor de sus productos, su importancia económica se basa en el aprovechamiento de su carne y sus aletas. Uno de los principales sitios de distribución de estos productos en la Ciudad de México (CDMEX) es la Central de Abasto de Pescados y Mariscos, localizada al oriente de ésta. La carne se consume fresca, molida, secasalada (como la del bacalao), ahumada, en trozos o en forma de filetes. Además, algunos de sus productos, como las aletas ya secas, se exportan a Asia donde se venden para la elaboración de sopa (Castellanos *et al.*, 2013).

De acuerdo con la SAGARPA (2016), se pescan 23 000 toneladas de tiburón al año. Alrededor de 90% de esa producción se destina al consumo nacional, proporcionando carne de bajo costo a amplios sectores de la sociedad, por lo cual el tiburón ha adquirido gran importancia alimentaria. Por ello el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) llevó a cabo el monitoreo de algunas especies de peces comerciales entre los años 2009 y 2012, cuyos resultados mostraron altas concentraciones de metilmercurio en la carne de los tiburones (concentración máxima 3.33 mg/kg y concentración mínima de 0.27). Cabe mencionar que también en la realización del proyecto antes mencionado, se logró constatar con observaciones de campo la venta de “pescado para ceviche” que era en realidad carne de tiburón (Ramírez- Romero *et al.*, 2012).

En la actualidad, algunas de las especies de tiburones más comercializadas de las costas de México que son ofertadas en la Central de Abasto de la Ciudad de México de Pescado y Marisco incluyen al tiburón volador (*Carcharhinus limbatus*), toro (*Carcharhinus leucas*), sedoso (*Carcharhinus falciformis*), tigre (*Galochoero cuvie*) y mako (*Isurus oxyrinchus*) (INAPESCA, 2013).

Por lo anterior, la importancia de la presente investigación radica en identificar el reemplazo en la venta de productos de pescado por carne de tiburón. Para lograr el objetivo de determinar cuáles son las especies sustituidas, se llevó a cabo un análisis genético en investigación forense en especies de peces cartilaginosos a partir del análisis de secuencias homologas que se han utilizado con éxito para su identificación con precisión. Se determinó este tipo de análisis dado que la identificación morfológica es difícil (Shivji *et al.*, 1996). Pank *et al.* (2001) y Shivji *et al.* (2002) utilizaron un método basado en la amplificación via la reacción en cadena de la enzima polimerasa (*PCR, Polymerase Chain Reaction*) de la región ITS2, locus que ha sido usado como marcador genético para identificar especies de tiburones, el método consiste en anclar en la posición anterior y posterior de la cadena de ADN de interés, los oligonucleótidos Forward y Reverse respectivamente, que corresponden al gen 5.8S y al gen 28S, de esta forma se amplifica de manera exponencial la secuencia de la región ITS2 para cada especie. Por lo que en la presente investigación se sigue el método arriba descrito, para cumplir con el citado objetivo.

Se evaluó la sustitución de carne de pescado por carne de tiburón con el método de genética molecular basado en la reacción en cadena de la enzima polimerasa (*PCR, Polymerase Chain Reaction*), usando oligonucleótidos universales para condriictios (peces cartilaginosos clase a la que pertenecen los tiburones), mismos que se utilizaron en el trabajo de Pank y colaboradores (2001) para identificar especies de tiburones comerciales (Jiménez, 2015).

En los últimos años se ha magnificado el riesgo alimentario por consumo de pescado debido a su contenido de metilmercurio. En 2010, un Grupo de expertos de la *FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization)* llevaron a cabo una reunión donde analizaron los riesgos y los beneficios asociados al consumo de pescado; en las conclusiones se hace especial énfasis sobre la necesidad de destacar la importancia del pescado en la dieta, por el aporte de nutrientes, así como de mejorar las bases de datos existentes de los niveles de contaminantes (especialmente metilmercurio) en las distintas especies presentes en el mercado (COPESCA, 2014).

Dentro de este trabajo de investigación se realizó una estimación de riesgo por consumo no intencional de tiburón, con el fin de contar con una aproximación en la inocuidad en los productos que se compran; así como en la confiabilidad de estos, es decir, hasta qué punto el consumidor puede estar seguro de que lo que le ofrecen es realmente pescado. También se llevó a cabo un análisis matemático de métodos numéricos y analíticos para dar una indicación cuantitativa de la calidad de esta estimación.

#### **4. ANTECEDENTES**

##### *Efectos del metilmercurio por consumo en humanos.*

La enfermedad de Minamata es un síndrome neurológico grave y permanente. El primer caso en donde se presentó esta enfermedad fue en Japón, en la Bahía de Minamata. La causa de esta enfermedad fue el consumo de pescados y mariscos contaminados con metilmercurio que procedían de una compañía química llamada Chisso, la cual vertió 27 toneladas de compuestos con mercurio en dicha bahía entre los años 1932 y 1968. Este elemento, una vez en el sedimento, se transformó en su forma orgánica y de esta manera se hizo biodisponible para los organismos acuáticos. Los síntomas de este síndrome incluyen alteraciones graves del equilibrio, trastornos de la sensibilidad en las manos y los pies, deterioro de la vista y la audición, debilidad generalizada y, en casos extremos, parálisis y muerte. En la década de 1960 se registraron 111 muertos y 400 casos con problemas neurológicos graves. Además, se registraron madres que no presentaron síntomas, pero concibieron niños muy enfermos (Takeuchi, 1962).

La principal vía de ingreso del metilmercurio a los peces y mariscos es a través de la ingesta de alimentos. La exposición en humanos varía de acuerdo con el país y la frecuencia de consumo. En 2015 la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, European Food Safety Authority) limitó la ingesta semanal a 1.6  $\mu\text{g}$  por kilogramo de peso corporal mientras que, en Estados Unidos el nivel de exposición

tolerable es de 0.7 µg/Kg/semana para la población general y menos de 0.27 µg/Kg/semana para las personas sensibles (mujeres embarazadas, ancianos y niños).

La primera caracterización a nivel internacional de riesgo de metilmercurio la realizó FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (JECFA), en 1972, donde se utilizó la ingesta semanal tolerable provisional como referencia a la hora de caracterizar el riesgo de algunas sustancias químicas, entre ellas el mercurio. Estos niveles se han actualizado progresivamente teniendo en cuenta que, por razones fisiológicas, determinadas especies concentran el mercurio en sus tejidos con más facilidad que otras; el contenido máximo permitido se estableció en 0.5 mg/Kg de peso fresco en productos de pesca (ECCO, 2008).

En junio de 2003 la European Food Safety Authority (EFSA) estableció el límite máximo de consumo de pescado contaminado con mercurio en 1.6 µg de metilmercurio por kilo de peso corporal (EC, 2008). En 2012, nuevos estudios indicaron que los efectos beneficiosos de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga presentes en el pescado podrían haber conducido a una subestimación de los efectos adversos potenciales del metilmercurio del pescado y se rebajó la ingesta semanal tolerable provisional a 1.3 µg de metilmercurio por kilo de peso corporal, que corresponden a una concentración de mercurio en sangre cercana a 10.8 µg/L (EFSA, 2015).

La U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) adoptó un valor estándar aceptable para el consumo de pescado contaminado con metilmercurio, dicho valor fue 0.5 mg/Kg, el cual corresponde a estudios realizados en humanos, donde el límite establecido de metilmercurio en pelo (<1µg/g) y en sangre (5.8 µg/L) (se estima que el metilmercurio es alrededor de 90% del mercurio total, lo que correspondería a 6.4 µg/L de mercurio total en sangre) (USEPA, 2001).

La EFSA realizó, a petición de la Comisión Europea, una evaluación del riesgo alimentario debido a la presencia de mercurio (o metilmercurio) en alimentos, la cual fue publicada en diciembre de 2012 (EFSA, 2013). Tras un profundo análisis de diversas fuentes científicas en los campos médico, toxicológico, bromatológico y

alimenticio, entre otros, se concluyó que se debería reducir este límite semanal tolerable (TWL, Tolerance Weekly Limit hasta 1.3 µg/Kg de peso corporal.

En México, se tiene la Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, la cual establece las especificaciones sanitarias para los productos de pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados, donde se establece que, el máximo valor permisible de contenido de metilmercurio en la carne de pescado es de 0.5 mg/kg) (DOF, 2012).

El uso de marcadores moleculares para la identificación de productos alimentarios como pescado mal etiquetado. Los primeros trabajos sustentados en biología molecular para la identificación de especies de tiburón consistieron en la detección del polimorfismo de proteínas (Bunch *et al.*, 1976; McClymont *et al.*, 1982 y Mardini, 1984). En general, estas técnicas comprendían la identificación de animales a través de la obtención de tejidos, sangre o proteínas fáciles de extraer, con el fin de establecer un método que fuese sensitivo, replicable y eficiente para identificar tejidos de especies que fueran muy cercanas entre sí. Posteriormente y con el advenimiento de la biología molecular, después se innovaron técnicas para la identificación de especies por medio del análisis en las secuencias de genes homólogos (Thommasen *et al.*, 1989; Cronin *et al.*, 1991; Palumbi y Baker 1994).

Calderón (2014) en su trabajo titulado “¿Comemos tiburón?: Identificación molecular de carne de tiburón de venta en mercados y pescaderías del Distrito Metropolitano de Quito”, establece un método para identificar el porcentaje de carne de tiburón que se vende en 11 mercados y 3 pescaderías del Distrito Metropolitano de Quito, se analizaron 154 muestras de tejido muscular vendidas bajo nombres como: corvina, picudo, atún, cherna, tollo y tinto. La identificación molecular se llevó a cabo mediante el método (PCR) con múltiples oligonucleótidos específicos basados en regiones ITS2 de ADN ribosomal. Los resultados de la identificación molecular mostraron que el 26,67% de las muestras de pescado colectadas pertenecieron a distintas especies de tiburón. Las especies identificadas fueron *Prionace glauca* (60%), *Carcharhinus falciformis* (7,5%), y *Alopias pelagicus* (32,5%). Con esto se confirma que

la venta de carne de tiburón bajo otro nombre se está llevando a cabo en el Distrito Metropolitano de Quito.

Otra investigación al respecto es la realizada por Jiménez (2015) titulada “Genética forense aplicada a la identificación de tiburones en productos marinos mal etiquetados en mercados locales de la Península de Baja California”. En este trabajo se indica que, de los productos de la pesca del tiburón, lo que más se vende son sus aletas, su carne y sus mandíbulas. El estudio se enfocó en la península de Baja California, en un mercado de Ensenada y cuatro mercados de La Paz. Se obtuvieron 79 porciones de carne de distintos organismos desde 2012 hasta 2015. Se amplificó la región ITS2 con oligonucleótidos universales para muestras que se vendieron como “cazón”, “marlín” o “pez espada”. El tiburón que más se vendió en Ensenada bajo el nombre de otra especie fue *I. Oxyrinchus*. En La Paz el tiburón más vendido como “cazón” fue *S. Zygaena*. Este trabajo demuestra la sustitución de productos de mayor calidad por especies de tiburón.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1 Mercurio en el ambiente

El mercurio no es un metal esencial para la vida, sin embargo, está presente de manera natural en el ambiente. Algunos ejemplos de esto son las emisiones producidas por el vulcanismo, desgasificación de la corteza terrestre, erosión y dilución de los minerales de las rocas por la penetración del agua durante lapsos prolongados. El hombre se ha ido adaptando a la exposición de estas pequeñas concentraciones naturales (Figuroa, 1982).

Entre las principales fuentes antropogénicas de generación de mercurio se encuentra la combustión de productos derivados de petróleo y de carbón, las centrales eléctricas (responsables de 85% de las emisiones por el uso de combustibles fósiles) y la incineración de residuos (García *et al.*, 2005). Sin embargo, también contribuyen otras industrias, como la minería de cinabrio, las plantas de cloro-sosa, las manufactureras, las compañías farmacéuticas y las fábricas de pinturas y de plaguicidas. Por otro lado, otras fuentes menos representativas, pero igual de importantes son el uso odontológico, los termómetros, las lámparas, el equipo obsoleto desechado y las baterías (PNRQ, 2008).

En el ambiente, 91% del mercurio atmosférico es de origen antropogénico y se deposita en los océanos por medio de lluvia, nieve, neblina y partículas (PNRQ, 2008). El 9% restante que se encuentra en la tierra proviene de ríos que ya se han contaminado con mercurio con las descargas de algunas industrias. En algunos casos este metal ya se ha transformado en su forma orgánica (metilmercurio).

Una vez en el mar, la metilación de las partículas que se encuentran suspendidas puede ocurrir por dos vías. En la anaerobia se forma dimetilmercurio, una molécula muy volátil e insoluble en el agua, que pasa del medio acuático a la atmósfera y después regresa al medio terrestre a través de la lluvia (si ésta es ácida, el elemento se convierte en monometilmercurio y así se completa el ciclo) (Figuroa, 1982). Cuando el mercurio

se transforma por medio de microorganismos (a través de metiltransferasa) en metilmercurio, éste ingresa a través de las membranas y se incorpora en la cadena trófica acuática, bioacumulándose hasta llegar a concentraciones mayores en los organismos de mayor tamaño y volumen, que son los que al final consume el hombre (como el atún, el pez espada y el tiburón) (Oceana, 2013).

La inclusión de México como signatario en el Convenio de Minamata, un tratado mundial que protege la salud humana y el ambiente de efectos adversos del mercurio (ONU, Convenio de Minamata sobre el mercurio, 2013). El convenio se centra en tres puntos importantes (ONU, 2017).:

- En el uso de mercurio en objetos de uso cotidiano
- En la forma en la que dicho metal se libera en la atmósfera, el suelo y el agua,
- En el control de las emisiones en el ciclo de vida del mercurio

Este convenio además abarca aspectos como la prohibición de nuevas minas de mercurio; la reducción del uso de dicho metal en varios productos y procesos; la aplicación de medidas de control de las emisiones a la atmósfera, al suelo y el agua; la regulación de la minería artesanal a pequeña escala; el almacenamiento provisional y su eliminación una vez que se convierte en residuo; las áreas contaminadas por mercurio y temas sanitarios (ONU, 2013).

## 5.2 Tiburones comerciales

Los tiburones habitan todos los mares del mundo y se clasifican como elasmobranquios. Estos se pueden encontrar desde la zona superficial hasta las áreas abismales y miden de 20 cm (por ejemplo, especies del género *Squaliolus*) a 20 m (como el tiburón ballena [*Rhincodon typus* Smith, 1828]). Al ser predadores, su alimentación se basa en organismos más pequeños, como peces, crustáceos y moluscos, entre otros (Del Moral y Pérez, 2013).

Estos elasmobranquios presentan dentículos dérmicos en todo su cuerpo, lo que les confiere protección y les proporciona una superficie con un mínimo de arrastre superficial, maximizando así la eficiencia natatoria (Ramírez-Amaro, *et al.*, 2013). Su característica principal es que su esqueleto está hecho de cartílago, un tejido ligero y flexible. Carecen de vejiga natatoria, pero tienen un hígado muy graso que les permite regular su flotabilidad (Bessonart y Rodríguez, 2007).

Los elasmobranquios se dividen en tiburones, rayas y quimeras. Este estudio se enfoca sólo en los primeros. Esta clase de vertebrados (tiburones) es la más diversa que hay en el planeta y también se conoce como Chondrichthyes o peces codrictios (Del Moral y Pérez, 2013). Los tiburones ocupan los niveles tróficos superiores de muchas comunidades marinas y por tanto juegan un papel ecológico importante, tienen una baja fecundidad, viven muchos años y su crecimiento es lento, por lo que son vulnerables a la sobreexplotación. (Walker 1998). Es fundamental señalar que los tiburones en los ecosistemas marinos se alimentan de animales enfermos o heridos y así mantienen el océano limpio y libre de enfermedades a los ecosistemas de marinos y fortalecen las poblaciones de sus presas (Aguilar *et al.* 2005).

Los tiburones son un recurso muy demandado, debido al aprovechamiento de casi todas sus partes a excepción de la cabeza (SAGARPA, 2013). Sin embargo, cuando el organismo es grande, se le extrae la mandíbula con dientes para venderla a los artesanos. La piel se utiliza para elaborar cinturones, bolsos, carteras, calzado (Fuentes, 2006) y también como material abrasivo o como lija (Bonfil *et al.*, 1988). Ciertas partes del organismo también se usan con fines medicinales; el plasma funciona como anticoagulante y las vértebras se emplean en el tratamiento de cáncer y artritis (Zárate, 2002). La carne de tiburón tiene un sabor agradable al paladar. Por lo general se consume a fin de año en un guisado llamado “Pescado a la vizcaína”, en sustitución del bacalao (*Gadus morhua*). Las vísceras se emplean para elaborar harina de pescado, fertilizantes o suplementos alimenticios para animales (Castellanos *et al.*, 2013).

Por lo anterior, se analizaron las especies de tiburones más comercializadas en las costas de México (SAGARPA, 2016), cuya importancia radica en su abundancia en las costas del país. En la siguiente sección, se describen las características principales de las especies de elasmobranquios analizadas en este estudio.

### 5.3 Tiburones

#### 5.3.1 *Carcharhinus limbatus* Müller y Henle, 1839

Su nombre común es tiburón puntas negras o volador (figura 1) y se distribuye desde Baja California hasta Chiapas. La falta de una cresta interdorsal y la presencia de manchas negras en las puntas de las aletas y de dientes erectos y simétricos con bordes aserrados distinguen a estos animales de otros tiburones grises (Cortés, 2005). Su reproducción es bienal con gestación de 10 a 12 meses y tiene de cuatro a seis crías por camada. Su talla máxima es de 2.4 a 2.52 m y su alimentación se basa en peces, rayas, cefalópodos y crustáceos. En México se comercializa su carne en presentación fresca o seca-salada y la aleta se exporta al mercado asiático a través de Estados Unidos para la elaboración de sopa (Castellanos *et al.*, 2013).



Figura 1. Tiburón volador o puntas negras *Carcharhinus limbatus* (imagen tomada de Elasmodrive, 2017)

### 5.3.2 *Carcharhinus leucas* Müller y Henle, 1839

Conocido como tiburón toro o tiburón chato (figura 2), se encuentra en áreas tropicales y templadas, su talla máxima es de 3.4 m. Tiene un cuerpo grande y robusto, los surcos labiales cortos, no presentan espiráculos y sus orificios nasales muestran un pliegue anterior bajo, ancho y triangular. Sus dientes superiores son piramidales y aserrados con cúspides anchas, los dientes de la mandíbula inferior son robustos y sus cúspides verticales se encuentran detrás del punto de inserción de las aletas pectorales. Son de color grisáceo en el dorso y blancos en la parte ventral (Castellanos *et al.*, 2013). La reproducción es por viviparidad placentaria y tiene camadas de entre una y 13 crías, mismas que nacen midiendo de 0.56 a 0.81 m. La gestación dura de 10 a 11 meses y su dieta incluye tortugas marinas, aves, delfines, crustáceos, peces teleósteos y elasmobranquios. En el Golfo de México se pesca para comercializar las aletas, la piel, el aceite de su hígado y su carne (Cortés, 2005).



Figura 2. Tiburón toro *Carcharhinus leucas* (imagen tomada de Elasmodrives, 2017)

### 5.3.3 *Carcharhinus falciformis* Müller y Henle, 1839

El tiburón sedoso, también conocido como aleta de cartón, piloto o tiburón prieto (figura 3), se distribuye en aguas tropicales y subtropicales; nada en profundidades de 500 m y en aguas menos profundas hasta de 18 m en las costas. Su cuerpo es alargado y esbelto, sus dientes superiores son de forma aserrada, con cúspides oblicuas, sus surcos labiales son cortos, y no presentan espiráculo. Es de color gris oscuro casi negro en la parte dorsal, tiene flancos de color gris-marrón a casi blanco y la parte ventral es blanca (Castellanos *et al.*, 2013). Su periodo de gestación es de 12 meses y tiene alrededor de seis a 12 crías cada uno o dos años. Se distribuye en todo el Golfo de México y el Caribe. Alcanza a medir hasta 3.16 m. Se alimenta de bagres de mar, caballas, atún aleta amarilla, pez erizo y otras especies de peces y cefalópodos (Cortés, 2005).

Los principales productos que se comercializan de esta especie son las aletas, las cuales son exportadas, y su carne, que se vende fresca o seca y salada. La mandíbulas y los dientes se venden como artesanías (Castellanos *et al.* 2013).



Figura 3. Tiburón sedoso, *Carcharhinus falciformis* (imagen tomada de Fishtag, 2017)

#### 5.3.4 *Galeocerdo cuvier* Péron y Lesueur, 1822

El tiburón tigre o tintorera (figura 4), es uno de los más grandes; alcanza una longitud máxima de 7.5 m, aunque por lo general mide entre tres y 4.2 m. El color de fondo de su piel es verde azulado o gris y presenta bandas oscuras en los costados similares a las franjas de los tigres terrestres, pero se desvanecen a medida que el tiburón envejece. Su cuerpo es fusiforme tiene un hocico estrecho y nariz roma, la cola tiene el lóbulo superior más grande que el inferior y las mandíbulas presentan dientes aserrados. Se encuentra en aguas tropicales y subtropicales de todo el mundo. En México se distribuye desde Baja California hasta Chiapas (Cortés, 2005). Habita pastos marinos, pero también vive cerca de los atolones e incluso de los estuarios. La alimentación habitual está compuesta por peces, moluscos, crustáceos, tortugas, aves marinas y mamíferos como el dugongo. También consume tiburones pequeños y restos de las ballenas muertas, o ataca a animales heridos (Shimbark, 2016).

Presenta viviparidad aplacentaria, su periodo de gestación es de poco más de un año, tiene 10 crías por camada, mismas que nacen en primavera. La importancia económica de esta especie se basa en la comercialización de productos como la carne y las aletas; en México éstas últimas se destinan a la cocina oriental para preparar sopa de aletas o son exportadas. Del hígado se extrae el aceite de manera artesanal en algunas regiones como Puerto Chiapas, en Chiapas y Zihuatanejo, en Guerrero. Las mandíbulas y las vértebras se venden como artesanías, siendo más cotizados los dientes (Castellanos *et al.*, 2013).



Figura 4. Tiburón tigre, *Galeocerdo cuvier* (imagen tomada de STRI, 2017)

#### 5.3.5 *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810

El tiburón Mako o Marrajo (figura 5), llega a medir de 3.2 a 3.8 metros de longitud y su peso varía entre 60 y 135 kilogramos, aunque la hembra llega a alcanzar 150 kilos. Se distribuye en todas las aguas templadas del mundo, pero se concentra más en los océanos Pacífico y Atlántico. El color de su dorso es grisazulado, o azul metálico brillante y la parte ventral blanca, con una mancha negra en la base de la aleta pectoral. Se alimenta de varias especies de peces óseos (caballas, atunes, peces espada, etc.), delfines, tortugas, aves marinas y tiburones pequeños. Todos los días consume tres por ciento de su peso corporal y necesita de 1.5 a dos días para digerir toda su comida (Castellanos *et al.*, 2013). Las hembras alcanzan la madurez sexual cuando llegan a medir tres metros de longitud, mientras que los machos se aparean al lograr medir dos metros de largo. Las crías se desarrollan dentro del cuerpo (son ovovivíparas). El período de gestación dura entre 15 y 18 meses, después de los cuales la hembra da a luz una camada de cuatro a 25 crías vivas (Cortés, 2005).

Los productos que se comercializan de esta especie son las aletas y la carne fresca o salada. Las mandíbulas, las vértebras y los dientes se venden como artesanías; la cabeza disecada tiene mercado para el turismo en Ensenada, Baja California (Cailliet *et al.*, 2009).



Figura 5. Tiburón mako, *Isurus oxyrinchus* (imagen tomada de Elasmodrive, 2017)

#### 5.4 Identificación de especies mediante la PCR de punto final

Existen diversas técnicas de biología molecular disponibles para detectar variabilidad o similitud entre secuencias de ADN y obtener un número ilimitado de marcadores moleculares para cubrir la totalidad del genoma de un organismo (Martínez y Rincón, 2004). En el presente estudio se utilizó el método basado en la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

El método *in vitro* permite obtener millones de copias de un fragmento de ADN de una sola molécula. Es una de las técnicas más importantes y revolucionarias en biología molecular (Cornejo *et al.*, 2014). Está basada en la replicación celular en la que actúan varias proteínas para sintetizar dos hebras de ADN a partir de otra que funciona como molde. Es importante señalar que la enzima con mayor importancia en la replicación es la ADN polimerasa, debido a que es la encargada de incorporar nucleótidos durante la síntesis de nuevas cadenas de ADN (Bohinski, 1991).

La PCR tiene diferentes aplicaciones en función de lo que se tenga que investigar. Para el presente estudio se utilizó la PCR de punto final, donde la reacción

enzimática ocurre *in vitro*, y amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos, en los que la secuencia molde es copiada fielmente. La PCR se realiza en tres etapas principales; desnaturalización, hibridación y extensión. (Tamay, 2013). Después se verifican los resultados en un gel de agarosa, donde se observa la migración electroforética de los productos de la PCR.

La ADN polimerasa es una enzima que interviene en la replicación de las cromátidas. Es capaz de adicionar los cuatro dNTP (*desoxiribonucleotidos trifosfatados*) a partir de la región 3' de un cebador y copiar una secuencia molde. Sintetiza el ADN en la dirección 5' a 3'. Ninguna polimerasa de ADN conocida es capaz de comenzar una nueva cadena sin un cebador, sólo puede añadir un nucleótido en un grupo 3'.OH que ya existe. Por esta razón la enzima requiere un oligonucleótido que presente un grupo 3'.OH al cual pueda añadir el primer nucleótido. Las polimerasas de ADN requieren magnesio como cofactor para ser funcionales y una solución amortiguadora que mantenga el pH apropiado para que se lleve a cabo la síntesis (Espinosa, 2007).

Las principales ventajas de la PCR son la rapidez debido a que permite obtener millones de copias de ADN en pocas horas, la sensibilidad y la capacidad de amplificar secuencias a partir de cantidades mínimas de ADN y de secuencias específicas de ácidos nucleicos muy degradados o que están incluidos en medios que hacen problemática su purificación convencional.

### 5.5 Identificación genética de tiburones

Los primeros métodos desarrollados se basaron en marcadores moleculares RFLP (polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción). Posteriormente, Pank *et al.*, (2001) y Shivji *et al.*, (2002) desarrollaron un método eficaz para la identificación de especies de tiburón basado en la amplificación de regiones ITS2 en una sola reacción para producir amplicones de diagnóstico capaces de distinguir entre especies de lámnidos [familia elasmobranquios del orden Lamniformes que incluye cinco especies de tiburones: tiburón blanco (*Carcharodon carcharias*), marrajo (*Isurus*

*oxyrinchus*), marrajo negro (*Isurus paucus*), cailón del norte (*Lamna nasus*), cailón salmonero (*Lamna ditropis*).

Pero ¿a qué se refiere el término marcador genético? Éste se aplica a un segmento de ADN que tiene una ubicación física identificable en un cromosoma y que puede ser rastreado como un patrón hereditario. El marcador puede ser un gen o una sección de ADN que no tiene función conocida (Salgado, 2011).

Existen tres tipos de marcadores genéticos: morfológicos, bioquímicos y moleculares. En este estudio se utilizaron los marcadores moleculares, que son porciones de ADN que pueden asociarse con una característica en el organismo de interés (Vienne, 2002).

El primer trabajo realizado con la región nuclear ITS2 para la identificación de tiburones, el cual consistió en una evaluación múltiple a través de la PCR, con dos especies que son muy similares entre sí: *Carcharhinus plumbeus* y *Carcharhinus obscurus*. Se usaron 26 muestras de la primera especie y 51 de la segunda para generar los primeros oligonucleotidos especie-específicos de la región ITS2 (Pank *et al.*, 2001). Este trabajo sirvió como línea base para la elaboración de oligonucleotidos especie-específicos para tiburón blanco (Chapman *et al.*, 2003) y tiburón peregrino (Magnussen *et al.*, 2007).

Por otra parte, el trabajo de Hidalgo (2013) tuvo como objetivo estandarizar un protocolo de identificación de especies de tiburón mediante métodos moleculares. Para esto, se extrajo ADN de 102 muestras procedentes de la Reserva Marina de Galápagos (RMG) de aletas y piel secas obtenidas en el mercado de Puerto López, Ecuador. La identificación molecular se llevó a cabo mediante la PCR con múltiples oligonucleótidos especie-específicos para la región ITS2 en una sola reacción para producir amplicones de diagnóstico y diferenciar de forma simultánea las especies.

## 5.6 ITS2 (*Espaciador interno transcrito 2*)

Existen regiones codificantes en el ARN ribosomal (ARNr) llamadas exones y regiones no codificantes que deben ser eliminadas, conocidas como intrones. Una característica importante del ARNr es que se encuentra flanqueado por dos genes altamente conservados, el 18S y el 5.8S. Éste último a su vez se encuentra situado entre dos secuencias ITS (*Internal transcribed spacer*), denominadas ITS1 e ITS2.

Los genes que codifican los ARNr de las subunidades 18S y 5.8S son muy numerosos, alrededor de 10 a 50 000 por célula, y no se encuentran empaquetados en nucleosomas. De acuerdo con Karp (2011), tres de los cuatro ARNr eucariotas se sintetizan a partir de una sola unidad de transcripción, constituida por ADN ribosomal (ADNr), localizada dentro del nucléolo, la cual se transcribe mediante una serie de reacciones nucleares.

Estos espacios internos de transcripción están menos conservados que las regiones codificantes; generalmente varían lo suficiente para ser utilizados como herramienta para la discriminación de especies dentro de un género (Salgado, 2011). La región ITS2 es altamente polimórfica entre taxones a nivel de género, por lo que es poco probable que los oligonucleótidos diseñados para dicha región amplifiquen ADN de organismos estrechamente relacionados, por lo tanto, son utilizados para servir como robustos marcadores diagnóstico (Shijvi *et al.*, 1996).

En la figura 6 se representa esquemáticamente los genes nucleares ribosomales de tiburón 5.8S y 28S, así como el locus ITS2 y muestra los sitios de alineamiento y orientación de los oligonucleótidos utilizados en los ensayos de la PCR.

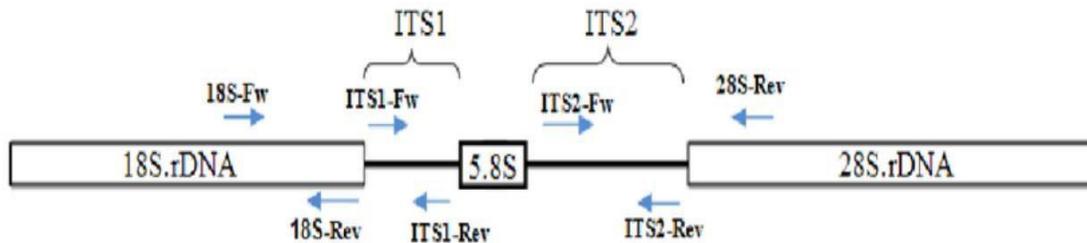


Figura 6. Esquema representativo de la región ITS2 de ADNr de tiburón. Tomado de Shijvi y colaboradores (2002)

### 5.7 Efectos tóxicos del metilmercurio en humanos

Desde la antigüedad, el mercurio se ha utilizado con fines medicinales, pues se le adjudicaban propiedades curativas e incluso útiles para la alquimia (PNRQ, 2008). Los efectos adversos de este metal se identificaron por primera vez en la Edad Media en España, donde algunos trabajadores de minas de mercurio enfermaron con gravedad y otros murieron (D'itri, 1977).

En muchos países el mercurio es un insumo medicinal para producir diuréticos, antisépticos y fungicidas, entre otros. En los años 70 se utilizaba en un compuesto diurético sintético con una concentración de 30 a 40% (Sardina, 2001) que impedía la reabsorción de sodio (PNQR, 2008). También se utiliza como preservante de vacunas, debido a que es un compuesto bacteriostático (Goldwater, 1972).

La exposición del ser humano a mercurio es cada vez mayor debido al consumo de alimentos contaminados, como el pescado, los cuales aparecen con mayor regularidad en la dieta. El principal efecto causado por el consumo de este metal se presenta en el sistema nervioso central, después de varias semanas o meses. Los primeros síntomas son parestesias en las extremidades y después se producen efectos más graves, como ataxia (dificultad en la coordinación de los movimientos del cuerpo) y disartria (dificultad para articular sonidos o palabras). En casos importantes se reducen los campos visuales y la audición (Soria y Repetto 1995).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 5% de los adultos que experimentan efectos neurológicos tiene niveles de mercurio en sangre de 200 mg/L y

se ha calculado que en mujeres embarazadas el riesgo de daño cerebral fetal aumenta cuando la concentración de mercurio en la cabellera supera los 1020 mg/g (Harada, 1995).

#### *5.7.1 Exposición a metilmercurio*

En los ciclos naturales del mercurio elemental y sus sales inorgánicas cierta parte termina en los sedimentos de los ríos, mares, lagos y océanos. Las bacterias metanogénicas, mediante el proceso de metilación, añaden un átomo de carbono y lo transforman en metilmercurio (MeHg). Este proceso es de gran importancia para determinar la toxicidad medioambiental de dicho elemento, pues al adicionar el átomo de C se facilita su acumulación en la cadena trófica. Además, tiene rápida difusión y se une a proteínas de algas, plancton y otros microorganismos inferiores. Mediante los procesos de biomagnificación y bioacumulación, las concentraciones en peces tope en la cadena trófica, como los tiburones, suele ser mayor que en especies de menor tamaño (García *et al.*, 2005).

La principal vía de exposición humana al metilmercurio es el consumo de peces contaminados. Dicho metal se absorbe casi por completo en la sangre y se distribuye a todos los tejidos incluido el cerebro. También atraviesa fácilmente a la placenta llega al feto y a su cerebro (Perez y Mesa, 2012). Los lactantes y los niños son muy sensibles al mercurio en todas sus formas, por lo que pueden desarrollar problemas en el sistema nervioso, además de trastornos en los sistemas digestivo y renal (Weinberg, 2009).

#### *5.7.2 Respuestas toxicas de la exposición a metilmercurio*

El sistema nervioso central (SNC) es un blanco donde actúa el metilmercurio y produce síntomas que incluyen trastornos visuales como escotomas (alteración de la vista que genera zonas de ceguera o disminución en el campo visual) y constricción del campo visual. Otros síntomas que involucran al SNC son alteraciones del equilibrio,

temblor muscular, hormigueo, alteraciones de la sensibilidad, hipoacusia, dificultad para pronunciar palabras y deterioro mental. Los casos más graves presentan parálisis y muerte (Rimann, 2014).

### *5.8 Riesgo a la salud*

En los estudios de evaluación de riesgo a la salud humana, el peligro se define como “una propiedad inherente de una sustancia química, que encierra un potencial de nocividad” (Last, 2001). Según Alimentarius (2006), un agente alimentario peligroso es “un agente biológico, químico o físico presente en el alimento que puede causar un efecto adverso para la salud”.

Otra definición importante es la de riesgo; de manera coloquial éste hace referencia a la contingencia o proximidad de un daño (Plaut, 1984). La OMS (2002) define este término como la probabilidad de que se produzca un resultado adverso.

Las enfermedades causadas y transmitidas por alimentos contaminados continúan siendo un problema real en el mundo y provocan grandes pérdidas económicas. El consumo habitual de atún enlatado y cazón en México contribuye en 75% a la exposición al metilmercurio (MeHg) la forma más tóxica de este metal, lo cual representa un problema de salud pública, con base en datos de la encuesta Nacional de Salud y Nutrición realizada en México en 2012, estudio realizado por Cantoral y colaboradores (2017). En los productos pesqueros el mercurio se encuentra en concentraciones bajas (<20 ng/g) (Perez y Mesa, 2012), pero el contenido de metilmercurio es mayor en especies depredadoras de mayor tamaño y más longevas como los tiburones, en los que se han encontrado concentraciones superiores a 1,200 mg/Kg (WHO, 2017).

### *5.9 Incertidumbre*

Cuando se liberan sustancias peligrosas en el ambiente, es necesaria una evaluación para determinar el posible impacto de éstas sobre la salud humana y la de

otros organismos. Para abordar esta problemática, en el presente estudio se realizó una estimación de riesgo debido al consumo no intencional de tiburón. Esta valoración no cuantificó las incertidumbres, por lo que existe la posibilidad de exagerar o minimizar el riesgo.

Un enfoque menos sesgado de la evaluación de riesgos utiliza el análisis de incertidumbres para evaluar el grado de confianza que se puede dar a la estimación del riesgo. La palabra *incertidumbre* significa *duda*, y con un sentido más amplio, *incertidumbre del riesgo* significa duda acerca de la validez del método y el resultado de la evaluación, así como de la exactitud del resultado.

Para la Consulta Técnica sobre el Enfoque Precautorio en Pesquerías (CTEP) incertidumbre se define como "la imperfección en el conocimiento sobre el estado o los procesos de la naturaleza" (FAO/Gobierno de Suecia, 1995). Estadísticamente la incertidumbre se define como "la aleatoriedad o el error proveniente de varias fuentes como las descritas al usar la metodología estadística". El riesgo se define de acuerdo con la CTEP como "la probabilidad de que pase algo malo." Por lo que el riesgo es definido como las pérdidas promedio o las pérdidas que se pronostican cuando algo malo sucede.

Sin embargo, matemáticamente cuando se estudia algún fenómeno de la naturaleza, como la contaminación y los efectos que ésta causa en la biota y el hombre, se debe entender que las observaciones realizadas están sujetas a errores. Tratar de formalizar este fenómeno por medio de una fórmula se debe entender como una aproximación de la realidad (Reyes, 1996).

De acuerdo con Evans y colaboradores (2002) existen diferentes formas de incertidumbre que pueden clasificarse en incertidumbre de parámetro y de modelo. La primera se debe al conocimiento completo del valor verdadero de un parámetro y se origina en la necesidad de establecer inferencias para toda una población a partir de muestras pequeñas sobre los procesos que tienen un cierto grado de aleatoriedad.

La incertidumbre de modelo se debe a la necesidad de depender de una analogía, que es necesariamente falsa, en la modelación de un proceso.

En la evaluación de riesgos siempre se tendrán incertidumbres por lo que es importante incorporarlas en el análisis para evitar dar un falso sentido de conocimientos, para poder lograr el objetivo deseado, evitar incurrir en eventos indeseables y que estas sean identificadas en investigaciones futuras, pues es un parámetro que se utiliza para la toma de decisiones en estimados cuantitativos, provenientes de los modelos de evaluación de riesgo (Grébov y Agüero, 2007).

## 6. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Se vende carne de pescado que en realidad es carne de tiburón en la Central de Abasto de la Ciudad de México?

Si así fuera ¿Cuál es el riesgo de su consumo si se considera que está contaminada con mercurio?

¿Es posible implementar un método que permita identificar carne de tiburón con los oligonucleótidos disponibles en la literatura?

## 7. HIPÓTESIS

*Sí* en la Central de Abasto de la Ciudad de México los productos de pescado más comercializados (filete económico, carne para hacer quesadillas, carne para hacer caldo, filete ahumado), no siempre corresponden a la especie ofertada y pueden ser sustituidos por carne de tiburón, la cual presenta mercurio, *entonces* la salud de la población puede estar en riesgo por exposición a mercurio.

## 8. OBJETIVOS

### 8.1 *Objetivo general*

Identificar la sustitución de productos de pescado por carne de tiburón en la Central de Abasto de la Ciudad de México mediante análisis genético y estimar el riesgo por su consumo no intencional.

### 8.2 *Objetivos específicos*

- Analizar con PCR productos de la Central de Abasto vendidos como pescado para confirmar que no sean algún tipo de tiburón.
- Estimar los hábitos de consumo de pescado de una muestra poblacional de la Ciudad de México y Área Metropolitana
- Con los datos anteriores, estimar el riesgo por consumo no intencional de carne de tiburón para la población mencionada.
- Analizar las incertidumbres de la evaluación del riesgo por consumo no intencional de carne de tiburón para la población muestreada, a través de un modelo matemático.

## 9. MÉTODO

Las muestras de tejido analizadas se recolectaron en la Central de Abasto de la Ciudad de México. Los productos muestreados se seleccionaron con base en la frecuencia de su consumo, el gusto por su sabor, la falta de características morfológicas para su identificación y el precio. Las muestras incluyeron carne para hacer ceviche, carne para hacer caldo de pescado, carne para hacer quesadillas de pescado, filete ahumado, filete económico (robalo, blanco del Nilo, bagre, etc.) y filete para empanizar o capear.

Las muestras de las especies de tiburones que se utilizaron como controles positivos fueron: tiburón volador (*Carcharhinus limbatus*), toro (*Carcharhinus leucas*), sedoso (*Carcharhinus falciformis*), tigre (*Galeocerdo cuvier*) y mako (*Isurus oxyrinchus*) las cuales se obtuvieron del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, del laboratorio de genética de organismos acuáticos a cargo del Dr. Píndaro Díaz Jaimes. Dichas muestras se tomaron de músculos de la cola y las aletas. Los controles negativos (huachinango [*Lutjanus campechanus*], marlín (*Istiophoridae*), bagre (*Siluriformes*), blanco del Nilo (*Oreochromis mossambicus*) y robalo (*Centropomus undecimalis*) fueron peces osteíctios que, a diferencia de los elasmobranquios, tienen esqueleto óseo. Dichas muestras se seleccionaron debido a que son los productos pesqueros con mayor oferta en la central de Abasto de Pescados y Mariscos. Se pretendió incluir al salmón como control negativo, sin embargo, no fue posible debido a que no se obtuvo un ejemplar completo para verificar que en verdad fuera salmón.

### 9.1 Determinación de los sitios monitorizados en la Central de Abasto

Para recolectar las muestras de pescado se eligió la Central de Abasto de Pescados y Mariscos “La Nueva Viga”, principalmente por concentrar productos provenientes de todos los estados costeros de México y productos importados, además de ser el sitio donde se abastecen los pequeños establecimientos (pescaderías). En este lugar también se surten de productos de pescado al menudeo las amas de casa y

los locatarios de los mercados de la Ciudad de México y el Estado de México, debido a que es la comercializadora de mayor tamaño de América Latina y la segunda más grande a nivel mundial (después del mercado de Tsukiji, en Tokio). Cuenta con 202 bodegas de mayoreo y 55 de menudeo (COMEPESCA, 2016). El muestreo de los productos pesqueros, para su análisis genético y la sustitución de productos, se determinó mediante la fórmula matemática según Scheaffer y Lyman (2007):

$$\eta = \frac{N}{(N - 1)\varepsilon^2 + 1}$$

Donde.

N = tamaño de la población de estudio (55 bodegas de menudeo)  $\eta$   
= tamaño de la muestra  $\varepsilon$  = error probable (0.05)

## 9.2 Identificación genética

### 9.2.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN en tejido fresco se realizó con el método de Aljanabi (1997), con ligeras modificaciones. Se tomó 1 cm<sup>2</sup> de tejido fresco (~200 mg), en un tubo de microcentrífuga, y se le agregaron 400  $\mu$ l de amortiguador salino (0.4 M de NaCl, 10 mM de solución Tris-HCl a pH 8.0 y 2 mM de solución ácido etilendiaminotetraacetato disódico [EDTA] a pH 8.0). La muestra se homogenizó y después se le agregaron 40  $\mu$ l de dodecilsulfato sódico (SDS) al 2% y 8  $\mu$ l de Proteinasa K. La mezcla se sometió a digestión a 55°C durante una hora (figura 7).



Figura 7. Incubación de las muestras en baño de agua marca Riosh

*Figura 7. Incubación de las muestras en baño de agua marca Riosh*

A la muestra digerida, se le agregaron 300  $\mu\text{l}$  de NaCl 6 M y se resuspendió con un vórtex (*Scoprion Scientific* modelo A50050) durante unos segundos. La mezcla se centrifugó a 10 000 rpm durante 30 minutos (figura 9). El sobrenadante se transfirió a otro tubo de microcentrífuga, se agregaron 600  $\mu\text{l}$  de alcohol isopropílico extra-frío y se dejó incubando durante toda la noche en un congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Se volvió a centrifugar la muestra durante 30 min a  $4^{\circ}\text{C}$  a 10 000 rpm. Posteriormente se extrajo el sobrenadante y el precipitado se lavó con alcohol al 70%. Los tubos de microcentrífuga se colocaron abiertos en una vacofuga para secar la muestra de ADN, como se muestra en la figura 10. Por último, el precipitado fue resuspendido en 150  $\mu\text{l}$  de agua destilada libre de nucleasas y se almacenó a  $20^{\circ}\text{C}$

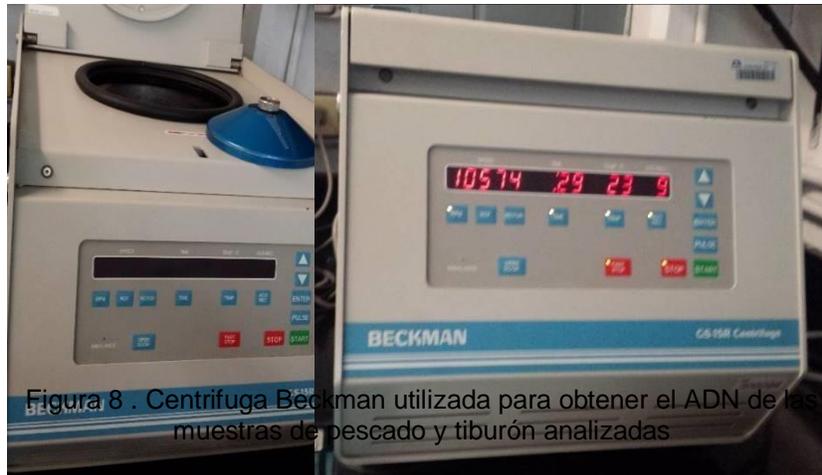


Figura 8 . Centrifuga Beckman utilizada para obtener el ADN de las muestras de pescado y tiburón analizadas

Figura 8. Centrifuga Beckman utilizada para obtener el ADN de las muestras de pescado y tiburón analizadas



Figura 9. Extracción de residuos de etanol de las distintas muestras de tiburón y de pescado con el equipo Vacufuge

### 9.2.2 Cuantificación de ADN

La determinación de la concentración y la pureza de las muestras de los productos pesqueros de ADN se realizó mediante espectrofotometría (con un espectrofotómetro marca Thermo Scientific *NanoDrop™ 2000* (figura 10), un método basado en la capacidad de absorbancia de un compuesto presente en una solución a una longitud de onda determinada. De este modo la concentración de ADN de las

muestras se calculó teniendo en cuenta el valor de absorbancia obtenido a una longitud de onda de 260 nm. Las relaciones de absorbancia A260/280 y A260/230 se utilizaron para evaluar la pureza de las muestras. La relación A260/280 es muy estable, se considera que un ADN de pureza óptima tiene un valor entre 1.82.0. Un ADN de pureza aceptable debe tener al menos una relación A260/280 >1.6. Un valor menor al mencionado indica una posible contaminación por compuestos aromáticos como fenoles y proteínas. Una razón A260/280 >2.1 podría deberse a la presencia de ácido ribonucleico (ARN) en la muestra. A 230 nm los contaminantes absorben sales caotrópicas, fenoles o carbohidratos (Salamanca, 2018)

En general, se considera que el ADN es puro cuando la razón A260/230 se sitúa entre 1.5 y 2.2. Si es menor de 1.5, indicaría la presencia de contaminantes en la muestra. No obstante, esta relación resulta mucho más variable que la relación A260/280, quizá debido a factores como la concentración de ADN o de la composición del amortiguador de resuspensión de la muestra (Salamanca, 2018).

Al equipo se le agregaron 1.5 µl de agua libre de nucleasas para obtener el valor basal de referencia y después 1 µl de la muestra de ADN para obtener los resultados, según las especificaciones del fabricante.



Figura 10. Equipo Nanodrop 2000 marca Thermo Scientific para la cuantificación de ADN de las muestras de tiburón y pescado

### 9.2.3 Oligonucleótidos para condriictios

Para el presente estudio se utilizaron los oligonucleótidos universales para condriictios FISH5.8SF y FISH28SR, que están diseñados para hibridarse con la secuencia de ADN de la región nuclear ITS2 (Pank *et al.*, 2001). Las secuencias de dichos cebadores son las siguientes: 5'-GTTCCCTCCTAGGGGATGAT-3' (*forward*) con 20 bases y 5'-TGGGAAGGCTATATCTGGTGC-3' (*reverse*).

Para la identificación genética de tiburones, basada en la amplificación de la región ITS2, se utilizó como referencia el tamaño del amplicon de estudios previos, en los cuales se han identificado especies de tiburones que coinciden con esta investigación (tabla 1).

Tabla 1. Especies de tiburones y tamaño de los amplicones esperados para productos generados con el uso de los oligonucleótidos universales para condriictios

Familia	Especie de tiburón	Nombre común	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
<i>Carcharinidae</i>	<i>C. falciformis</i>	Tiburón mico o sedoso	1470	Pank <i>et al.</i> , (2001)
	<i>C. limbatus</i>	Tiburón volador o puntas negras	1470	Pank <i>et al.</i> , (2001)
	<i>C. leucas</i>	Tiburón toro	1470	Pank <i>et al.</i> , (2001)
<i>Galeocerdo</i>	<i>Galeocerdo cuvier</i>	Tiburón tigre	1450	Magnussen <i>et al.</i> , (2007)
	<i>Isurus oxyrinchus</i>	Tiburón mako	1350	Magnussen <i>et al.</i> , (2007)
<i>Sphyrnidae</i>	<i>S. lewini</i>	Tiburón cornuda prieta	860	Pank <i>et al.</i> , (2001)
	<i>S. tiburo</i>	Tiburón martillo	860	Pank <i>et al.</i> , (2001)

#### 9.2.4 La PCR de punto final

La programación de los ciclos térmicos para la PCR en el termociclador (Biometra) se resume en la tabla 2.

La visualización de los productos amplificados vía PCR, se realizó en geles de agarosa al 1%, utilizando un marcador de peso molecular ( *100 bp ADN Ladder*, Axygen) para verificar el tamaño de los amplicones. Como control negativo se utilizó ADN de robalo o huachinango. Los geles se sometieron a un procesamiento de electroforesis horizontal (BioRad) con la solución amortiguadora Tris, acetato y EDTA (TAE, BioRad) con un pH de 8.5 (UASLP, 2008).

Tabla 2. Programa de ciclos de la PCR para amplificar la región ITS2

Etapa	Temperatura	Tiempo	Número de Ciclos
Desnaturalización inicial	94°C	10 min	1
Desnaturalización	94°C	1 min	
Hibridación	60°C	1 min	
Extensión	72°C	2 min	
Extensión final	72°C	10 min	40
			1

Para la electroforesis se utilizó una corriente de 90 V durante 50 minutos (figura 11). Al finalizar, las muestras se analizaron en un fotodocumentador (BioImaging Systems) con el programa Imagen 3.0 (figura 12).

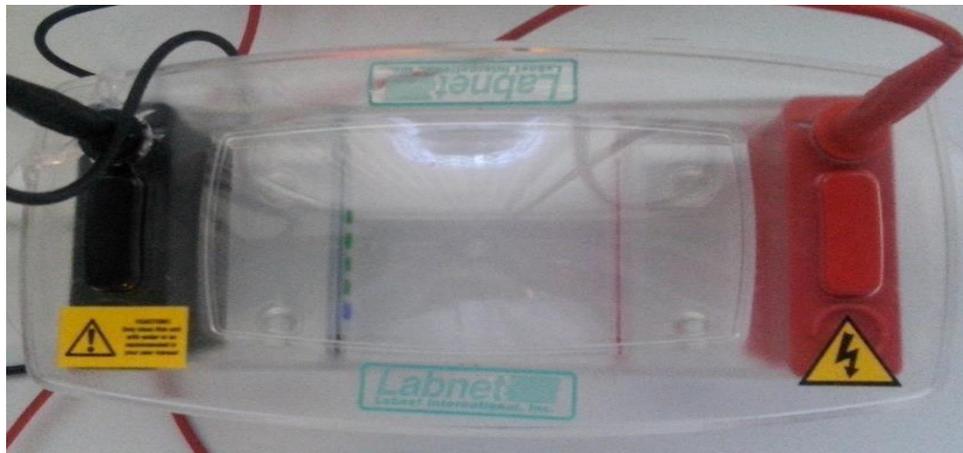


Figura 11. Electroforesis de muestra de tiburón en el gel de agarosa al 1%. En el primer pozo de abajo hacia arriba en color azul se aprecia, el marcador de peso molecular, en el segundo pozo el control negativo (huachinango) y en los pozos en color verde las muestras de tiburón y pescado



Figura 12. Gel de agarosa al 1% en el equipo fotodocumentador DNR Minilumi

#### 9.2.4.1 *Ensayo de discriminación de los oligonucleótidos universales para condrictios*

Con la finalidad de establecer y verificar los controles positivos y negativos para futuros análisis de muestras, se corrieron dos gels; el de controles positivos incluyó las especies de tiburón volador (*Carcharhinus limbatus*), toro (*Carcharhinus leucas*), sedoso (*Carcharhinus falciformis*), tigre (*Galeocerdo cuvie*) y mako (*Isurus oxyrinchus*), y se utilizó para determinar el número de pares de bases (pb) de los amplicones (figura 13); y el segundo gel (de controles negativos), se realizó con muestras de ejemplares completos de peces osteíctios. La muestra de salmón se obtuvo de la Central de Abasto, sin embargo, no se utilizó para este análisis debido a que no fue un espécimen completo, en los puestos de menudeo solo se vendía en filete (figura 14).

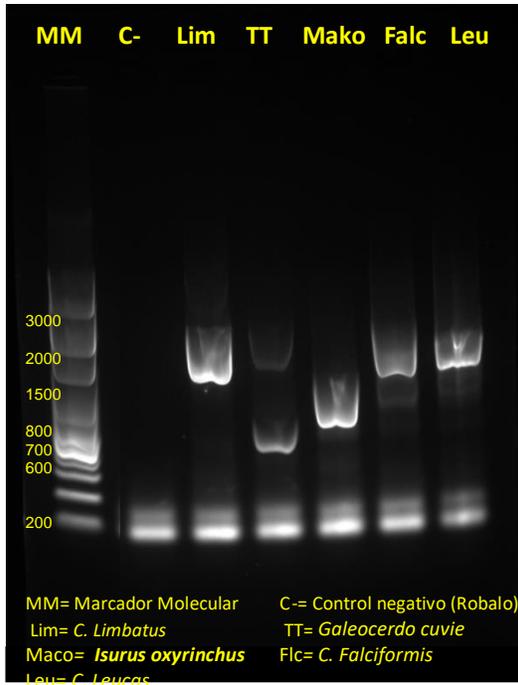


Figura 13. Control positivo de tiburón

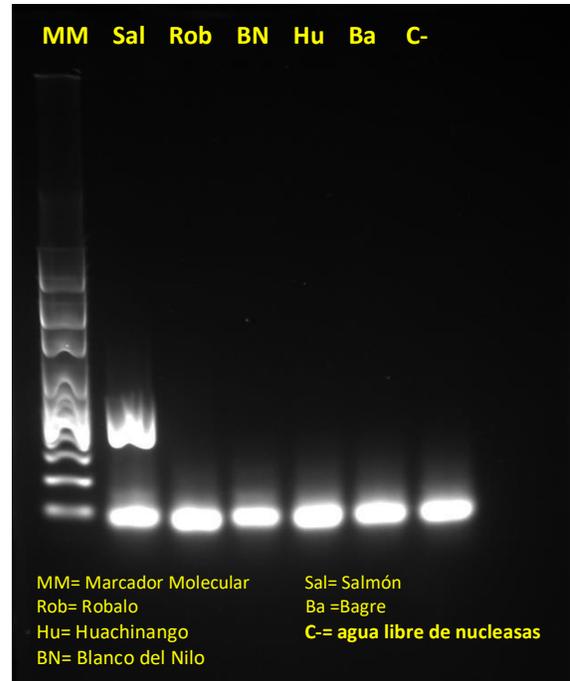


Figura 14. Control negativo de osteíctios

### 9.3 Riesgo a la salud

#### 9.3.1 Diseño de la encuesta

Para este estudio se realizó un muestreo no probabilístico, también llamado muestreo discrecional (Méndez, 2007), diseñado en especial para los jefes de familia. En este análisis se empleó un cuestionario, con 11 preguntas, elaborado tomando como referencia el trabajo de Arellano (2012), el cual se aplicó a los jefes de familia con el fin

de identificar el tipo de población y la cantidad y la frecuencia con que se consumen productos pesqueros. Los sitios de aplicación de las encuestas fueron los mercados seleccionados en diversos puntos o delegaciones de la Ciudad de México; a saber, Iztapalapa, Xochimilco, Iztacalco, Coyoacán, Benito Juárez y en los municipios de Ixtapaluca y Nezahualcóyotl en el Estado de México. El cuestionario impreso (Anexo I), incluyó: preguntas específicas de las especies analizadas en el estudio, con información de la frecuencia de consumo de peces, edad y peso del encuestado y la información de la familia en caso de que consuman productos pesqueros; la información se recopiló de forma verbal y directa. Se aplicaron un total de 777 encuestas y la información obtenida se integró en una base de datos en hoja de cálculo de formato Excel hasta su posterior uso en la realización del análisis de riesgo a la salud.

### 9.3.2 Modelación de la dosis

Se calcularon la dosis total y la dosis diaria promedio (ADD, *average daily dose, por sus siglas en inglés*) con la siguiente fórmula: la dosis diaria promedio durante el tiempo de vida (LADD, *lifetime average daily dose, por sus siglas en inglés*) o bien la ingestión crónica diaria (CDI, *chronic daily intake, por sus siglas en inglés*) es función de la concentración promedio y la tasa de ingestión (por ruta oral). Los parámetros que se utilizaron fueron obtenidos de las encuestas realizadas para el consumo no intencional de carne de tiburón. Adicionalmente se utilizó el promedio de la esperanza de vida del consumidor mexicano, el cual es de 78 años para las mujeres y 73 para los hombres (INEGI, 2016)

Para la modelación de las dosis se utilizaron las siguientes ecuaciones (Evans y colaboradores, 2003):

Ecuación 1

$$Dosis\ total = (concentración) (ingestión) (duración) (frecuencia)$$

## Ecuación 2

$$ADD = \frac{Dosis\ total}{Peso\ corporal\ X\ Esperanza\ de\ vida} (mg/kg - día)$$

Se calculó la dosis total para tres concentraciones de mercurio, las cuales fueron tomadas del estudio “Selección y muestreo de peces de alto consumo humano en México con objeto de determinar el contenido de mercurio” (RamírezRomero *et al.*, 2012), misma que corresponden a las concentraciones mínima (0.27 mg/Kg), el promedio (2.43 mg/Kg) y la máxima (3.33 mg/Kg). Los datos utilizados son de muestreos realizados durante un período de tres años en 10 de los puertos pesqueros más importantes de México, que proporcionaron una buena estimación del MeHg en peces vendidos en el Área Metropolitana de la Ciudad de México.

### 9.3.3 Riesgo cuantitativo

La evaluación cuantitativa de riesgo a la salud de un agente no carcinógeno se basa en una dosis de referencia, la cual es una estimación. Se eligió un límite inferior de dosis de referencia del 95% en un nivel de efecto del 5% obtenido. Aplicando un modelo de potencia Coeficiente de peligrosidad (CP) ( $CP \geq 1$ ) a datos de dosis respuesta basados en estudios previos realizados en las Islas Faroe (USEPA, 2008). La dosis de referencia es de 0.0001 mg/Kg/día para mujeres en edad reproductiva, niños y adultos mayores y 0.0003 mg/Kg/día para la población adulta.

### 9.3.4 Cálculo de riesgo por consumo no intencional de carne de tiburón

Para el cálculo por consumo semanal y mensual en Kg/día, se utilizaron las ecuaciones de la *United States Environmental Protection Agency* (USEPA, 2008), para

la población sensible conformada por mujeres en edad reproductiva de 12 a 44 años y niños menores de 15 años.

Ecuación 3

$$CR_{mm} = \frac{CR_{lim} \times T_{ap}}{MS}$$

Donde:

$CR_{mm}$  = consumo máximo permitido en porción de pescado (comidas/mes)

$CR_{lim}$  = Consumo máximo permitido en porción de pescado (Kg/día)

$T_{ap}$  = período promedio (365.25 días/12 meses = 30.44 días/mes)

$MS$  = peso de ración de pescado

Para determinar el consumo máximo permitido para la población sensible en porción de pescado (kilogramo/día), se utilizó la ecuación 4 con información de mujeres en edad reproductiva obtenidos de la encuesta antes mencionada: Ecuación 4

$$CR_{lim} = \frac{RFD \times BW}{C_m}$$

$BW$  = peso corporal del consumidor (Kg)

$C_m$  = Concentración de metilmercurio en especie de pescado (mg/Kg)

$RFD$  = 0.0001 mg/Kg dosis de referencia-día para el feto en desarrollo y las mujeres en edad fértil.

La dosis de referencia es 0.0001 mg/Kg de acuerdo con los efectos toxicológicos del metilmercurio, Se consideró como dosis de referencia, la de la Guía de los criterios de la calidad del agua para determinar el límite máximo permisible de metilmercurio de la USEPA (2001) como se explicó anteriormente.

La cantidad de alimentos permitidos para varones mayores a 15 años y mujeres de más de 44 y menos de 60 años se calculó por semana y por mes utilizando la siguiente ecuación (USEPA, 2008)

## Ecuación 5

$$CR_{mm} = \frac{CR_{lim} \times T_{ap}}{MS}$$

Donde:

$CR_{mm}$ = consumo máximo permitido en porción de pescado (comidas/mes)

$CR_{lim}$ = consumo máximo permisible tasa en porción de pescado (Kg/día)

$T_{ap}$ = período de tiempo promedio (365.25 días/12 meses = 30.44 días / mes)

$MS$  = peso de ración de pescado

Para determinar el consumo máximo permitido en porción de pescado en unidades kilogramo por día, se utilizó la misma fórmula que para mujeres en edad reproductiva con una adecuación en la sustitución los datos para la población menos sensible:

## Ecuación 6

$$CR_{lim} = \frac{(RFD) (BW)}{C_m}$$

RFD = 0.0003 mg/Kg al día, dosis de referencia para público en general

BW= Peso corporal del consumidor (Kg)

$C_m$ = Concentración de mercurio (mg/Kg)

La dosis de referencia de 0.0003 mg/Kg/día propuesto por la USEPA en 1980 se basa en el envenenamiento por metilmercurio en Irak en 1970, cuando el grano de trigo fue tratado con fungicidas (que contenían metilmercurio), sin embargo, este fue molido y convertido en harina para su consumo.

Las concentraciones de mercurio en la carne de tiburón, necesarias para la evaluación de riesgo fueron tomadas del estudio “Selección y muestreo de peces de alto consumo humano en México con objeto de determinar el contenido de mercurio” (Ramírez-Romero *et al.*, 2012). Para obtener el contenido de metilmercurio se consideró

el trabajo de Elika (2005) donde menciona que el 90% de mercurio presente en los organismos se encuentra en forma orgánica como metilmercurio ya que se une a proteínas acumulándose en el tejido muscular de los peces (Health Canada, 2007).

### 9.3.5 Caracterización del riesgo a la salud

Para el análisis del riesgo a la salud se calculó el coeficiente de peligrosidad (Evans *et al.*, 2003), que es igual al riesgo (R):

Ecuación 7 
$$\text{Coeficiente de peligrosidad} = \frac{\text{Exposición}}{RfD}$$

Para obtener la exposición (E), se utilizó la ecuación XC (Sardina, 2001) Ecuación 8

$$E = \frac{(C)(TI)(FE)}{PC}$$

donde:

C = Concentración del contaminante en el pescado (mg/Kg/día)

TI = Tasa de ingesta (mg)

FE = Factor de exposición (sin unidades)

PC = Peso corporal (Kg)

El factor de exposición nos permitió calcular la dosis de contaminante que es ingerida por el organismo y pasa por el tracto gastrointestinal. La dosis es comparada con datos de la dosis administrada en estudios experimentales realizados con animales diseñados para obtener la relación dosis-respuesta. Éste se calculó utilizando la ecuación 9 y se calculó para los diferentes grupos separados por edad de la muestra de la población analizada (Sardina, 2001). Ecuación 9

$$FE = \frac{(\text{exposición en días/semanas})(52 \text{ semanas/año})(\text{exposición años})}{(\text{años exposición})(365 \text{ días/años})}$$

De acuerdo con los autores mencionados el resultado del coeficiente de peligrosidad se interpreta de la siguiente manera:

CP < 1 = riesgo aceptable

CP > 1 = riesgo de elevado

### 9.3.6 Identificación de las incertidumbres

La identificación de la incertidumbre se llevó a cabo como lo describen Zuk y Martínez (2010), quienes dividen por secciones las actividades realizadas, así las posibles fuentes pueden incluir las siguientes:

- Estimación del riesgo

Para el análisis de la estimación del riesgo, las incertidumbres se clasificaron de acuerdo a su fuente:

- El peso corporal. A pesar de que se realizó la separación de la muestra en grupos [bebé (1-5 años), niño (6-12 años), hombre (12-59 años), tercera edad (60-73 años)], se tiene un sesgo con el peso en varones para la población adulta (12 a 59 años) ya que es un rango muy amplio por lo que la variabilidad del peso es amplia.
- Los hábitos de consumo. Tienen una amplia variación debido a que la cantidad de alimento que la muestra de la población consume por porción es diferente, aún dividida en grupos (sexo y edad); por ejemplo, se registraron porciones de 200 g y hasta 1 kg para hombres adultos.
- Asimismo, que datos como el peso, hábitos alimenticios, la frecuencia de consumo y el tamaño de la ración que se consumen, suelen ser datos calculados, que por lo general no se está acostumbrado a tener actualizados a menos que se encuentre en un régimen alimenticio riguroso (dieta con especialista).
- Las concentraciones de mercurio en la carne de tiburón (con la que se sustituye el pescado de la central de abastos) son similares a las encontradas en los estudios de Ramírez y colaboradores (2012) y Arellano (2012).

- Área de muestreo, las bodegas seleccionadas venden productos similares al resto de las bodegas de la central de abastos.
- Los resultados de las personas encuestadas tienen un patrón de consumo similar a los de la central de abasto. Además, las personas encuestadas en los diferentes mercados seleccionados tienen un patrón de consumo de pescado similar al resto de la población de la Ciudad de México y su área metropolitana.

Las incertidumbres de modelo se describen a continuación:

- Aseguramiento y control de calidad del personal y equipo de laboratorio el sesgo personal en la lectura de instrumentos analógicos como la balanza para pesar reactivos, y la precisión al utilizar el equipo volumétrico.
- Análisis genético: el resguardo del material genético se realizó en un ultracongelador a -80 °C. En la elaboración de las soluciones para la extracción de ADN, se tomó en cuenta el grado de pureza y la fecha de caducidad de los reactivos; así como la precisión al pipetear. En la elaboración del gel de agarosa y la electroforesis, el control de la temperatura, el voltaje y el tiempo. Las pruebas de la PCR se realizaron utilizando siempre el mismo equipo, en el mismo laboratorio. La pureza del ADN extraído se analizó en un solo equipo Nanodrop.

### Consulta de expertos

En los últimos años, la evolución de los conocimientos científicos y el debate sobre los beneficios y los riesgos del consumo de pescado han generado confusión en torno a cuánto pescado hay que consumir, o incluso si hay que consumirlo, y quién

debe hacerlo. Los organismos internacionales y nacionales responsables de la inocuidad de los alimentos han reconocido que se debe ofrecer información útil, clara y pertinente a las poblaciones preocupadas por tomar las decisiones más saludables a la hora de elegir entre consumir pescado o no hacerlo. Estas poblaciones comprenden a las mujeres en edad fértil, los niños pequeños y las personas de la tercera edad.

El pescado es un componente básico de una alimentación equilibrada y constituye una fuente saludable de proteínas y de nutrientes. Es probable que los beneficios y los riesgos para la salud varíen en función de las especies, del tamaño de los ejemplares y, de la cantidad de pescado consumida.

En el anexo II se pueden observar algunas de las publicaciones de expertos en el tema (tesis y artículos científicos), que sustentan el trabajo realizado.

#### *9.4 Análisis matemático para la estimación del riesgo*

Se optó por un análisis matemático basado en métodos numéricos y analíticos para crear una superficie de riesgo asociada a una curvatura gaussiana no positiva, la cual sustituyó la evaluación probabilística del riesgo.

Un enfoque menos sesgado de la evaluación de riesgos utiliza el análisis de incertidumbres para evaluar el grado de confianza que se puede dar a la estimación de riesgos. Pero, sin embargo, matemáticamente cuando se estudia algún fenómeno de la naturaleza, como la contaminación y los efectos de esta causa en la biota y el hombre, debe entenderse que las observaciones están sujetas a errores. Tratar de formalizar este fenómeno mediante una fórmula debe entenderse como una aproximación de la realidad utilizando métodos numéricos y cualitativos (Reyes, 1996).

Se construyó un campo escalar global de riesgo en una región apropiada de etapas y concentraciones de metilmercurio, tomando como base los resultados obtenidos del coeficiente de peligrosidad para la muestra analizada (varones y mujer),

donde se evaluó el comportamiento reestructurado a las etapas de la vida convenientemente para que se adapten a los siguientes intervalos. Primero a manera de ejemplo se describe el método utilizado para el caso de los varones de la muestra analizada.

#### 9.4.1 Campo escalar

En las etapas de la vida [1; 90] están conveniente reparametrizar para que se adapte a un intervalo [1; 5], esto es, si  $s \in [1; 90]$  es la edad real, usamos la variable  $t \in [1; 5]$ , y la relación funcional viene dada por (1)

$$s(t) = \begin{cases} 3t & \text{if } 1 < t \leq 2 \\ 6t - 6 & \text{if } 2 < t \leq 3 \\ 48t - 132 & \text{if } 3 < t \leq 4 \\ 60 & \text{if } 4 < t \leq 5 \end{cases}$$

Esto se debe a que el consumo de pescado comienza después del primer año de vida. Por lo tanto, con dicha reparación (1), los intervalos de edad de la etapa se aplican:

Bebé, [1, 6] años, en el intervalo [0,2]

Niño, [6,12] años en el intervalo [2,3]

Varón, [12,60] años en el intervalo [3,4]

Anciano, [60,90] años [4,5]

Con las condiciones antes descritas y utilizando el método de interpolación (Reyes, 1996) con los tres polinomios de grado cuatro que son (en las variables universales  $x = ty$ ) que suavizan los gráficos poligonales donde se involucran los datos para el intervalo de cada etapa y para cada concentración de metilmercurio (MeHg): 0.3, 2.7, 3.7 mg/Kg respectivamente, como se muestra en figura 15. Esto es, en las

variables principales  $t$  como la variable de etapa y  $c$  como la variable de concentración, podemos obtener los siguientes polinomios particulares.

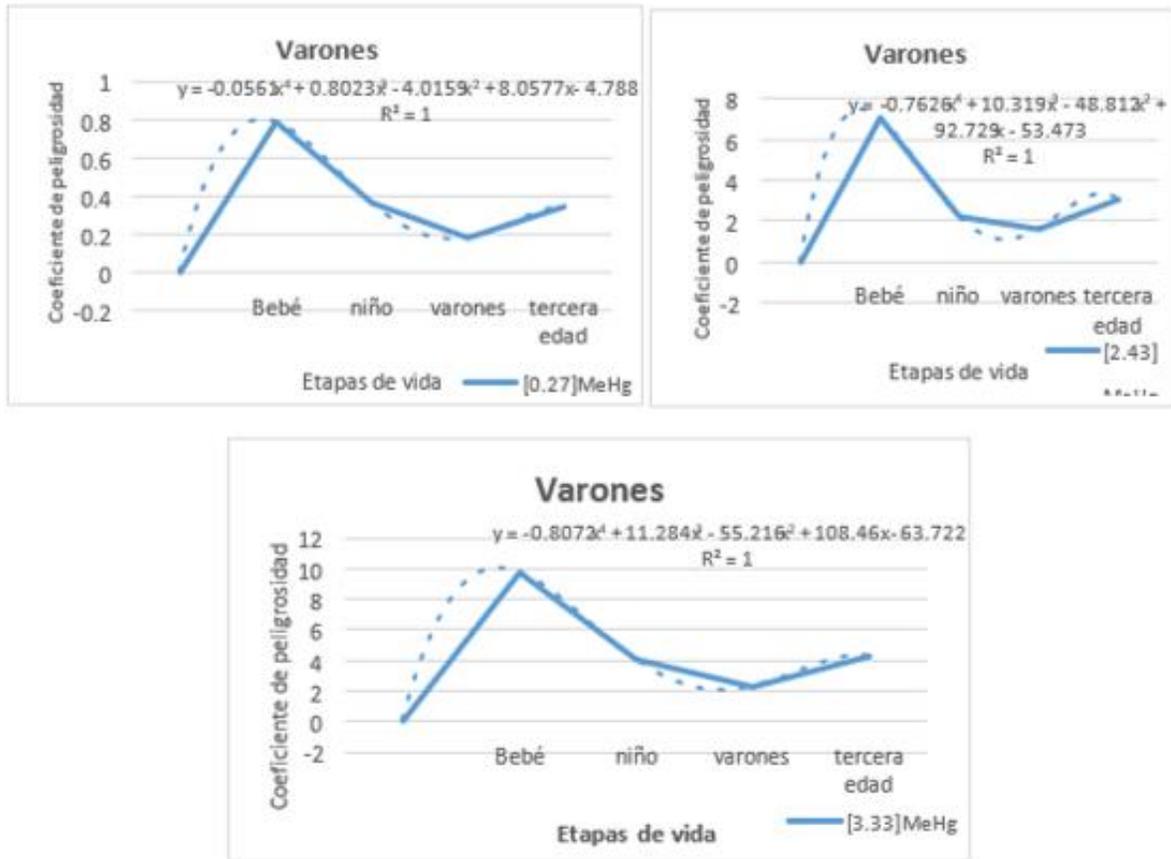


Figura 15. Coeficiente de riesgo para hombres de diferentes etapas de la vida. Considerando tres concentraciones de metilmercurio

Interpolación de polinomios	
Concentración	Polinomio de grado 4 asociado a la variable $t$
[0.27] Hg	$R_{0.27} t = -0.0561x^4 + 0.8023x^3 - 4.0159x^2 + 8.0577x - 4.788$
[2.43] Hg	$R_{2.43} t = -0.7626x^4 + 10.319x^3 - 48.812x^2 + 92.729x - 53.473$
[3.33] Hg	$R_{3.33} t = -0.8072x^4 + 11.284x^3 - 55.216x^2 + 108.46x - 63.722$

Para construir una función  $R(t, c)$  con las variables en la etapa y concentración  $(t, c) D = X [1,5] \times [0.2, 3.5]$  de tal manera que para cada valor de concentración  $c$  tenemos una relación polinómica  $R_c(t)$  que depende solo de la etapa  $t$ , proponemos una de tipo

$$(2) \quad R(t, c) = f_4(c) t^4 + f_3(c) t^3 + f_2(c) t^2 + f_1(c) t + f_0(c)$$

Donde las funciones  $f_k(c)$  se obtienen por el método de regresión lineal, según las condiciones de los polinomios obtenidos

$$f_4(0.27) = -0.0561, f_4(2.43) = -0.7626, f_4(3.33) = -1.1108; f_3(0.27) = 1.1525, f_3(2.43) = 10.592, f_3(3.33) = 14.424; f_2(0.27) = -5.2858, f_2(2.43) = -48.489, f_2(3.33) = -66.061, \text{ etc ...}$$

La primera función  $f_4(c)$  en (2) se obtuvo utilizando el programa Excel y viene dada por la relación lineal

$$f_4(c) = -0.263c + 0.016$$

Las otras funciones lineales se obtienen de forma similar, obteniendo

$$(3) \quad \begin{aligned} f_3(c) &= 3.639c + 0.188 \\ f_2(c) &= -17.63c - 0.753 \\ f_1(c) &= 34.29c + 1.162 \\ f_0(c) &= -20.04c - 0.581 \end{aligned}$$

De esta manera, el campo escalar buscado (2) que estima el riesgo de metilmercurio en la región  $D$  se convierte,

$$(4) \quad R(t, c) = (-0.263c - 0.016) t^4 + (3.6399c + 0.1886) t^3 + (-17.631c - 0.7533) t^2 + (34.293c + 1.1628) t + (-20.04c - 0.5818)$$

Para cualquier valor dado de la concentración  $c$  la función correspondiente  $R_c(t)$  tiene un gráfico en el plano  $t, R$  como se muestra en el proceso de interpolación (ver figura 16).

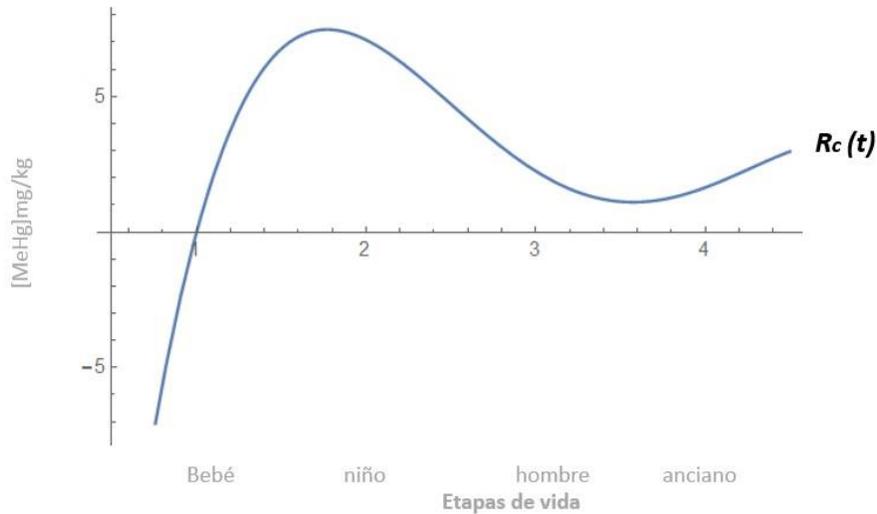


Figura 16. Función  $R_c(t)$

Se calculó el gradiente de la función de riesgo  $R_c(t)$  y obtenemos,

(5)

$$\begin{aligned} \nabla R(t, c) &= \left( \frac{\partial R}{\partial t}, \frac{\partial R}{\partial c} \right) \\ &= (1.162 + 34.29c + 2(-0.753 - 17.63c)t + 3(0.188 + 3.639c)t^2 \\ &\quad + 4(-0.016 - 0.263c)t^3 \\ &\quad - 20.004 + 34.29t - 17.63t^2 + 3.639t^3 - 0.263t^4 \end{aligned}$$

Para encontrar los puntos críticos de (4), resolvemos el sistema de las ecuaciones algebraicas en las variables  $t, c$ ,

(6)

$$0 = -21.483 + 37.49t - 20.047t^2 + 4.3781t^3 - 0.3377t^4,$$

$$0 = 0.27 + 37.49c + 2(0.1439 - 20.047c)t + 3(-0.0335 + 4.3781c)t^2 + 4(0.0017 - 0.3377c)t^3$$

Una función estable  $f$  definida en el conjunto compacto  $D$  es tal que todas las funciones cercanas suaves  $g$  definidas en  $D$  son idénticas a  $f$  (Golubitsk y Guillemin, 1974).

Además, una función Morse es aquella que no presenta puntos críticos degenerados con diferentes valores críticos (Golubitsk y Guillemin, 1974). Dado que la función de riesgo  $R(t; c)$  no tiene puntos críticos, se obtuvieron los siguientes resultados.

**Teorema 1.** El campo de riesgo  $R(t; c)$  es una función de Morse estable en un conjunto simple compacto conectado en  $D$ .

Prueba. Todo el conjunto  $D$  es un conjunto regular para  $R(t; c)$ , lo que prueba la propiedad de Morse. La estabilidad se desprende de la teoría de Mather-Malgrange (ver la Proposición 2.2 en (Golubitsk y Guillemin, 1974)).

Por lo tanto, bajo pequeñas deformaciones suaves de la función de riesgo  $R(t; c)$  en  $D$ , la función deformada obtenida tiene el mismo comportamiento cualitativo. En otras palabras, cualquier pequeño error en la obtención de los datos conduciría a una nueva relación de riesgo con las mismas características.

Por otro lado, se define a la región de riesgo crítico dentro del dominio  $D$  como el subconjunto

$$(7) \quad R(D) = \{(t,c) \mid R(t,c) \geq 1\}$$

y se representa como un contorno de color en la figura 17, que muestra una gran región de riesgo. El siguiente resultado muestra la probabilidad de riesgo para todo el proceso.

**Propuesta 1.** La probabilidad de riesgo de exposición al metilmercurio  $P$  para Las etapas y concentraciones consideradas son altas.

*Prueba.* Calculamos la relación entre las áreas correspondientes de  $D$  y  $R(D)$ , obteniendo la mencionada probabilidad de riesgo, (8)

$$P = \frac{\text{Área}(R(D))}{\text{Área}(D)} = \frac{1}{\text{Área}(D)} \iint_{R(D)} dc dt = \frac{10.62}{13.2} = 0.80$$

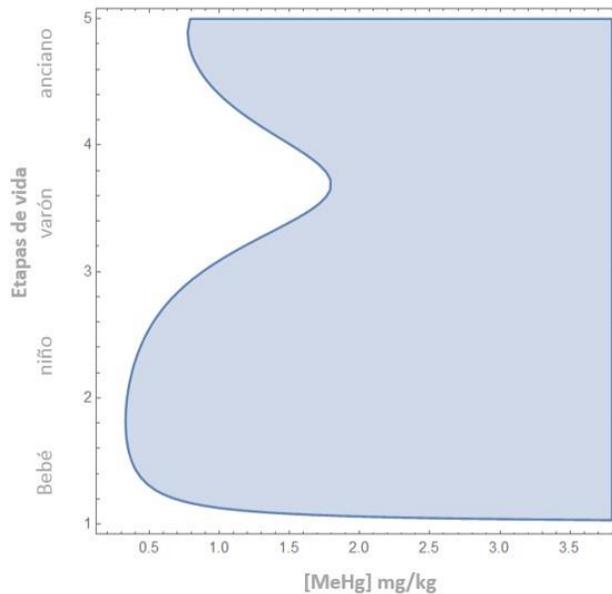


Figura 17. Región crítica de riesgo  $R(D)$

Las curvas de nivel del campo de riesgo escalar se muestran en el dominio  $D$  en la figura 18. La región más oscura indica menos riesgo, mientras que la región más clara indica mayor riesgo.

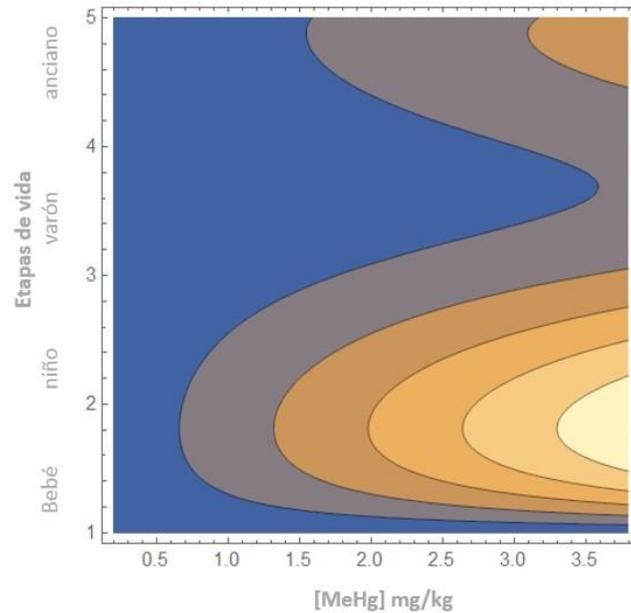


Figura 18. Curvas de nivel debidas al consumo involuntario de tiburones para varones

Obtenemos también el siguiente resultado crucial e importante.

**Teorema 2.** El valor promedio  $R^* = 1: 4389$  de  $R(t; c)$  en todo el conjunto  $D$  Representa un gran riesgo para la población.

Prueba. El valor promedio  $R$  del riesgo en el dominio  $D$  se calcula aplicando la fórmula (Rudin, 1976),

$$\begin{aligned}
 (9) \quad R^* &= \frac{1}{\text{Área}(D)} \iint_D R(t, c) \\
 &= \frac{1}{\text{Área}(D)} \int_{t=1}^{t=5} \int_{c=0.2}^{c=3.5} [(-0.263c - 0.016)t^4 + (3.639c - 0.188)t^3 \\
 &\quad + (-17.63 - 0.753c)t^2 + (34.29c)t + (-20.04c - 0.581)] dc dt \\
 &= \frac{35.9067}{13.2} = 1.43
 \end{aligned}$$

Así, ese número representa un gran riesgo en todo el conjunto  $D$ .

### 9.4.2 El campo de vectores de riesgo.

Porque no hay punto crítico para la función de riesgo, se estudió el vector en el campo de riesgo gradiente (5) para comprender el comportamiento de la función de riesgo. Los flujos de cada campo vector de riesgo muestran cómo está cambiando el proceso a lo largo de las soluciones del sistema asociado de ecuaciones diferenciales, (10)

$$\frac{dt}{d\tau} = -21.483 + 37.49t - 20.047t^2 + 4.3781t^3 - 0.3377t^4,$$

$$\frac{dc}{d\tau} = 0.27 + 37.49c + 2(0.1439 - 20.047c)t + 3(-0.0335 + 4.3781c)t^2 + 4(0.0017 - 0.3377c)t^3,$$

dónde  $\tau$  es el tiempo dinámico (ver figura 19).

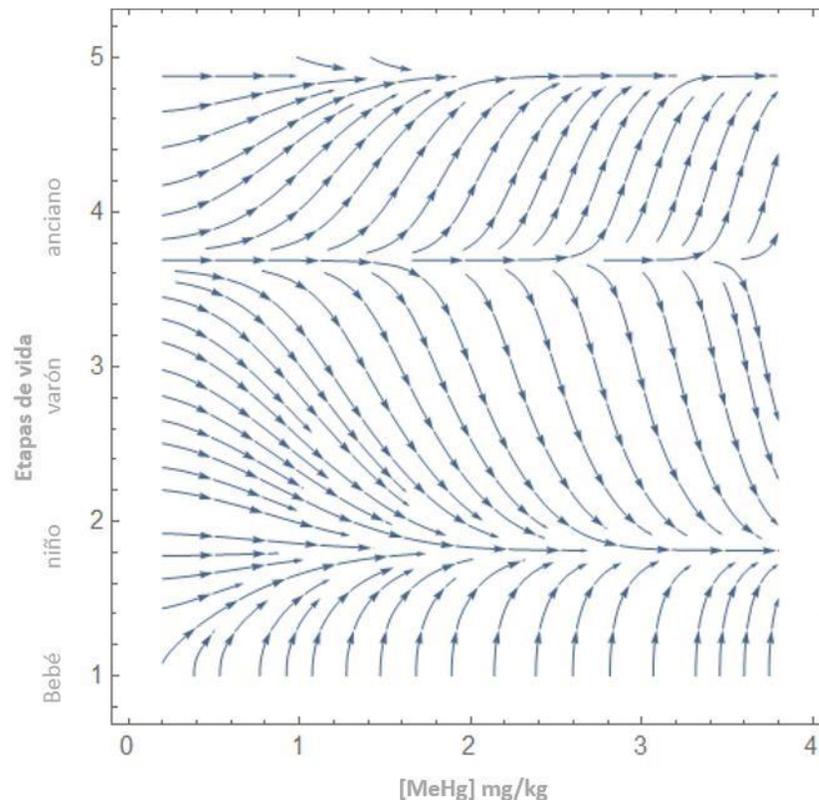


Figura 19. Campo de vector de riesgo  $\nabla rR(t; c)$  para el consumo no intencional de tiburones para hombres.

**Lema 1.** El sistema dinámico (10) no tiene ningún punto de equilibrio, ni órbitas cerradas en la región  $D$  simplemente conectada compacta (ver figura 20).

**Prueba.** Dado que la función de riesgo no tiene puntos críticos en el dominio considerado, se deduce que no hay puntos de equilibrio en  $D$  para tal sistema. Del teorema de Poincaré-Bendixon (Guckenheimer-Holmes, 1983) sigue que no hay órbitas periódicas, ya que, en otro caso, si hay una periódica órbita dentro de  $D$ , la región simplemente conectada delimitada por esta órbita debe contener un punto de equilibrio.

La misma figura muestra líneas verticales en el campo del flujo del vector de riesgo y se entienden como las edades en las que existe un riesgo significativo. Estas edades se calcularán posteriormente utilizando métodos geométricos.

#### 9.4.3 La superficie de riesgo.

La denominada superficie de riesgo asociada  $S$  es el gráfico de la función de riesgo (4), y es una superficie de dos dimensiones incrustado en el espacio euclidiano tridimensional  $R^3$ , que se muestra en la figura 20.

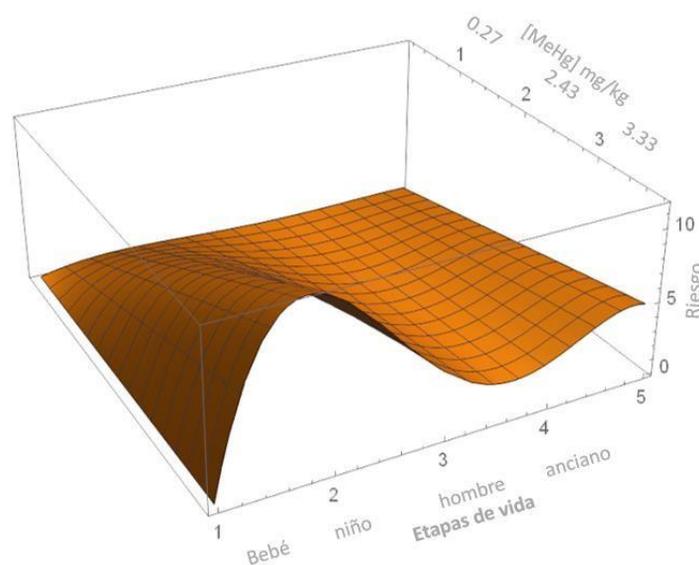


Figura 20. Superficie de riesgo para los hombres debido a la exposición involuntaria a MeHg

Se utilizó la función de la curvatura gaussiana  $K(t; c)$  (Dubrovine et al, 1984) de la superficie de riesgo para determinar las edades críticas de la función de riesgo global. Recordemos que una superficie de Hadamard tiene una curvatura gaussiana no positiva en todos sus puntos.

Tenemos el siguiente resultado importante.

**Teorema 3.** La Surface de riesgo asociado  $S$  esta incrustado en la superficie de Hadamard. Acostado en el espacio euclidiano tridimensional  $R^3$ .

Prueba. Si parametrizamos la superficie  $S$  en el dominio  $D$  en la forma canónica

(11)  $\phi(t, c) = (t, c, R(t, c)), (t, c) \in D$ , la curvatura gaussiana se calcula con la igualdad (ver Dubrovine et al., 1984) (12)

$$K(t, c) = \frac{\left(\frac{\partial^2 R}{\partial t^2}\right)\left(\frac{\partial^2 R}{\partial c^2}\right) - \left(\frac{\partial^2 R}{\partial t \partial c}\right)^2}{\left(1 + \left(\frac{\partial R}{\partial t}\right)^2 + \left(\frac{\partial R}{\partial c}\right)^2\right)^2} = \frac{(-34.29 - 35.26t + 10.917t^2 - 1.052t^3)}{\left(1 + \left(\frac{\partial R}{\partial t}\right)^2 + \left(\frac{\partial R}{\partial c}\right)^2\right)^2}$$

Por lo tanto

$$= \frac{\partial^2 R}{\partial c^2} = 0$$

(13)

$$= \frac{\partial^2 R}{\partial c^2} = 34.29 - 35.26t + 10.917t^2 - 1.052t^3$$

en todo el conjunto  $D$ .

Por lo tanto,  $S$  tiene una curvatura no positiva y en consecuencia es una Superficie de Hadamard. También está incrustado en el espacio tridimensional Porque es el gráfico de la función de riesgo suave.

Esto termina la prueba.

Una consecuencia de este resultado es el siguiente resultado importante para el proceso.

**Corolario 1.** Las edades críticas para el proceso son, en los tiempos biológico  $s$ ,

(14)

$$s = 5.4(\text{años}), \quad s = 45.6(\text{años}), \quad s = 84(\text{años})$$

**Prueba.** La expresión de la curvatura  $K(t; c)$  en (12) muestra el signo de una función de curvatura que está completamente determinada en  $D$  por la función educida

$$(15) \quad k(t, c) = -(34.29 - 35.26t + 10.917t^2 - 1.052t^3)^2$$

El gráfico de  $k(c, t)$  se muestra en la figura 21.

Los puntos donde la curvatura gaussiana (5) son cero determinan las edades críticas de la función de riesgo y se obtienen al resolver la ecuación 6:

$$(16) \quad 0 = -(34.29 - 35.26t + 10.917t^2 - 1.052t^3)^2$$

Las soluciones de (23) son todos números reales,

$$(17) \quad t = 1.81(5.4 \text{ años}), t = 3.7(45.6 \text{ años}), t = 4.85(84 \text{ años})$$

Y corresponden a las líneas horizontales, soluciones integrales del Campo de riesgo del vector. Esto termina la prueba.

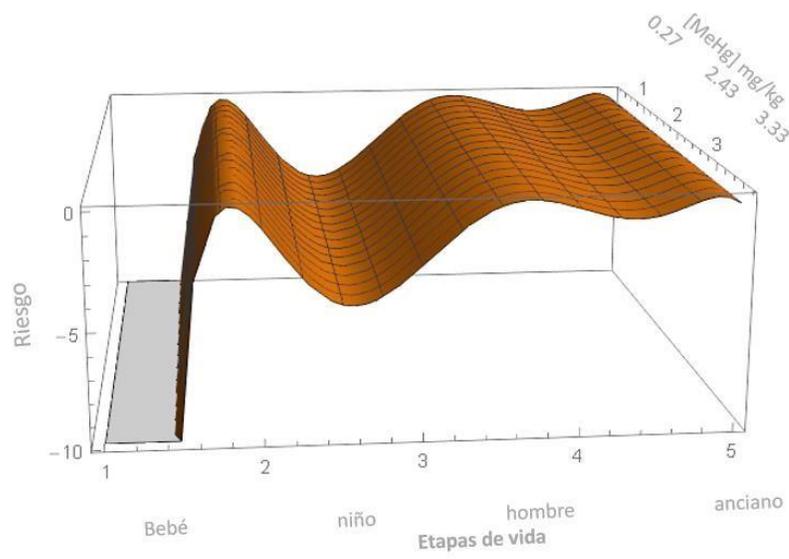


Figura 21. Curvatura de la superficie de riesgo para varones

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 10.1 Determinación del número de locales

El resultado obtenido después de aplicar la fórmula matemática de Scheaffer y Lyman (2007) fue 48 bodegas de la Nueva Viga en la Central de Abasto, pero al realizarse el muestreo de las especies elegidas se observó que sólo en 10 establecimientos se vendían los productos pesqueros seleccionados para este estudio y dichos puestos no tienen a la venta todos los productos que se desean analizar. Al final, se monitorizaron siete establecimientos de menudeo ocho veces a lo largo de un año obteniendo 53 muestras (18 de carne para ceviche, 16 de filete económico, seis de carne para hacer caldo de pescado, seis de carne para quesadilla de pescado, cuatro de filetes para capear, tres de filetes ahumados). En la tabla 3, se muestran las fechas y los productos obtenidos en dichos muestreos.

Tabla 3. Muestreo de productos pesqueros obtenidos de la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México

Fecha de muestreo	Organismo	Fecha de muestreo	Organismo
1er. Muestreo 10/07/15	1) Carne p/ceviche	3er. Muestreo 13/11/2015	5A) Carne p/ceviche
	2A) Carne p/ceviche		7A) Carne p/ceviche
	3C) Filete económico B. Nilo		2B) Filete económico (robalo)
	6D) Filete económico B del Nilo		3B) Filete económico (bagre)
	3C) Carne p/caldo de pescado		6B) Carne p/caldo Plateado
	7B) Carne p/quesadilla de pescado		8B) Carne p/quesadilla de pescado
2do. Muestreo 17/07/15	3B) Carne p/ceviche	4to. Muestreo 20/11/2015	8A) Carne p/ceviche
	4) Carne p/ceviche		2A) Carne p/ceviche
	6D) Filete económico Bagre		6D) Filete económico (bagre)
	8) Filete blanco del Nilo		8A) Filete económico (robalo)
	5B) Carne p/caldo de pescado		C2) Carne p/ceviche
	A1) Marlín		8C) Carne p/quesadilla de pescado

Fecha de muestreo	Organismo
5to. Muestreo 17/03/16	8A) Carne p/ceviche
	2A) Carne p/ceviche
	3A) Carne p/ceviche
	C2) Carne p/quesadilla de pescado
	6B) Carne p/caldo de pescado
	FE2) Filete económico (b. del nilo)
	FE3) Filete económico (robalo)
6to. Muestreo 24/03/16	CM3) Carne p/ceviche
	CM4) Carne p/ceviche
	FE4) Filete económico (bagre)
	6D) Filete económico (robalo)
	6B) Carne p/caldo de pescado
	8C) Carne p/quesadilla de pescado
	A2) Marlin

Fecha de muestreo	Organismo
7mo. Muestreo 15/07/16	CM5) Carne p/ceviche
	2A) Carne p/ceviche
	3B) Filete económico (b. del nilo)
	2A) Filete económico (bagre)
	2B) Carne p/ceviche
	6A) Carne p/ceviche
	A3) Marlin
8vo. Muestreo 22/07/16	6C) Carne p/caldo de pescado
	4A) Carne p/capear
	2B) Carne p/capear
	6) Filete económico (robalo)
	8) Filete económico (b. del nilo)
	1) Filete para capear
	2) Filete para capear
	8C) Carne p/quesadilla de pescado

## 10.2 Cuantificación y determinación de la calidad del ADN

Los resultados de la cuantificación y la determinación de la calidad del ADN de las muestras (tejido muscular y aletas) utilizadas como controles aparecen en la tabla 4. Se incluyeron siete especies de tiburones, i.e., *I. mako*, *C. limbatus*, *C. falcimormis*, *C. tiburo*, *C. leucas*, *G. cuvier*, *S. lewini.*, y una muestra de osteíctio Huachinango (*L. campechanus*), que fue uno de los controles negativos utilizados en el presente estudio.

Tabla 4. Resultados de calidad (tasas de absorción) y concentración (ng/μl) de ADN de tiburones

Muestra	Concentración (ng/μl)	Absorción	
		A <sub>260/280</sub>	A <sub>260/230</sub>
<i>I. Mako</i>	177.2	1.97	1.73
<i>C. Limbatus</i>	138	1.93	2.38
<i>G. Cuvier</i>	58.3	1.96	2.41
<i>L. campechanus</i>	129.2	1.98	1.71
<i>S. Lewini</i>	26.3	1.35	1.42
<i>C. Falcimormis</i>	115.2	1.81	1.09
<i>C. Tiburo</i>	61.4	1.59	1.69
<i>C. Tiburo</i>	278.2	1.66	1.67
<i>C. Limbatus</i>	211.8	1.94	1.99
<i>C. Falcimormis</i>	126.1	1.83	1.06
<i>C. Leucas</i>	104.0	1.88	1.10
<i>C. Leucas</i>	190.8	1.93	1.18
<i>I. Mako</i>	269	1.98	1.55
<i>G. Cuvier</i>	44.9	1.96	1.42

En la tabla 5 se observan los resultados de las muestras obtenidas de la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México. Se procesaron muestras de carne de pescado para hacer ceviche, caldo, quesadillas, filete económico y filete para capear.

Tabla 5. Lecturas obtenidas para calidad tasas de A<sub>260/280</sub> y A<sub>260/230</sub> y concentración de ADN en muestras de pescado

Muestra	Concentración (ng/μl)	Absorción	
		A <sub>260/280</sub>	A <sub>260/230</sub>
1) Carne p/ceviche	141.5	1.94	1.36
3C) Filete económico B. Nilo	18.9	1.82	0.76
3B) Carne p/ceviche	77.9	1.98	1.78
2B) Filete p/capear	69.1	1.86	1.16
2A) Carne p/ceviche	64.2	1.87	1.16

Muestra	Concentración (ng/μl)	Absorción	
		A <sub>260/280</sub>	A <sub>260/280</sub>
3C) Carne p/caldo de pescado	28.1	1.92	1.46
4) Carne p/ceviche	18.9	1.89	1.04
5A) Carne p/ceviche	47.6	1.88	1.30
5B) Carne p/caldo de pescado	12.6	1.89	0.95
6A) Filete para capear	37.6	1.82	1.49
6B) Carne p/caldo Plateado	6.2	2.13	0.90
6D) Filete económico B del Nilo	5.9	1.72	0.62
7A) Carne p/ceviche	41.8	1.88	1.27
8A) Carne p/ceviche	68.9	1.79	1.57
7B) Carne p/quesadilla de pescado	5.1	2.07	1.81
6D) Filete blanco del Nilo	4.2	1.81	0.85
9) Salmón	55.3	1.91	1.97
8) Filete económico Bagre	45.67	1.97	2.15
C2) Caldo p/pescado	23.4	1.85	2.25
2A) Carne p/ceviche	88.12	1.94	2.11
3A) Carne p/ceviche	64.53	1.96	1.95
5B) Carne p/ceviche	70.65	1.97	2.01
2B) Filete económico (robalo)	52.54	1.88	2.13
3B) Filete económico (bagre)	67.65	1.80	2.12
6D) Filete económico (bagre)	79.2	1.96	2.03
8A) Filete económico (robalo)	15.79	1.76	1.88
CM3) Carne p/ceviche	68.91	1.88	1.96
CM4) Carne p/ceviche	88.3	1.92	1.89
CM5) Carne p/ceviche	100.1	1.77	1.85
6B) Carne p/caldo de pescado	89.9	1.98	1.99
1) Filete para capear	87.2	1.94	2.09
8B) Carne p/quesadilla de pescado	78,14	1.93	2.04
8C) Carne p/quesadilla de pescado	79.23	1.99	1.78
C2) Carne p/caldo de pescado	76.2	1.87	1.64
A1) Marlín	11.9	1.07	0.66
A2) Marlín	17.4	1.15	0.79
A3) Marlín	13.8	1.22	0.88
2A) Carne p/ceviche	69.2	1.97	1.78

Muestra	Concentración (ng/μl)	Absorción	
		A <sub>260/280</sub>	A <sub>260/280</sub>
4A) Carne p/ceviche	56.2	1.86	1.72
2B) Carne p/ceviche	33.4	1.89	2.13
FBI) Filete económico (robalo)	87.2	1.94	2.33
FE) Filete económico (bagre)	77.2	1.97	1.99
FE2) Filete económico (b. del nilo)	79.6	1.80	1.56
FE3) Filete económico (robalo)	15.2	1.79	1.75
FE4) Filete económico (bagre)	97.2	1.78	1.56
6B) Carne p/caldo de pescado	82.6	1.99	1.79
8C) Carne p/quesadilla de pescado	11.9	1.89	2.09
2) Filete para capear	41.6	1.90	2.09
6C) Carne p/caldo de pescado	109.2	1.88	1.76
6D) Filete económico (robalo)	77.9	1.76	1.88
3B) Filete económico (b. del nilo)	54.7	1.97	1.76
2A) Filete económico (bagre)	43.7	1.80	1.88
6) Filete económico (robalo)	32.9	1.77	1.78
8) Filete económico (b. del nilo)	45.7	1.76	1.89

Los valores obtenidos del ADN extraído de tejido de tiburón y pescado por el método de extracción por sales de Aljabani (2008), en la relación de la absorción  $A_{260/280}$  nm, fueron cercanos a 1.8 en las tres extracciones, lo que se considera, un ADN de pureza óptima, de acuerdo con Salamanca (2018). Por otro lado, siete muestras presentaron tasas  $\sim 1.7$ , lo que indica un ADN de pureza aceptable. Las concentraciones de ADN de las muestras de tiburón oscilaron entre 58.3 ng/μl y 278.2 ng/μl. Las concentraciones de ADN de las diversas muestras de la Central de Abasto de Pescados y Mariscos presentaron una relación 260/280 mayor a 1.7. Ambos resultados fueron parecidos a los del trabajo realizado por García y colaboradores (2006) en la que se menciona que las relaciones  $A_{260/280}$  mostraron valores aparentemente normales (entre 1.81 y 2.15), con un promedio de 1.96 y la curva del espectro de absorción entre 220 y 320 nm fue normal.

No se logró obtener ADN de buena calidad de ocho muestras de productos de pescado en las relaciones  $A_{260/280}$  (entre 0.66 a 0.95) principalmente de filete ahumado y filete de blanco del Nilo. No se sabe con exactitud qué sucedió, en estos casos; se desconoce si la carne de pescado era fresca o congelada y las condiciones de preservación en los puntos de venta, lo cual podría degradar el ADN (Holmes *et al.*, 2009). Además, los productos ahumados pueden estar sujetos a tratamientos térmicos, alta presión, modificaciones de pH, radiación, entre otros, lo que puede afectar de forma negativa la obtención de ADN preservado, como se menciona en el trabajo de Teletchea y colaboradores (2005).

También en algunas de las muestras de filete económico, en especial las de Blanco del Nilo, la extracción fue complicada debido a que al intentar homogenizar el tejido sólo se obtuvo una especie de grasa o material con una textura muy parecida a la manteca de cerdo, por lo que la extracción de ADN en estas muestras no fue de óptima calidad.

### 10.3 Resultados de la PCR de punto final

Los resultados obtenidos de la prueba para evaluar los oligonucleótidos universales para condriictios mostraron amplicones muy parecidos a los reportados en otros estudios sobre algunas familias de tiburones (Jiménez, 2015; Hidalgo, 2013).

El tamaño de los amplicones generados por los oligonucleótidos universales para condriictios correspondió a lo esperado, como se observa en la tabla 1.

#### 10.3.1 Carne de pescado para hacer ceviche

Las muestras de carne de pescado para hacer ceviche no presentaron una morfología uniforme (figura 22). Por el contrario, parecen ser restos mezclados de diversos pescados, lo que hace difícil distinguir la variedad del producto y las diversas

texturas del tejido. Por lo anterior, la extracción de ADN fue complicada, debido a que se tuvo que hacer una muestra compuesta (se tomaron 200 mg en total de carne de pescado de diferentes partes de la muestra, considerando el cambio de coloración y la textura. El tejido se homogenizo de forma mecánica para la obtención de la muestra).

En cuanto a los resultados de la PCR, los oligonucleótidos universales para condrictios (FISH5.8SF y FISH28SR) generaron amplicones en 12 muestras, y no se presentaron bandas en productos de osteíctios. Considerando esto, se distinguieron las muestras de carne para hacer ceviche de pescado de la carne de tiburón.



Figura 22. Muestra de carne para hacer ceviche comprada en la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México

En las figuras 23A y B se muestra los amplicones generados con muestras de ceviche y los oligonucleótidos universales en gel de agarosa. Los resultados de las muestras CE1, CE2, CE3, CE5 C9 y C10 presentaron bandas de aproximadamente 1470 pb, correspondientes a lo esperado para los tiburones de la familia de Carcharinidae, (tiburón toro, poroso, sedoso y volador) según Pank y colaboradores (2001) y las muestras C11 y C12 (1450 pb) concordaron con el tamaño esperado para la especie *Galeocerdo cuvier* (Magnussen *et al.*, 2007), cabe mencionar que los resultados obtenidos son similares a los reportados en el trabajo de Hidalgo (2013) sobre productos pesqueros mal etiquetados. Las muestras C7 y C8 no amplificaron lo que sugiere que corresponden a muestras de alguna especie osteíctia.

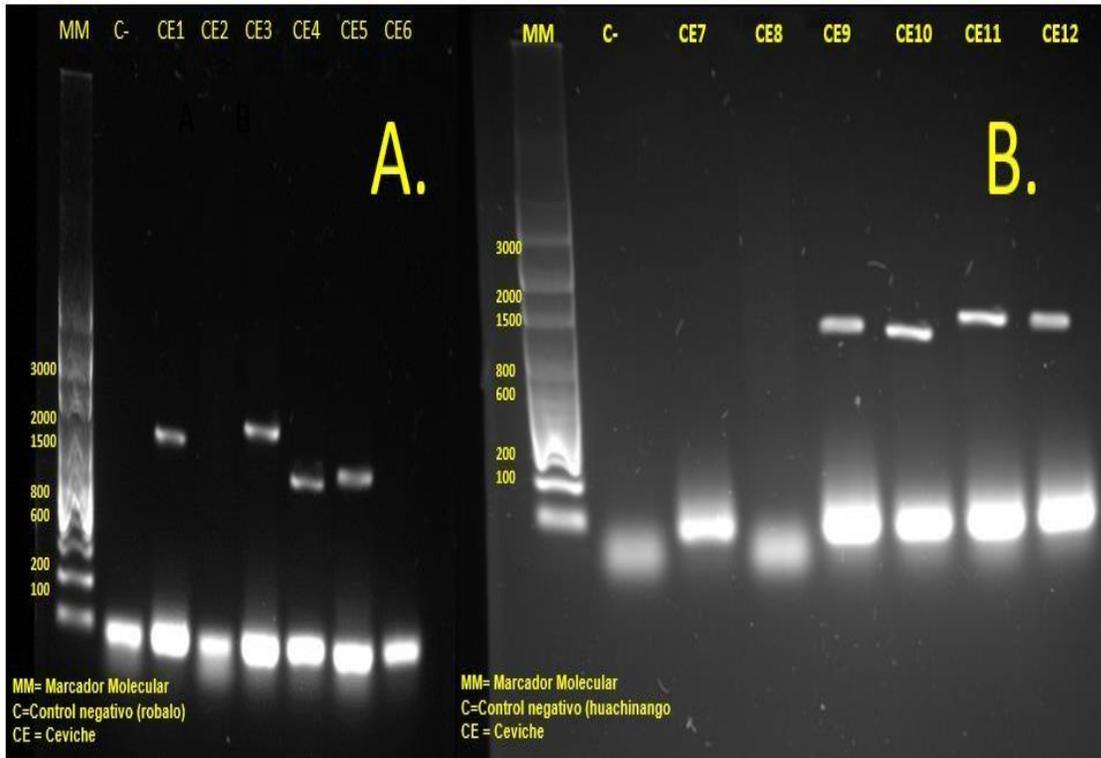


Figura 23. A Producto de la PCR de la muestra 1 a 6 de carne para hacer ceviche y figura B. producto de la PCR de la muestra 7 a 12

La figura 24 corresponde a los resultados obtenidos de los productos 13 a la 18. Cuatro muestras revelaron bandas que se identificaron como pertenecientes a la familia Carcharinidae con amplicones de 1470 pb. En el estudio de Jiménez (2015) se obtuvieron resultados similares en la identificación de especies de pescado sustituidas por tiburón.

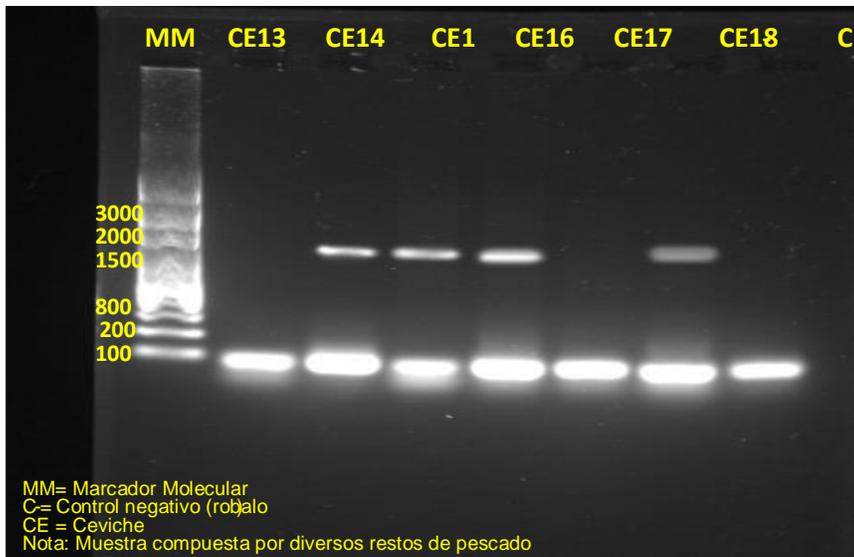


Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de los productos de las muestras de carne para hacer ceviche, muestras 13 a la 18

De las 17 muestras de carne de pescado para hacer ceviche, que se analizaron mostraron 12 amplificaciones. Estas muestras revelaron que sólo 33% es de algún tipo de pescado. Las pruebas genéticas realizadas mostraron que 67% de las muestras no era pescado para ceviche, si no carne de diferentes especies de tiburones, en especial de Carcharinidae (56%), como se muestra en la figura 25.

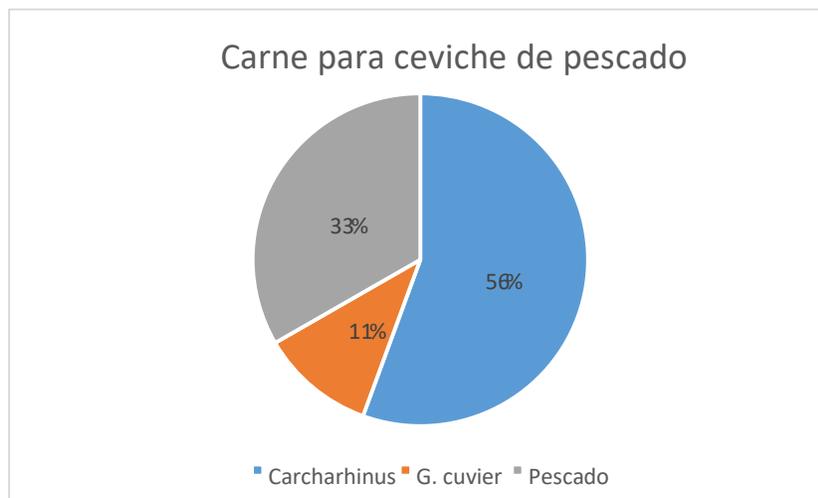


Figura 25. Proporción de los resultados de identificación genética para el caso de las muestras de carne de pescado para hacer ceviche

### 10.3.2 Filete económico

Las muestras de filete económico vendido como filete de diversos pescados no mostraron algún patrón morfológico que permitiera diferenciarlas de la carne de tiburón (figura 26). El análisis genético en contraste, mostró ser una técnica eficiente, versátil y fácil de usar para la identificación rápida de productos pesqueros (Shijvi *et al.*, 2002; Abercrombie *et al.*, 2005).



Figura 26. Muestras de filete económico vendido como diversos tipos de pescado la foto A. muestra el filete de robalo; B. filete de blanco del Nilo; C. filete de bagre. Al estar rebanado el producto, es difícil diferenciar de carne de tiburón

En el resultado de la prueba la PCR de 16 muestras de filete económico (figura 27) se observó amplificación en los ejemplares FE1, FE2, FE3 y FE5, y ausencia de bandas en el resto de las muestras, así como en el control negativo (huachinango y robalo), se optó por estas dos especies porque son las más comercializadas por su precio y demanda. Las bandas observadas coincidieron con lo esperado para miembros de la familia Carcharinidae con amplicones de alrededor de 1470 pb (Jiménez, 2015). La muestra FE3 generó dos amplicones distintos, uno de 1470 pb perteneciente a la familia Carcharinidae y otro de ~300 pb. Dicho resultado puede deberse a polimorfismos

y se recomienda hacer una secuenciación posterior de esta muestra para obtener más información.

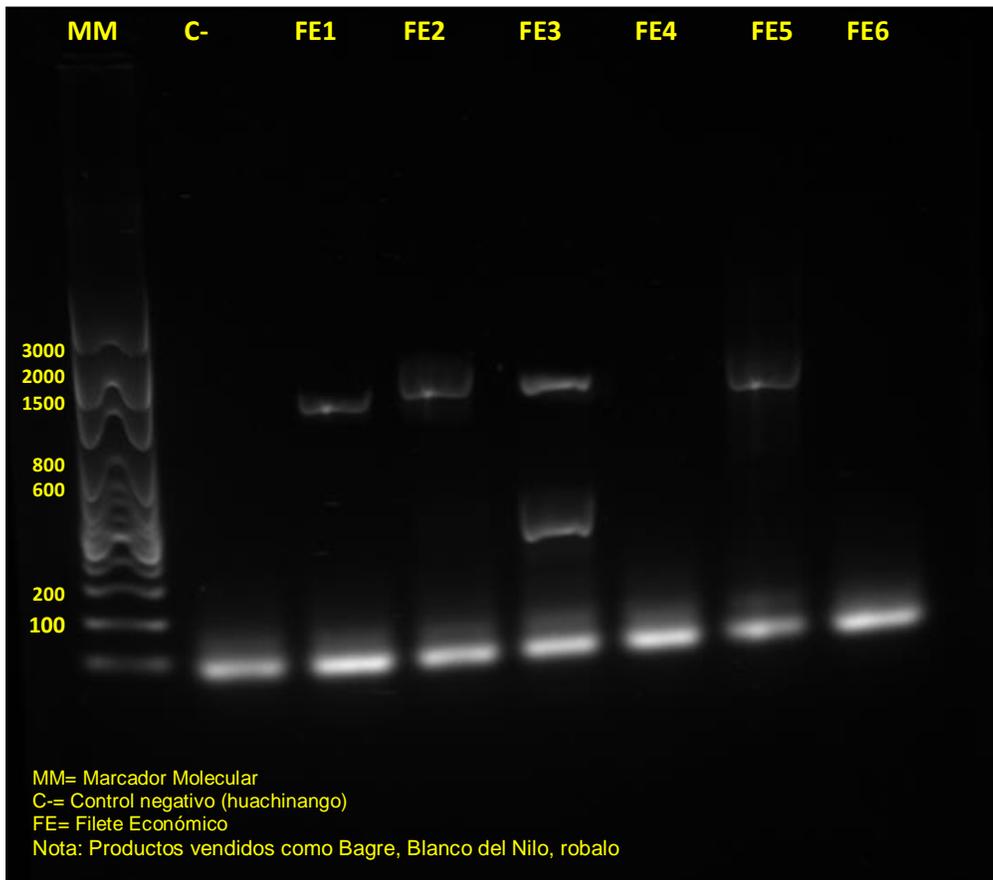


Figura 27. Amplificación de productos de la PCR de la muestra 1 a 6 de filete económico

La figura 28 muestra los resultados de las muestras siete a 10 de filete económico. Se pudo observar producción de amplicones de 860 pb, similares a los de las muestras de tiburones de la familia de Sphyrna. Estos resultados concuerdan con los registrados por Hidalgo (2013). Es posible que los oligonucleótidos utilizados generen más de una banda por similitud entre las secuencias de los oligonucleótidos y otras regiones del genoma mitocondrial o nuclear (Cornejo *et al.*, 2014)

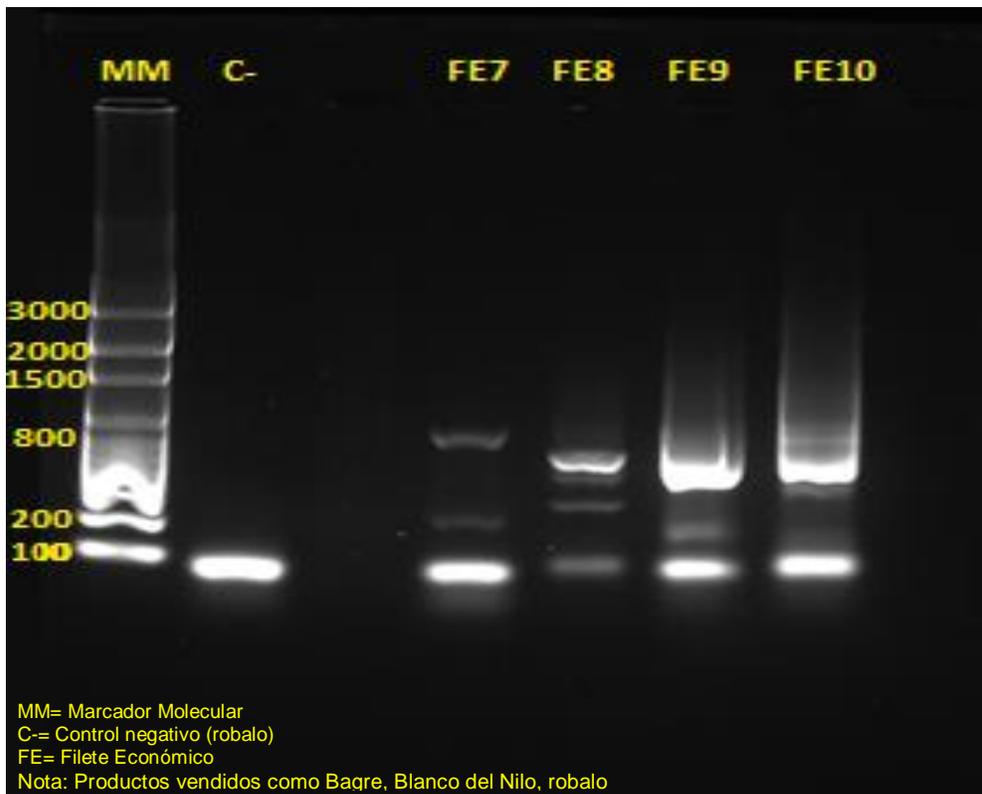


Figura 28. Producto de la PCR de la muestra 7 a 10 de filete económico

En la figura 29 se muestran los productos de la amplificación de la PCR usando los oligonucleótidos universales para condricios. Las muestras FE11, FE13 y FE15 presentaron bandas similares a las esperadas para miembros de la familia Carcharinidae (1470 pb), la muestra FE12 tuvo amplificación parecida a la especie *Galeocerdo cuvier* (1450 pb) y la muestra FE16 obtuvo amplificación similar a la especie *I. Oxyrinchus* (1350 pb). En las muestras 11 a 16 de filete económico se obtuvo amplificación coincidente con dos especies de tiburón, Tigre y Mako.

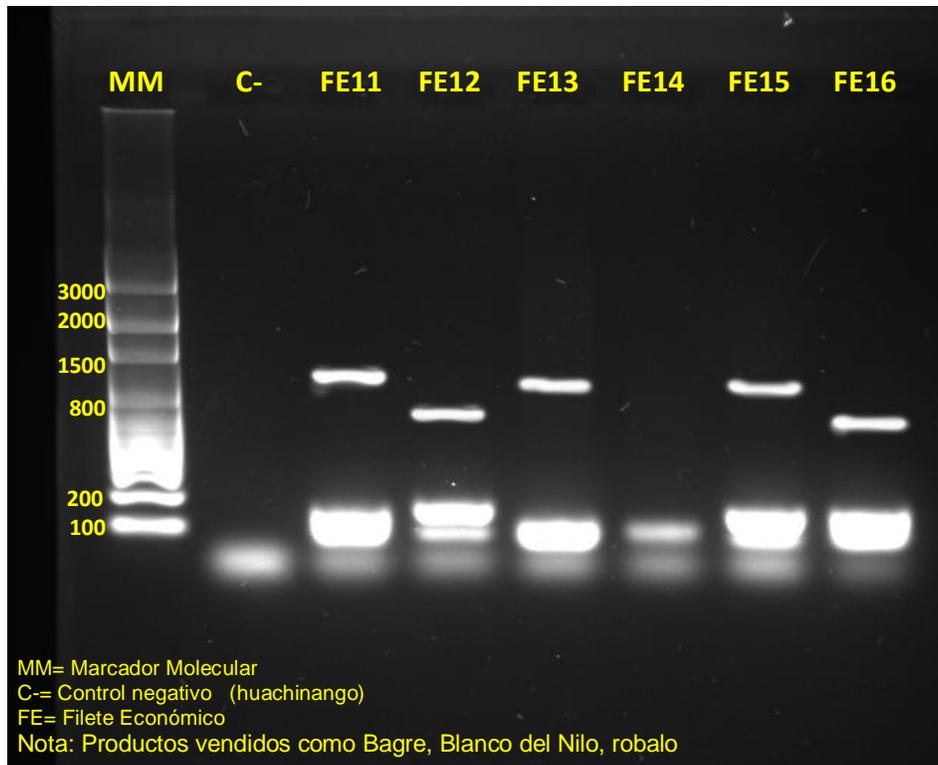


Figura 29. Electroforesis de ADN de muestras de filete económico (muestras 11 a 16)

Las muestras de filete económico (vendidas bajo los nombres Blanco del Nilo, Bagre y Robalo) generaron amplicones parecidos a los de miembros de las familias Carcharinus y Sphyrnae y las especies *I. Oxyrinchus* y *G. cuvier* (los porcentajes de sustitución fueron 44, 25, 6 y 6, en dicho orden). Sólo el 19% de las muestras de filete económico correspondieron con especies osteíctias (figura 30).

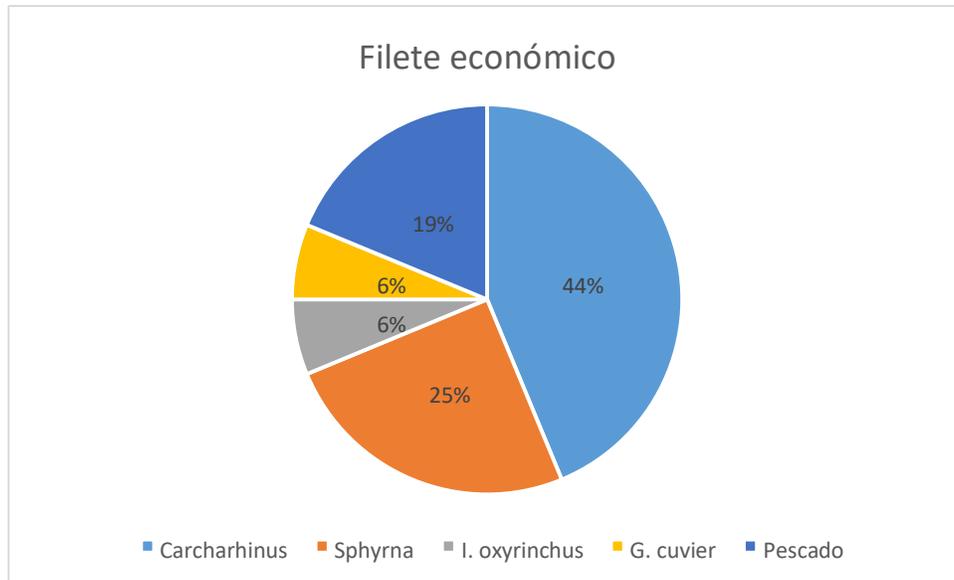


Figura 30. Identificación genética de muestras de filete económico

### 10.3.3 Filete de pescado ahumado

Se obtuvieron muestras de filete ahumado (figura 31), el cual sólo se vende por kilo en cinco establecimientos y su costo es alto. No se logró obtener ADN de buena calidad, lo cual es un problema común cuando se realizan estudios genéticos con este tipo de muestras, debido a que al extraer ADN de productos antiguos y altamente procesados es difícil (Alacs *et al.*, 2009), ya que su manipulación provoca la degradación o la contaminación de los ácidos nucleicos (Holmes *et al.*, 2009).



Figura 31. Muestra de filete ahumado de Marlín

Se analizaron tres muestras de carne de pescado marlín ahumado; ninguna dio resultados positivos probablemente debido a la presencia de moléculas provenientes del mismo proceso para ahumar, capaces de interferir con las reacciones de la prueba PCR, lo que contribuye a la obtención de ADN preservado (figura 32), sin embargo, no se puede descartar la sustitución en este tipo de productos.

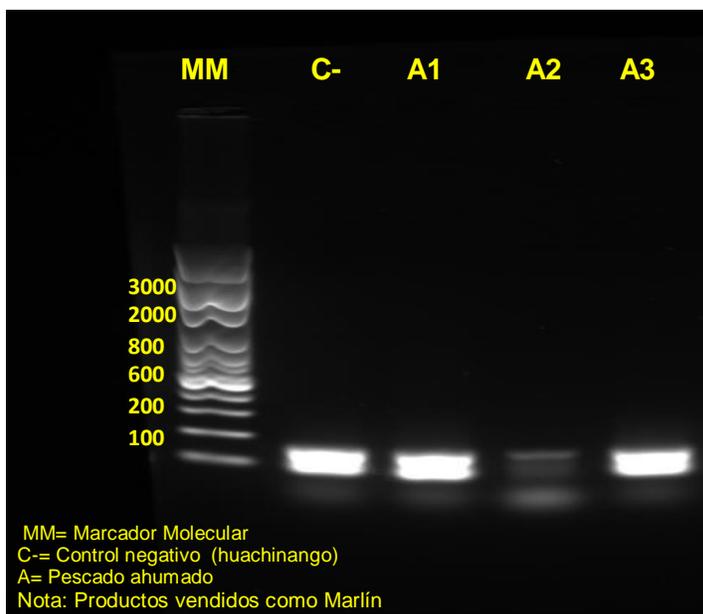


Figura 32. Electroforesis de ADN de muestras de filete ahumado

#### 10.3.4 Filete de pescado para capear

En la figura 33 se observan las muestras de pescado para capear. Éstas se venden como filetes delgados alargados que se utilizan para comercializarlos en las pescaderías como pescados empanizados fritos. A pesar de que los filetes muestran músculos grandes, lo cual es característico de peces de gran tamaño, no se obtuvo amplificación positiva en el análisis de la PCR (figura 34).

Desafortunadamente sólo se contó con cuatro muestras que se adquirieron en el último muestreo y no estaban originalmente dentro del anteproyecto. Por lo que no se puede asegurar que no haya sustitución en este producto. Se incluyó este producto en sustitución de la carne para ceviche, debido a que ésta no siempre se encontraba

disponible y varios comerciantes de la Central de Abasto refirieron que es el mismo producto que se utiliza para hacer el ceviche.



Figura 33. Muestra de filete para capear comprada en la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México

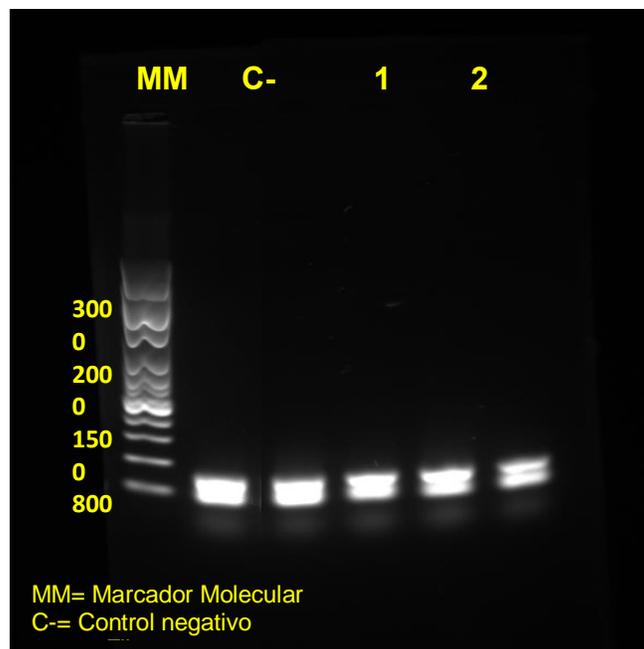


Figura 34. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de muestras de carne de pescado para capear

### 10.3.5 Carne de pescado para hacer caldo

Cincuenta por ciento de las muestras de este producto presentó amplificación. Los ejemplares cuyas características morfológicas no permitieron determinar el tipo de pescado (pechuga de pescado y carne con cartílago) dieron resultados positivos, mientras que, las cabezas de pescado o los restos de algún osteíctio generaron resultados negativos (figura 35).

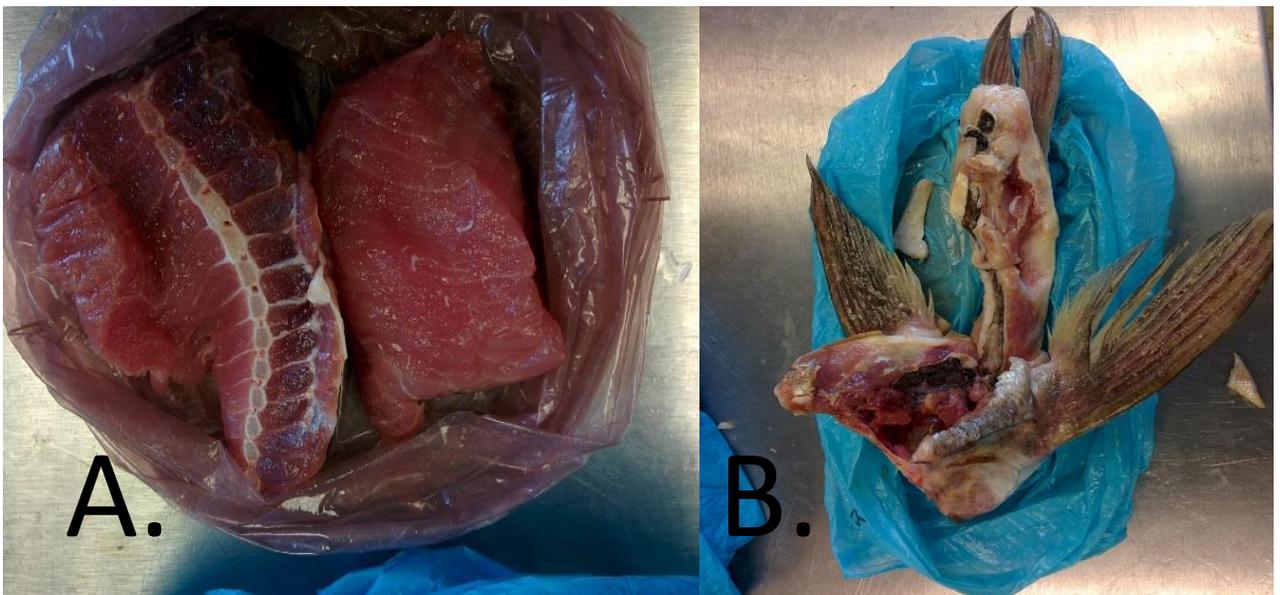


Figura 35. Muestra de carne para hacer caldo de pescado (pechuga de pescado); figura B. (restos de un pescado).

Se analizaron seis muestras de carne de pescado para hacer caldo. En la figura 36 se observan los resultados de la prueba de la PCR de tres muestras, P/C1, P/C5 y P/C6. Éstas mostraron amplicones muy parecidos a los de las familias Carcharinidae 1470 pb y Sphyrna 830 pb.

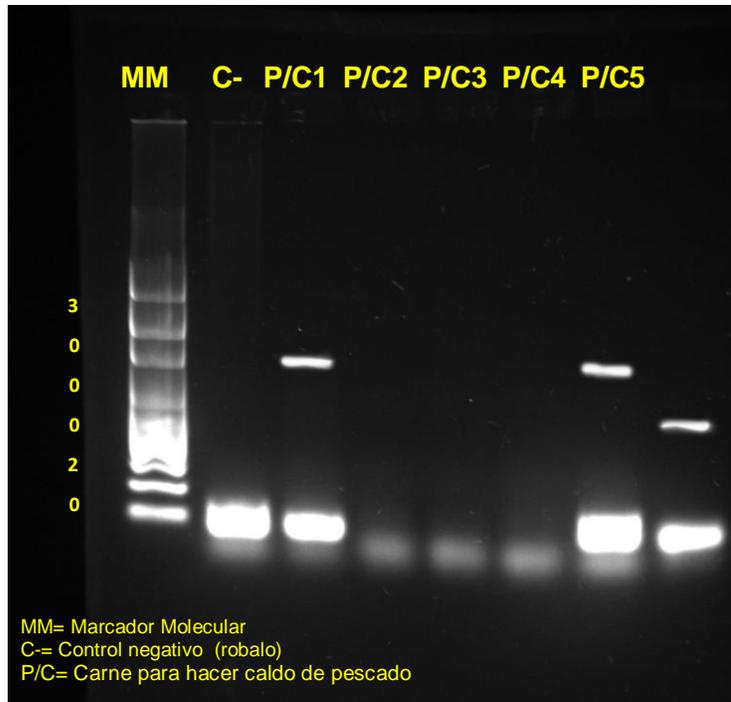


Figura 36. Electroforesis en gel de agarosa al 1%. Muestras de carne para caldo de pescado

En la figura 37 se observa la proporción de muestras pertenecientes a las familias de tiburones Carcharinidae y Sphyrna con amplicones de 1470 y 860 pb. Cincuenta por ciento de las muestras resultaron pertenecer a alguna especie osteíctia.

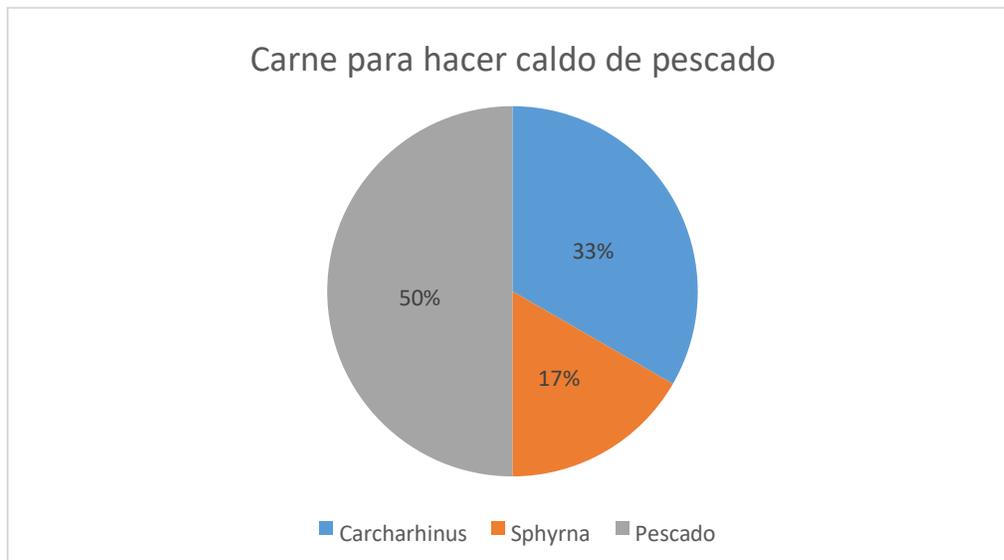


Figura 37. Resultados de la PCR en porcentaje de los resultados obtenidos de las muestras de carne para para caldo de pescado

### 10.3.6 Carne de pescado para hacer quesadillas

Las muestras de este producto consistieron en carne de pescado rebanada en pequeños trozos (figura 38), por lo que se utilizó una muestra compuesta para la extracción de ADN.



Figura 38. Muestra de carne para hacer quesadillas de pescado, como se aprecia el tejido de diversos pescados

Los resultados de los amplicones de los productos de carne de pescado, para hacer quesadillas se muestran en la figura 39. Los ejemplares que generaron amplicones fueron P/Q1, P/Q4, P/Q5 y P/Q6. Los resultados de las muestras P/Q1 y P/Q4 mostraron bandas correspondientes a los esperados para la familia Carcharinidae (1470 pb) y las muestras P/Q5 y P/Q6 generaron bandas parecidas a las que se generan para los miembros de la familia Sphyrna (860 pb).

Los productos adquiridos no presentaron rasgos morfológicos representativos que los distinguieran de la carne de los tiburones, puesto que todos los productos pesqueros analizados estaban procesados (fileteados). Todas las muestras se obtuvieron frescas.

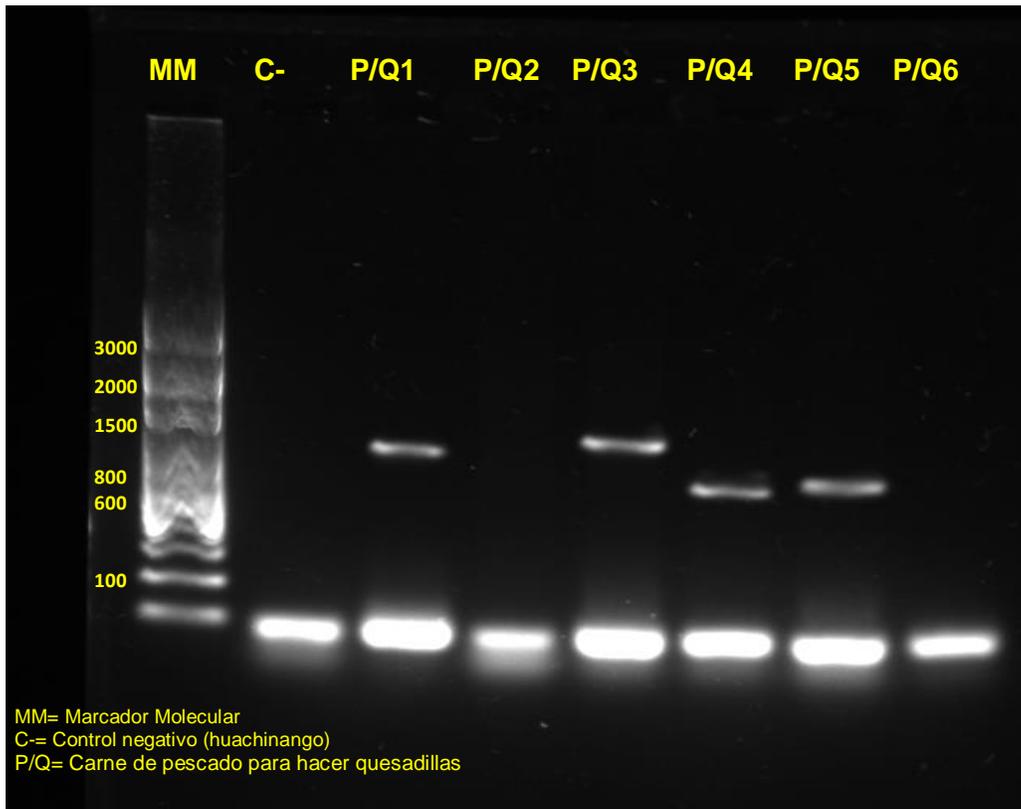


Figura 39. Electroforesis de ADN de carne para hacer quesadillas de pescado

Los resultados de las muestras de carne para hacer quesadillas muestran que el 34% pertenecen a *Carcharinus*, 33% a especies de *Sphyrna* y 33% a especies osteíctias (figura 40).

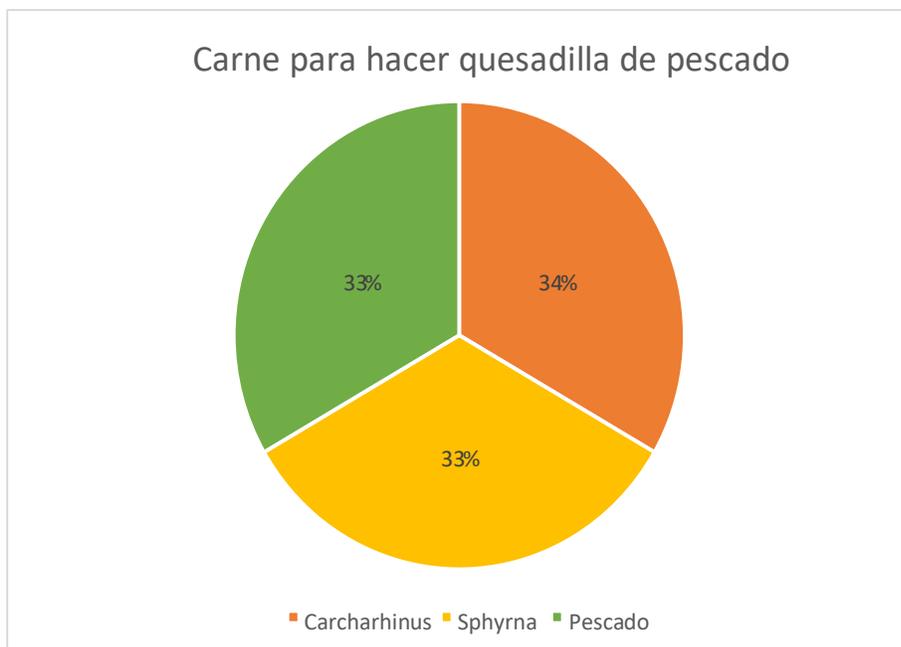


Figura 40. Resultados de la PCR en porcentaje de los resultados obtenidos de las muestras de carne para quesadillas de pescado

De acuerdo con los resultados obtenidos, utilizando los oligonucleótidos universales que amplifican la región ITS2, la identificación de productos comerciales de pescado que son sustituidos por tiburón es rápida y eficiente, puesto que en una sola reacción de la PCR se pueden diferenciar e identificar simultáneamente varias especies, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Hidalgo (2013).

De 53 muestras de productos vendidos como pescado (12 de carne de pescado para hacer ceviche, 13 de filete económico, 3 de carne para capear, 4 de carne para hacer quesadillas) 32 muestras resultaron ser de condriictios. Esto indica que en 60.37% de las muestras tuvo amplificación para alguna especie de tiburón por lo que hubo sustitución de productos pesqueros por carne de tiburón.

#### 10.4 Comercio y consumo

Se deben tomar en consideración los siguientes aspectos económicos en el comercio de productos pesqueros: de acuerdo con el Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados (SNIIM, 2017), el precio del tiburón sin cabeza en la Central de Abasto de Pescado y Mariscos de la Ciudad de México oscila entre \$64.00 y \$69.00, fresco o congelado. Es conveniente señalar que éste es vendido como carne de pescado de mayor costo, lo cual aumenta las posibilidades para este tipo de fraude.

Se debe considerar que la carne de tiburón tiene una textura más dura que la de otros peces (Sanz y Cadena, 2007), en consecuencia, los restaurantes prefieren esta carne para las recetas de pescado empapelado o asado, puesto que se manipula y cocina con mayor facilidad (Dizon *et al.*, 2000).

Otros productos que tuvieron elevado porcentaje de sustitución fueron la carne para hacer ceviche y la carne para hacer quesadillas (70 y 67%, respectivamente). Éstos últimos son productos que se entregan al consumidor procesados, la presentación de ambos es carne de pescado cortada en trozos pequeños o hasta incluso molidos, lo que dificulta la extracción de ADN de buena calidad y conocer el estado en que se encuentra la muestra (fresca o en proceso de descomposición), lo que complica la identificación en este tipo de productos.

Existe una gran variedad en la oferta de carnes para hacer caldo de pescado. Entre las opciones se encuentra la pechuga de pescado (pedazos de carne con cartílago). Todas las muestras musculares de este producto resultaron ser tiburón, sin embargo, las muestras con rasgos identificables no generaron amplicones en las reacciones de la PCR. Esto demuestra la importancia de comprar productos pesqueros que sean fáciles de identificar morfológicamente (cabeza, aletas, esqueleto, escamas, etc).

La discrepancia entre el precio de la carne de tiburón y el de las especies por las que se sustituye es evidente y la sustitución favorece económicamente a los vendedores, pero perjudica a los consumidores al ser defraudados por obtener productos sustituidos. Sin embargo, independientemente de los aspectos económicos, este estudio sugiere

que podrían presentarse problemas para la salud humana debido al contenido de MeHg en la carne de tiburón que se consume en sustitución de productos de pescado.

### 10.5 Salud

La carne de tiburón ha resultado ser una fuente barata de proteínas para comunidades costeras dependientes de la pesca para su subsistencia (Vannuccini, 1999). Por esto, la FAO, dentro de su Plan de Acción para la Conservación y Ordenación de los Tiburones, considera el aspecto nutricional y socioeconómico, y reconoce que en algunas regiones la pesca del tiburón es una fuente importante de alimento, empleo e ingresos (Aguilar *et al.*, 2005). Por esto, propone una pesca sostenible para no perjudicar a dichas regiones y ayudar a la recuperación de las poblaciones de tiburones.

Atendiendo a lo anterior no se puede comparar la ayuda económica al pescar tiburones y autoconsumo con los costos de salud para atender enfermedades ocasionadas derivados de dicho consumo, ya que este último es elevado.

En 2001, la *Food and Drug Administration* (FDA; por sus siglas en inglés) publicó una alerta al consumidor sobre el mercurio en el pescado, donde recomendaba evitar las cuatro especies de peces más contaminados (tiburón, pez espada, caballa y blanquillo). Es evidente, que la exposición al mercurio depende del pescado que se elige para consumir y se puede exceder la dosis segura en alimentos al consumir pescados con alto contenido de metilmercurio de manera frecuente (USEPA, 2001).

Actualmente, existen calculadoras de exposición de mercurio en Internet para las personas que quieran calcular su propia exposición, con base en los tipos y porciones de pescado que consumen,

<http://www.obfocus.com/calculators/Mercury%20Calculatores.htm>

## Aspectos ecológicos

La conservación de los tiburones es fundamental debido a que regulan poblaciones de peces que se alimentan de una gran cantidad de organismos marinos de importancia ecológica y económica. La técnica molecular de la PCR con oligonucleótidos basados en regiones ITS2 del ADN resulta ser una herramienta válida porque puede ayudar a la identificación de especies de tiburón capturadas y contribuirá a la generación de bases de datos que ayuden a la implementación del plan de conservación para esta especie.

Con la identificación molecular por la PCR, se demostró que la mayoría de los tiburones encontrados para su venta en la Central de Abastos de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México se catalogan como especies pelágicas. Esto indica que la pesca no sólo se está realizando en aguas costeras sino también en mar abierto (Godin y Moran, 2011). Los pescadores tienden a ir más lejos para capturar suficiente mercancía y así costear sus operaciones (Swing, 2011). Una investigación llevada a cabo por Martínez y Galván (2007), indicó que por lo menos 10 especies de tiburones pelágicos estaban presentes en el comercio de la región de Manta, Ecuador ya que no suelen registrar todos los tiburones capturados, aunque esto sea requisito para su comercialización.

Los amplicones de las muestras que dieron positivo en la sustitución por tiburón fueron muy similares a los generados por miembros de las familias Carcharinidae (21 muestras), Sphyrnidae (7 muestras), de la especie *Galeocerdo cuvier* (3 muestras) y de la especie *Isurus oxyrinchus* (una muestra).

A nivel mundial la pesca de tiburón sigue sin ser regulada, no es monitoreada, ni gestionada. Por lo que se han identificado complicaciones de salud en las poblaciones de tiburón y en los ecosistemas marinos donde ellos habitan, lo que ha ocasionado la preocupación internacional para hacer frente a los problemas relacionados con la explotación de tiburón (Shivji *et al.*, 2002). Desde hace 20 años, se ha tenido conocimiento de la disminución de poblaciones de tiburones, lo cual se puede deber a

la sobrepesca, a la mortalidad natural o, a las prácticas de aleteo (el cercenamiento y la retención de aletas de tiburón y el descarte del resto del cuerpo al mar). Atendiendo a esta consideración, los temas de conservación implícita en el manejo de las especies de peces comercializadas (especialmente especies amenazadas, en peligro o en su defecto, en el caso de especies desconocidas que están siendo diezmadas) emergen como una gran preocupación (Ward *et al.*, 2008; Wong y Hanner 2008; Holmes *et al.*, 2009).

En cuanto a normatividad en México en materia de protección, se tiene la Norma Oficial Mexicana 059, la cual sólo considera dos tiburones en estatus de peligro de extinción (peregrino y blanco) y uno en estatus de amenaza (tiburón ballena), (SEMARNAT, 2010).

## 10.6 Riesgo a la salud

### 10.6.1 Encuesta

Los resultados de las encuestas aplicadas se almacenaron en una base de datos, de la cual se obtuvieron los siguientes valores (tabla 6).

Tabla 6. Resultados de las encuestas aplicadas a jefes de familia de diversas delegaciones y municipios en la Ciudad de México y Estado de México

Población	Número de personas evaluadas	Edad años	Peso corporal (Kg)	Promedio de la tasa de ingesta (g/mes)	Promedio de hábitos de consumo al mes
Hombres	546	15-59	73.44	262.60	2.6 veces
Mujeres	613	12-43	61.04	194.30	2.3 veces
Niños	421	0-14	34.94	188.17	1.3 veces
Tercera edad	396	60-100	68.85	193.38	2.1 veces

Los resultados de la tabla 8 representan los hábitos de consumo de la muestra poblacional, mismos que se utilizaron para el análisis de riesgo. Se aplicaron un total de 777 encuestas a jefas de familia. El número total de personas incluidas en las encuestas fue de 1976, donde los hombres resultaron ser los que consumen carne de pescado con mayor frecuencia (2.6 veces/mes) y en mayor cantidad con 262.60 g/mes, cantidad que resulta mayor que el consumo calculado por CONAPESCA (2006) el cual fue de 120 g/mes; la sección de población analizada que consume menor cantidad y con menor frecuencia son los niños (188.17 g/mes). Aunque los niños consumen en menor cantidad este producto, al estar dentro de la población sensible tienden a ser más propensos a los efectos adversos del metilmercurio.

#### *10.6.2 Hábitos de consumo, modelación de la dosis de metilmercurio y estimación de riesgo a la salud por consumo no intencional de carne de tiburón*

Para analizar el riesgo a la salud por consumo no intencional de tiburón, es relevante señalar que el tiburón es un depredador tope que tiende acumular mayor cantidad mercurio (Zamora-Arellano *et al.*, 2018) al tener tasa de crecimiento lento; por lo tanto, tienen un largo período de exposición a contaminantes (Chavez Sánchez *et al.*, 2008), de ahí la necesidad de realizar más estudio de riesgo.

La estimación de los hábitos de consumo de las personas encuestadas (figura 41), indicaron que la población adulta analizada tiene como preferencia el filete de pescado (56%), y que el pescado ahumado es el menos consumido (8%).

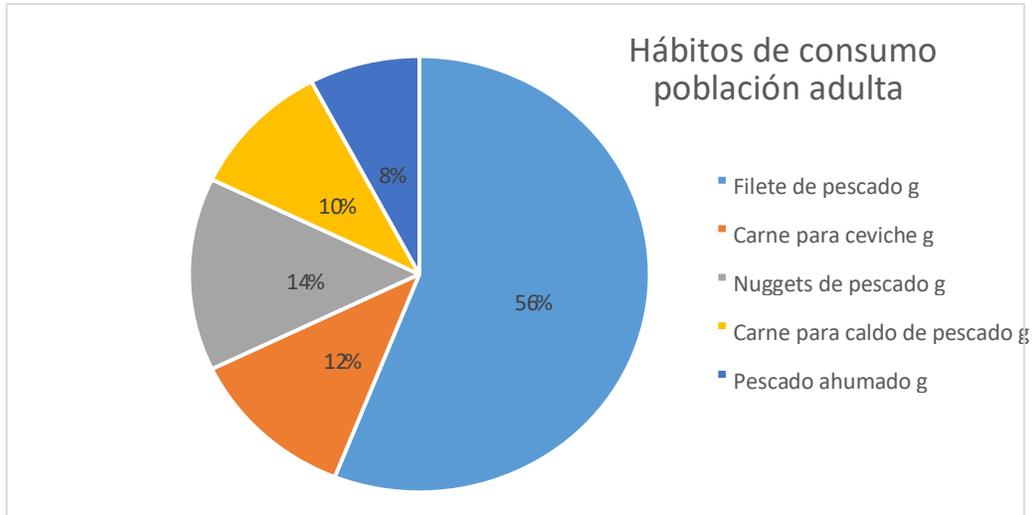


Figura 41. Hábitos de consumo de la población adulta muestreada

Para la muestra de la población sensible, los resultados en cuanto a preferencia de consumo de los productos pesqueros fueron los siguientes filetes de pescado con 31%; los nuggets de pescado con 18%, al igual que la carne para hacer ceviche; 17% para la carne para hacer caldo de pescado; y el pescado ahumado, que es el menos consumido, con 16% (figura 42).

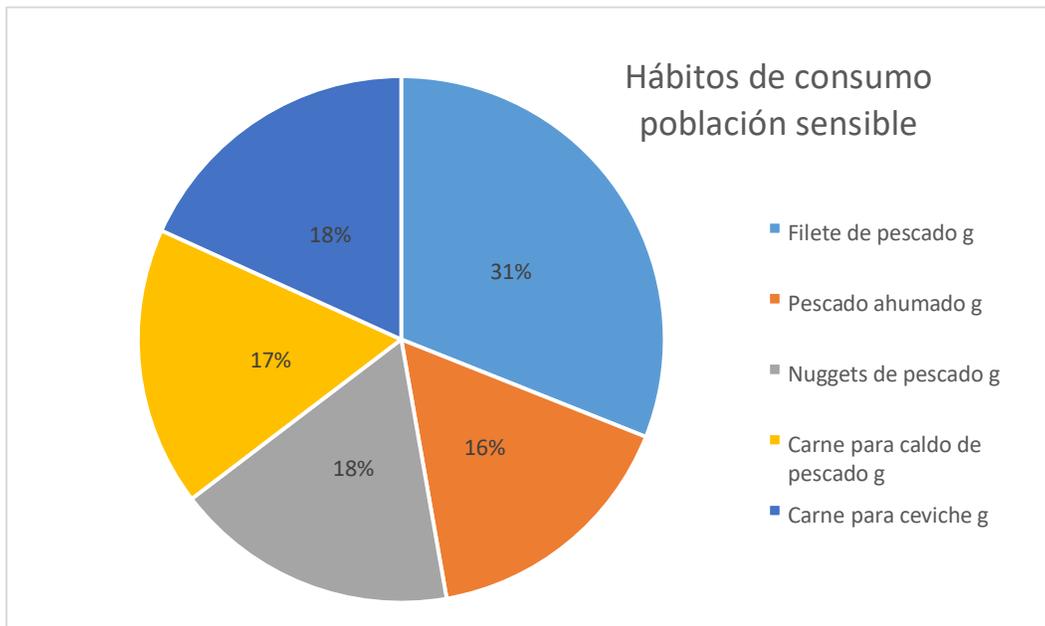


Figura 42. Hábitos de consumo para la población sensible muestreada

Se obtuvieron valores para el consumo de nuggets de pescado, pero en el análisis genético se descartó esta muestra pues no se vende este producto en la Central de Abasto de Pescados y Mariscos de la Ciudad de México.

Los parámetros que se muestran en la tabla 7 fueron obtenidos de las encuestas realizadas y se usaron para la modelación de la dosis diaria de metilmercurio ingerida por cada grupo poblacional de las personas encuestadas por consumo no intencional de tiburón.

Tabla 7. Promedios de los parámetros usados para el cálculo de riesgo por consumo no intencional de tiburón, de la muestra analizada de la Ciudad de México y el Área Metropolitana

<b>Parámetro</b>	<b>Población</b>	<b>Duración</b>	<b>Valor</b>
Peso corporal	Hombre	NA	73.4 Kg
	Mujeres	NA	61.0 Kg
	Niño	NA	34.9 Kg
	Bebé	NA	10.6 Kg
Tasa de ingesta (pescado)	Hombre	Crónica	262.6 gr
	Mujer	Crónica	194.3 gr
	Niño	Crónica	188.1 gr
	Infante	Crónica	85.2 gr
Hábitos de consumo	Hombre	Mes	2.6 veces/mes
	Mujeres	Mes	2.3 veces/mes
	Niño	Mes	1.3 veces/mes
	Infante	Mes	2.1 veces/mes
Esperanza de vida	Mujeres	NA	78 años
	Hombres	NA	73 años

Crónica: es la exposición al MeHg que dura entre 10 y 100% del tiempo de vida

NA: No aplica

En la tabla 8 se muestra la dosis diaria promedio calculada para las concentraciones mínima, promedio y máximo de metilmercurio se muestran en la tabla 10, los varones están expuestos a una dosis diaria máxima y promedio que superan la dosis de referencia permitida; más aún, en la concentración alta de metilmercurio (3.33 mg/Kg) la dosis diaria es de 0.0021 mg/Kg-día superando en siete veces la dosis de referencia.

Las mujeres en edad reproductiva se encuentran expuestas a una dosis mínima que no supera la dosis de referencia permitida; sin embargo, en la concentración de metilmercurio promedio (2.43 mg/Kg) la dosis diaria es de 0.0014 mg/Kg-día superando en 14 veces la dosis de referencia; en la concentración máxima la dosis diaria es de 0.0019 mg/Kg-día superando la misma por 19 veces.

Para los niños la dosis diaria a la que se encuentran expuestos en las tres concentraciones de metilmercurio supera la dosis de referencia, en la concentración de metilmercurio mínima (0.27 mg/Kg) la dosis diaria es 0.0003 mg/Kg-día, superando tres veces la dosis de referencia; en la concentración promedio de metilmercurio, la dosis diaria es 0.00023 mg/Kg-día superando en 23 veces la dosis de referencia y en la concentración máxima de metilmercurio, la dosis diaria es 0.00032 mg/Kg-día superando en 32 veces la dosis de referencia.

Las personas de la tercera edad están expuestos a una dosis diaria, considerando la concentración mínima, que no supera la dosis de referencia permitida; sin embargo, en la concentración promedio de metilmercurio, la dosis diaria es de 0.0012 mg/Kg-día superando en 12 veces la dosis de referencia y en la concentración alta, la dosis diaria es de 0.0017 mg/Kg-día superando la de referencia 17 veces.

Lo anterior, se refiere a las dosis a las que las personas se encuentran expuestas, de acuerdo con sus hábitos de consumo en toda su vida; lo que significa que se considera que la salud de las personas encuestadas se encuentra en riesgo alto por el consumo no intencional de carne tiburón, aun cuando se consideran las concentraciones bajas de metilmercurio en carne de tiburón.

Tabla 8. Dosis diaria promedio de metilmercurio y dosis de referencia para diferentes grupos poblacionales

Población	Dosis diaria promedio			Dosis de referencia
	[0.27 mg/Kg] metilmercurio	[2.43 mg/Kg] metilmercurio	[3.33 mg/Kg] metilmercurio	mg/Kg metilmercurio
Hombres	0.0002	0.0015	0.0021	0.0003
Mujeres	0.0001	0.0014	0.0019	0.0001
Niños	0.0003	0.0023	0.0032	0.0001
Tercera edad	0.0001	0.0012	0.0017	0.0001

Estos resultados nos muestran que cada vez que se consume algún producto pesquero como los del presente estudio, en el que no se conoce con certeza la identidad de la especie, se puede presentar un riesgo a la salud, al superar la dosis de referencia permitida para metilmercurio en peces.

Para obtener el número máximo permitido de porciones de pescado que se puede consumir sin causar algún efecto adverso a la salud, se utilizaron las ecuaciones descritas en el capítulo 9 (USEPA, 2008); para la población sensible la ecuación 3 y 4 y para población adulta las ecuaciones 5 y 6. Lo anterior se calculó para cinco diferentes productos o presentaciones de pescado (carne de pescado para hacer ceviche, para caldo, para hacer quesadillas, filete ahumado, filete económico y filete para empanizar o capear).

Tomando en cuenta el resultado del análisis genético de las diferentes presentaciones de pescado, en la que se obtuvo un 60.37% de sustitución de carne de pescado por tiburón, se recalculó el consumo máximo permitido para todos los grupos poblacionales y para las concentraciones mínima, promedio y máxima de metilmercurio en carne de tiburón.

Para el consumo de pescado evaluado con concentración de 0.27 mg/Kg de metilmercurio (mínima) los varones pueden consumir mayor porción de los productos pesqueros analizados (262.60 g) y con mayor frecuencia (cinco veces/mes) (figura 43). En comparación con los países donde ya se tiene un nivel máximo permitido de consumo de tiburón (tabla 9), la porción es por semana, además la concentración es mayor 1 mg/kg. En Australia las porciones son similares, con respecto a Canadá las porciones del estudio son menores. Sin embargo, en las concentraciones promedio y máxima, disminuyen la porción y el número de veces para evitar efectos adversos a la salud.

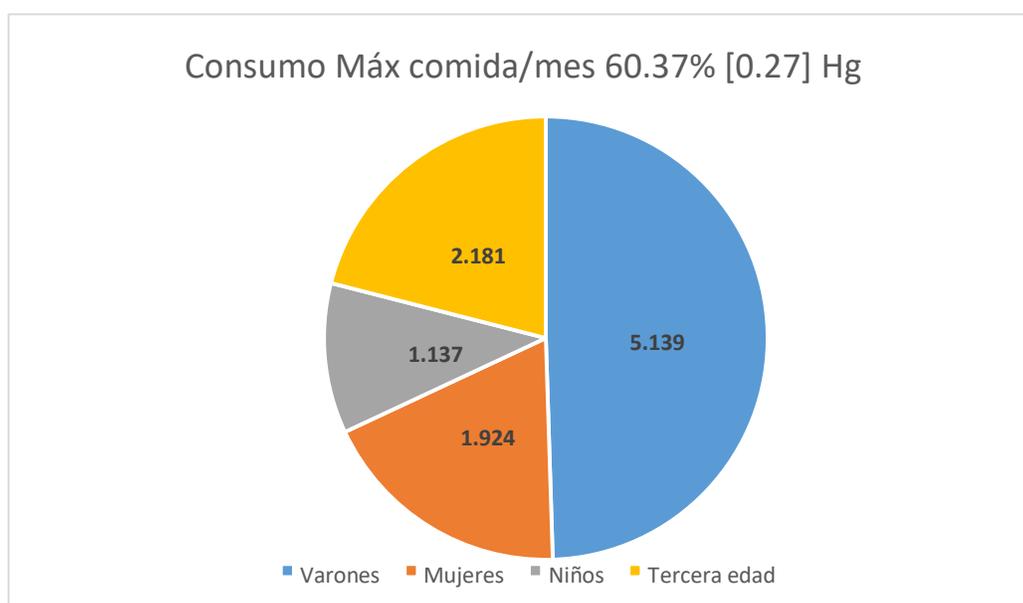


Figura 43. Consumo máximo permitido (número veces/mes) para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 0.27 mg/kg

En la figura 44 se muestran los resultados obtenidos para el consumo máximo permitido por mes de pescado sustituido por tiburón. En la concentración de 2.43 mg/Kg de metilmercurio en tejido de tiburón, se recomienda limitar su consumo, debido a que al superar la concentración máxima permitida puede ponerse en riesgo la salud del consumidor con un consumo frecuente.

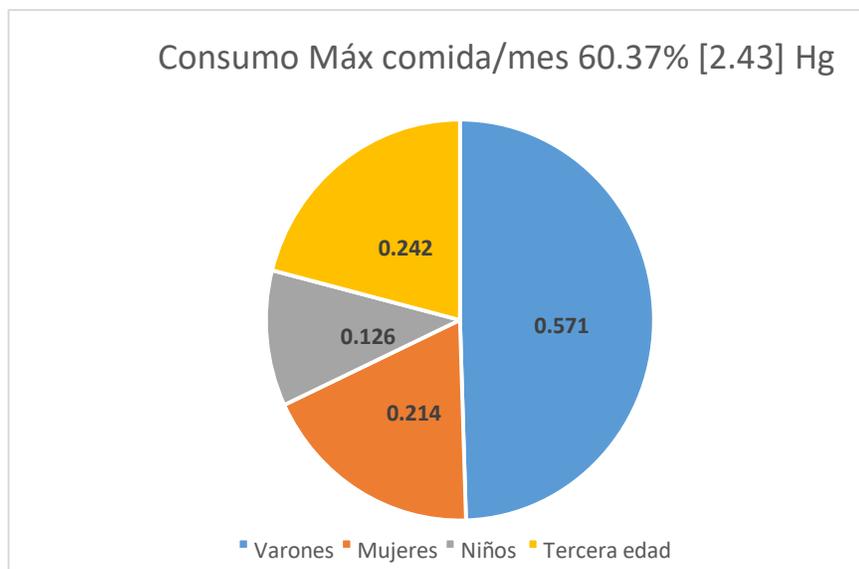


Figura 44. Consumo máximo permitido para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 3.33 mg/kg

La figura 45 muestra los resultados obtenidos para el consumo de productos de pescado, con una concentración de 3.33 mg/Kg de metilmercurio, estos resultados limitan el consumo de los productos pesqueros en la población general, por lo que en el caso de tener concentraciones arriba de 1 mg/Kg se recomienda consumir lo menos posible los productos pesqueros analizados en el presente trabajo o tratar de evitar dicho consumo.

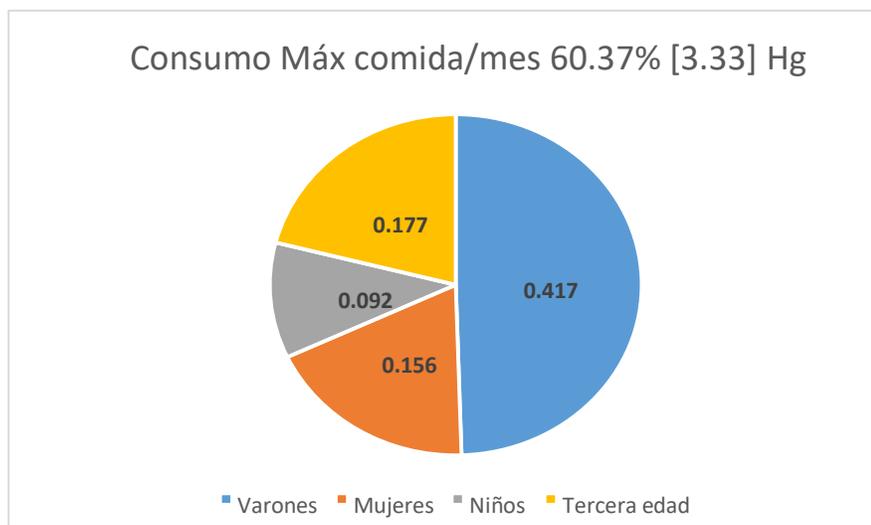


Figura 45. Consumo máximo permitido (porciones/mes) para la población muestreada con una concentración de metilmercurio de 3.33 mg/kg

De acuerdo con lo anterior, al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio para la concentración mínima de metilmercurio se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Consumo de tiburón máximo permitido (porciones/semana) para diferentes países y recomendaciones (tomado de Stan, 2013)

País (año en que se establece el nivel máximo permitido de consumo de tiburón)	Consumo de tiburón máximo permitido (porciones/semana) para la población con una concentración de metilmercurio de 1.0 mg/Kg				Recomendación
	Mujeres en edad reproductiva	Niños menores de 5 años	Población adulta	Personas de la tercera edad	
Australia	150 g	65 g	150 g	150 g	Una vez por semana
Canadá (2008)	150g	150 g	150	75	Una vez por mes
Japón (2005)	160 g	ND	ND	ND	CMP de tiburón de 0.4 mg/kg
España (2011)	NC	NC	50 a 100 g	ND	Limitar su consumo
Reino Unido (2004)	NC	NC	ND	ND	Evitar comer más de una pieza mediana por semana
Estados Unidos (2004)	NC	NC	ND	ND	Seguir recomendaciones, pero en caso de comer, que sean porciones pequeñas
<b>México (resultados del presente estudio) con las tres concentraciones de metilmercurio analizadas</b>					
[0.27 MeHg]	194.3 g	188.17 g	262.60 g	193.3 g	Mujeres 2/mes Niños una vez por mes Adultos 5/mes Tercera edad 2/mes
[2.43 MeHg]	194.3 g	188.17 g	262.60 g	193.3 g	Población sensible una vez cada cinco meses Adultos una vez cada dos meses
[3.33 MeHg]	194.3 g	188.17 g	262.60 g	193.3 g	Mujeres una vez cada seis meses y medio Niños una vez cada 11 meses Adultos una vez cada dos meses y medio Tercera edad una vez cada cinco meses y medio

ND= No hay dato  
NC= No consumir

El estudio de Zamora-Arellano y colaboradores (2018), coincide en los resultados del presente estudio, ya que considera que el feto y los niños pequeños son especialmente susceptibles a la exposición a MeHg; por lo tanto, las mujeres en la edad fértil y la mujer embarazada son un grupo de interés dado el potencial de transferencia de MeHg. Además, en estudio realizados en las costas de México (Mazatlán) concluyeron que en general, los niños mostraron el mayor riesgo de exposición a MeHg, y que el 97% de la población se encuentra en riesgo debido a sus hábitos de consumo (Zamora-Arellano *et. al.*, 2017).

En el caso de niños, que consumen mayores cantidades de productos pesqueros en relación con su cuerpo y menor peso que los adultos, pueden tener una mayor susceptibilidad a los contaminantes con menos capacidad para desintoxicarlos. En un estudio similar en niños franceses, los autores encontraron una correlación negativa del peso corporal con otros parámetros como la tasa de consumo de pescado. (Morriset *et al.*, 2013). En este contexto, con porciones mayores a 100 g y los días de consumo se destacan como los factores más importantes en la exposición al MeHg; por lo tanto, incluso si el contenido de MeHg en los productos de la pesca podría ser relativamente bajo (por ejemplo, por debajo de la regulación mexicana), el riesgo podría ser alto si la frecuencia y cantidad de consumo de productos de la pesca son considerables.

En la tabla 10 se observa que para concentraciones bajas de metilmercurio en el tejido de pescado con una sustitución del 60.37% de carne de tiburón, el coeficiente de peligrosidad es menor a uno, lo que significa que en general el consumo no intencional de carne de tiburón no representa un riesgo o tiene un riesgo aceptable a la salud; sin embargo para los bebés de 1 a 5 años, el valor calculado (0.785 mg/Kg de metilmercurio) es cercano a uno, lo cual nos alerta al posible riesgo que representarían concentraciones de metilmercurio ligeramente más altas (0.45 mg/Kg de metilmercurio).

Adicionalmente, se puede observar que, de la muestra evaluada, los hombres fueron los que presentaron el coeficiente de peligrosidad más bajo en todas las concentraciones evaluadas (0.18 a 2.19), los resultados obtenidos en el grupo de niños que se analizó mostraron valores altos (0.78 a 9.65). Con ello se puede inferir que consumir “pescado”, con excepción de aquellos que pudieran contener la concentración

mínima de metilmercurio, representan un riesgo para la salud de la población en general (sin importar edad).

Tabla 10. Riesgo a la salud por consumo no intencional de carne de tiburón

Población/Edad (años)	Coeficiente de peligrosidad		
	[0.27] MeHg mg/kg	[2.43] MeHg mg/kg	[3.33] MeHg mg/kg
Varones 15 -60	0.180	1.619	2.219
Mujeres 12 - 60	0.425	3.825	5.242
Bebés 0-5	0.785	7.084	9.695
Niñas 5-12	0.395	3.495	4.811
Niños 5-15	0.362	2.238	4.010
Mujeres de la tercera edad 50- 78	0.342	3.082	4.223
Varones tercera edad 60-73	0.342	3.082	4.223

 Riesgo aceptable  
 Riesgo medio  
 Riesgo elevado

En la figura 46 se muestran los resultados del coeficiente de peligrosidad del varón de la muestra analizada en el presente estudio, a lo largo de su vida, comenzando desde bebé (0-5 años), niño (5-15 años), hombre (15-60 años) y tercera edad (60-73 años). De acuerdo con Penny y colaboradores (2005) el consumo de pescado comienza después del primer año de vida.

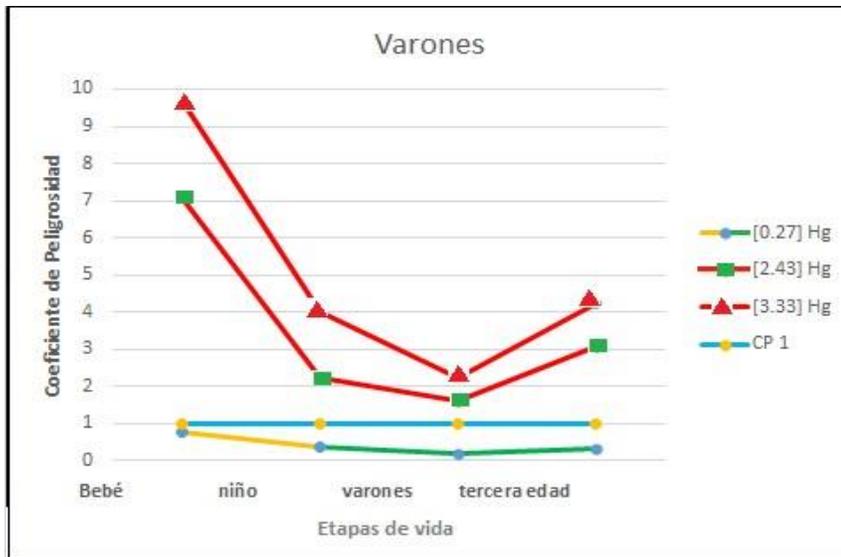


Figura 46. Coeficiente de peligrosidad para varones

Se puede observar que el coeficiente de peligrosidad, en la concentración más baja, es cercano a uno (0.785) en la etapa de bebé, confirmando que es la etapa de vida con el riesgo a la salud más elevado. Al analizar los resultados de las concentraciones promedio y máxima se puede ver que el riesgo es alto para los bebés y que, aunque disminuye para los niños y los adultos estos valores indican un riesgo alto.

En la figura 47 se observan los resultados del coeficiente de peligrosidad de la mujer por etapa de la vida de la muestra analizada: bebé (0-5 años, niña (6-12 años), mujer (13-60 años) y tercera edad (60-78 años).

El coeficiente de peligrosidad para la concentración baja de metilmercurio (0.27 mg/Kg) presenta el mismo valor que el de los varones (0.785) cercano a uno en la etapa de bebé y más bajo en las otras etapas. Cuando la concentración de metilmercurio se incrementa el coeficiente de peligrosidad aumenta significativamente, siendo más alto en la etapa reproductiva que en niñas y en tercera edad, lo cual está relacionado con la posibilidad de encontrarse en la fase de gestación.



Figura 47. Coeficiente de peligrosidad de mujeres

Los dos grupos vulnerables a los efectos del metilmercurio son los fetos por consumo materno de pescado o marisco, ya que puede dañar el cerebro y el sistema nervioso en pleno desarrollo (Sardina, 2001), y los bebés debido a que la principal consecuencia es la alteración del desarrollo neurológico; en esta etapa puede afectar al pensamiento cognitivo, la memoria, la capacidad de concentración, el lenguaje y las aptitudes motoras y espacio-visuales finas (García *et al.*, 2006).

Para las personas expuestas de forma sistemática (exposición crónica) a niveles elevados de metilmercurio (como poblaciones que practiquen la pesca de subsistencia o personas expuestas debido a su trabajo) se ha observado que entre 15 y 17 de cada mil niños presentan trastornos cognitivos (leve retraso mental) causados por el consumo de pescado contaminado (García *et al.*, 2006).

### 10.6.3 Incertidumbres

La incertidumbre que se contemplaron en el estudio son las siguientes: contaminación ambiental, la ausencia de programas de control de calidad en los puntos de venta de pescado y los sesgos en la información recopilada en la encuesta (peso del encuestado, tamaño de porción) indican una gran fuente de incertidumbre en la medida del coeficiente de riesgo.

La mayor incertidumbre de la estimación del riesgo en el presente trabajo es la falta de cuantificación directa de MeHg en las mismas muestras de peces que se analizaron genéticamente. Sin embargo, esta es una aproximación aceptable para la toma de decisiones en la prevención de riesgos para la salud debido a que los datos utilizados se obtuvieron de muestras recolectadas en tres años en 10 de los puertos pesqueros más importantes de México, lo que proporciona una buena estimación de MeHg en músculo de pescado vendido en el Área Metropolitana de la Ciudad de México.

Un asunto adicional de preocupación es el consumo algunas comidas en porciones grandes durante un período muy corto, que es similar a una exposición aguda este problema no suele ser considerado en el desarrollo de avisos de pesca (EPA, 2000). Esta constituye un riesgo no estimado para personas con especial susceptibilidad como niños, personas mayores, embarazadas o mujeres lactantes (Zamora-Areallano *et al.*, 2018). Por lo tanto, la investigación futura es necesaria para evaluar los efectos causados por la exposición a corto plazo que podría ser sustancialmente diferente de la exposición a largo plazo en niveles bajos (EPA, 2000; Zahir, Rizwi).

En la legislación mexicana, el límite de MeHg en productos pesqueros, incluida la carne de tiburón, es de 0.5 mg / Kg de peso húmedo (NOM-242-SSA2009). Sin embargo, este límite no necesariamente ayuda a proporcionar consejos dietéticos para reducir la exposición a MeHg, lo que destaca la necesidad de estudios de caracterización de riesgos.

#### 10.6.4 Opinión de expertos

Los efectos favorables del consumo de pescado son bien conocidos. Sin embargo, existe preocupación a nivel mundial sobre los niveles de metilmercurio en el pescado, por lo que muchos países como Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda, Canadá y muchos países europeos han realizado recomendaciones de consumo de pescado a la población, especialmente a los grupos vulnerables con el fin de reducir la ingesta de metilmercurio, por lo que González-Estecha y colaboradores en 2015 en el estudio “Metilmercurio: Recomendaciones existentes; métodos de análisis e interpretación de resultados; evaluación económica” estudio realizado en España, donde nos dicen que el método de análisis más empleado para medir el metilmercurio ha sido la espectroscopia de absorción atómica con la técnica del vapor frío, en la sangre y el pelo. Donde concluyen que, aunque se logren reducir las emisiones de mercurio, el mercurio del medio ambiente puede permanecer muchos años, por lo que es fundamental disminuir el consumo en la dieta de pescado y proponen medidas de salud pública encaminadas a la disminución de la exposición al mercurio y que se evalúen también los beneficios de las mismas desde el punto de vista económico y social.

La última reunión de expertos para analizar el consumo de alimentos contaminados con metilmercurio para la Unión Europea fue la realizada por la EFSA (2018) con el panel de comida contaminada (CONTAM<sup>2,3</sup>) donde se analizaron los nuevos desarrollos relacionados con la toxicidad del mercurio inorgánico y el metilmercurio, que evaluará si el consumo conjunto semanal tolerable del Comité Mixto FAO / OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) para la Comisión Europea, para el metilmercurio de 1.6 µg / kg de peso corporal (bw) y de 4 µg / kg de peso corporal es apropiado. Los datos de biomonitorio de la sangre y el cabello indican que la exposición al metilmercurio generalmente está por debajo del TWL en Europa, pero también se observan niveles más altos. La exposición al metilmercurio por encima del TWL es preocupante. Si se consideran medidas para reducir la exposición al metilmercurio, también se deben tener en cuenta los efectos beneficiosos potenciales del consumo de pescado. La exposición al mercurio inorgánico en la dieta en Europa

no supera el TWL, pero la exposición a la inhalación de mercurio elemental proveniente de la industria dental. Los niños no nacidos constituyen el grupo más vulnerable a los efectos del desarrollo de la exposición al metilmercurio, y las mujeres embarazadas pueden estar presentes en el grupo de consumidores de pescado frecuentes.

En México un estudio realizado por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), donde Cantoral y colaboradores (2017), en el artículo titulado "estimación nacional del consumo de mariscos en México: implicaciones para la exposición al metilmercurio y ácidos grasos poliinsaturados " donde coincide con la presente investigación, que el tiburón es la principal fuente de exposición al MeHg entre la población mexicana lo que proporciona una oportunidad para explorar intervenciones para limitar la exposición, se reconoce que no todos los mariscos consumidos en México son alta en MeHg por ejemplo, la carpa, el bagre y los camarones son frecuentemente consumido por la población mexicana. Las especies más recomendadas para consumir (en términos de minimizando la exposición a MeHg y maximizando la ingesta de  $\omega$ 3-PUFA) son sardina, trucha y anchoas, aunque anchoas rara vez se consumen debido a su relativamente alta precios comerciales. Mientras tanto la sardina y la trucha tienen un moderado consumo con un precio relativamente bajo en el mercado. Concluyen que en México (y en la mayoría de las demás jurisdicciones) no hay un claro mensajes de salud pública que aconsejan a las poblaciones elegir marisco o pescado altas en  $\omega$ 3-PUFA y bajas en MeHg, por lo que se recomendó que en estudios futuros debería incluir más análisis del contenido de Hg en un mayor número de variedades de pescados y mariscos consumidos (frescos y enlatados). También hay una debe considerar la relación de  $\omega$ 3-PUFAs a MeHg en el análisis, y para identificar mejor los grupos susceptibles, como los niños, especialmente aquellos en las regiones costeras rurales o con bajo nivel socioeconómico.

### 10.6.5 Análisis matemático para la estimación del riesgo

En el análisis matemático que sustituyó el análisis probabilístico de incertidumbre, debe quedar en claro que en un proceso o fenómeno que se estudió mediante observaciones o datos, la meta es dar la descripción o modelo general mediante una regla o fórmula que involucre a las variables más importantes que intervienen. Los datos estadísticos que se obtienen están sujetos a errores de cuantificación, al estar dispersos o alejados entre sí, con diversas unidades de medición, el científico tiene que trabajar con los que obtiene, pues a final de cuentas obtendrá una aproximación cualitativa del proceso que estudió.

Independientemente del método que se utilice para evaluar, el resultado siempre será una aproximación. La Teoría de Singularidades tiene, dentro de sus partes, la Teoría de la estabilidad, la cual nos ayuda a decidir, al estudiar un modelo o fórmula escalar, que tan susceptible es a los errores pequeños en los datos (incertidumbres). Los cambios cualitativos ocurrirían si un modelo obtenido es inestable. Es conocido que las únicas funciones estables son las *funciones de Morse*, es decir aquellas que tienen puntos críticos no degenerados como es nuestro caso.

Esto quiere decir que, bajo errores en los datos, al corregirlos, las relaciones de riesgo que se obtendrían después de realizar nuevamente las interpolaciones y regresiones serían muy parecidas a las muestras. Los resultados del riesgo están asociados a la concentración de metilmercurio, hábitos de consumo, al tamaño de la porción, peso corporal y a las etapas de la vida.

En la figura 48 se observan los resultados obtenidos para los varones analizados en el presente estudio, en las curvas de riesgos se muestra que el riesgo mayor se presenta del intervalo 1.5 al 2.5 (bebé- niño), y no se muestran afectaciones en edad adulta o para menores de 60 años, resultados que coinciden con el estudio de Llop y colaboradores (2014).

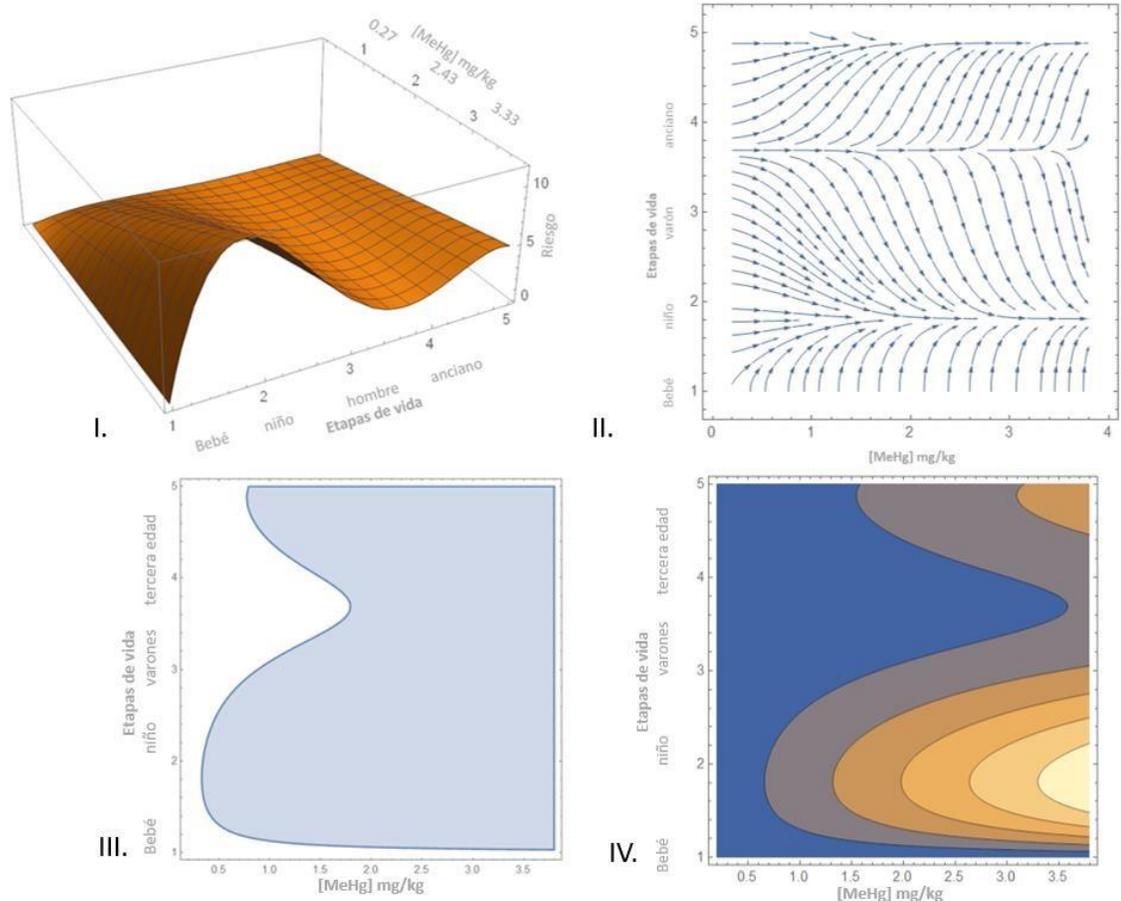


Figura 48. Curvas de riesgo por consumo no intencional de tiburón en hombres de la muestra analizada. (I.) Superficie de riesgo, (II.) Campo Vectorial de Riesgo, (III.) Región crítica del riesgo, (IV.) Líneas de contorno o curvas de nivel de riesgo

El resultado de la estimación de riesgo global para los datos analizados en el estudio fue de 1.43( $CP > 1$ ), lo que significa que la exposición estimada para cada individuo supera los límites de seguridad para el metilmercurio (RfD), contaminante que se encuentra dentro la región crítica del riesgo (figura 49 (III.)). Sin embargo, el área crítica del riesgo está situada en las etapas con mayor riesgo por consumo de productos pesqueros de la población analizada, por lo que el consumo de estos productos deberá hacerse con precaución.

Los puntos donde la curvatura Gaussiana es cero determinan las edades críticas de la función de riesgo, por lo que la edad de máximo riesgo en los varones es durante los 5.43 años, luego disminuye el riesgo hasta que a los 44.64 años alcanzar el riesgo máximo en la vejez a los 86.4 años (figura 48). Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Llop y colaboradores (2013) para varones.

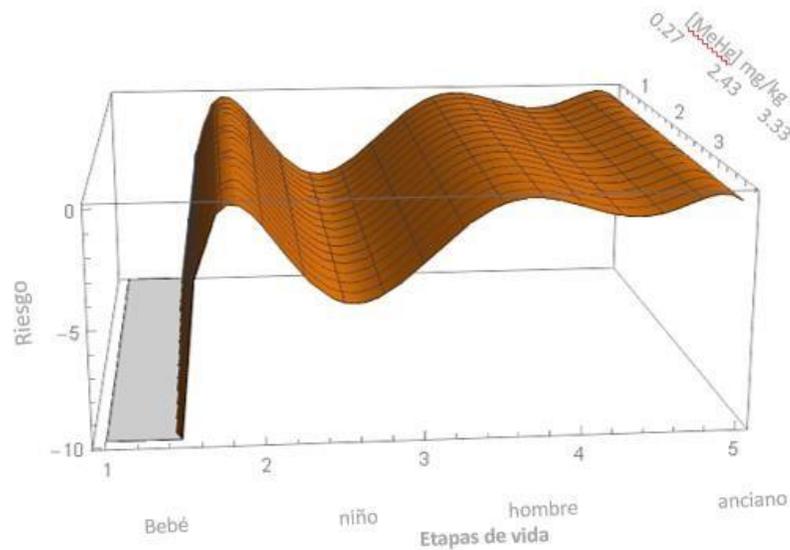


Figura 49. Curvatura de riesgo varones

Como se muestra en la figura 50, todas las curvas de riesgo indican que éste es mayor en los intervalos 1 a 3 (bebé) y mujer en edad reproductiva; además, la región crítica del riesgo sólo se encuentra ubicada en las etapas antes mencionadas y en menor proporción en la tercera edad, aunque en esta última se observó que la curva de riesgo es menor que en la edad más temprana. El estudio de Llop y colaboradores (2014), recomienda a las mujeres embarazadas, lactantes y a los menores de 3 años evitar el consumo de tiburón. El estudio de Clarkson y Magos (2006) menciona que la susceptibilidad a la neurotoxicidad por causa del MeHg relacionada con el género no ha sido muy estudiada y los resultados disponibles no son concluyentes, pero en la intoxicación que ocurrió en Iraq como consecuencia del consumo de grano contaminado con un fungicida mercurial, las mujeres se afectaron más que los hombres, cuando la exposición fue en la edad adulta.

Para la estimación de riesgo se utilizó como referencia la dosis establecida como límite máximo permitido de consumo (RfD) de acuerdo con la EPA y los resultados del coeficiente de peligrosidad, para la región crítica de riesgo (figura 51 (III)), lo que dio un valor de 2.72 que se interpreta como un riesgo alto, ya que este resultado excede uno, con respecto al coeficiente de peligrosidad, se tiene una alta probabilidad de que se desarrolló algún efecto tóxico o adverso a la salud.

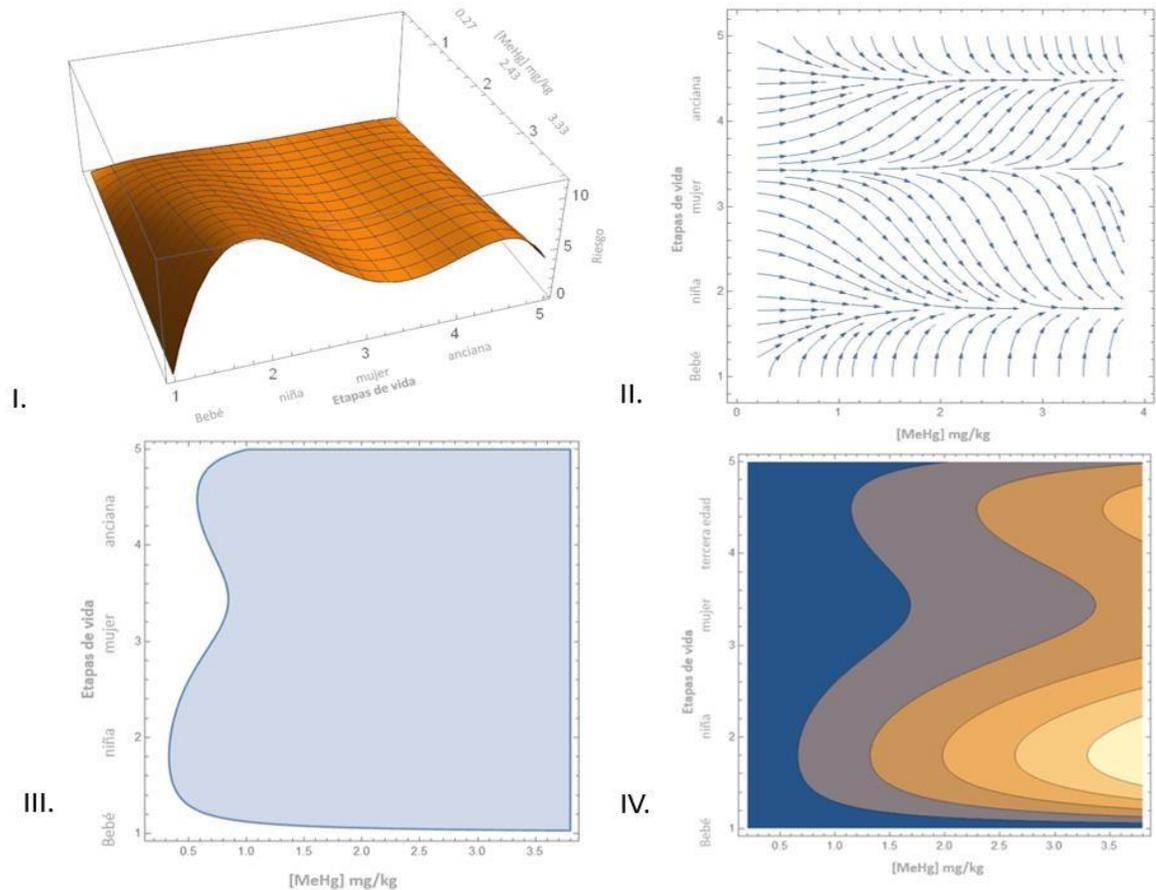


Figura 50. Curvas de riesgo por consumo no intencional de tiburón en mujeres de la población analizada. (I.) Superficie de riesgo, (II.) Campo Vectorial de Riesgo, (III.) Región crítica del riesgo, (IV.) Líneas de contorno o curvas de nivel de riesgo.

Los resultados obtenidos en el trabajo de Raimann y colaboradores (2014), coinciden con las curvas de riesgo de este estudio (figura 50), donde el intervalo de exposición es alto en mujeres principalmente en la edad reproductiva y la infancia. Considerando esto, se debe tener especial cuidado puesto que en la niñez somos más vulnerables a la exposición de metilmercurio debido a que el sistema nervioso es el órgano blanco principal donde se bioacumula, como medida de prevención la USEPA (2010) estableció un nivel aceptable de 0.5 mg/kg.

Los puntos donde la curvatura Gaussiana es cero determinan las edades críticas de la función de riesgo, por lo que la edad de máximo riesgo en la mujer es durante los 5.37 años, luego disminuye el riesgo hasta que a los 32.64 años el riesgo comienza de

nuevo a crecer hasta alcanzar el riesgo máximo en la vejez el cual es de 74.4 años (figura 51).

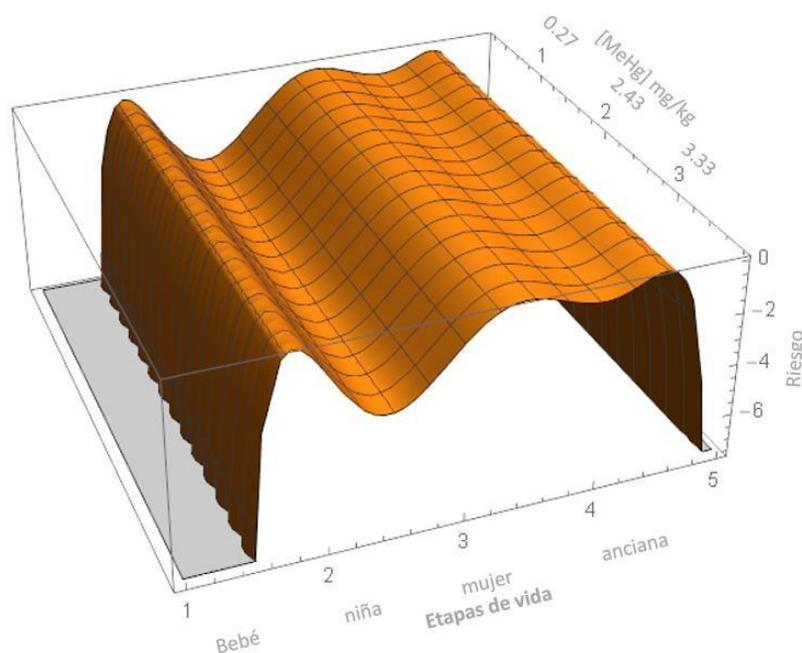


Figura 51. Curvatura del riesgo para mujeres

Las edades para ambos grupos el valor máximo riesgo es muy similar en la primera curvatura, pero de acuerdo con el estudio realizado de Auger y colaboradores (2005) nos dice que en estudios epidemiológicos realizados en la edad infantil han referido que los niños son más susceptibles a los efectos neurotóxicos del MeHg que las niñas, cuando han sufrido una exposición a una edad temprana.

El riesgo depende de los hábitos de consumo (frecuencia de consumo y preparación de los alimentos), edad del consumidor, tamaño de la porción y el producto que se esté consumiendo. Sin embargo, cabe mencionar que el nivel de bioacumulación de metales pesados en los tejidos de peces está influenciado por factores bióticos y abióticos, tales como el hábitat de los peces, forma química del metal, temperatura del agua, pH, concentración de oxígeno disuelto, transparencia del agua, así como por la edad de pescado, el sexo, la masa corporal, y las condiciones fisiológicas (Has-Schön

*et al.*, 2006). Por lo que hay que considerar todos estos factores para evaluar el riesgo por consumo de productos pesqueros contaminados.

## **11. CONCLUSIONES**

Los oligonucleótidos universales que amplifican la región espaciadora ITS2, identificaron carne de tiburón en productos ofertados como pescado. Los resultados de la prueba de la PCR revelaron patrones de amplificación muy similares a los correspondientes a algunas familias de tiburones comercializados. Con base en los hallazgos de este estudio, es posible concluir que los métodos utilizados son eficientes y versátiles, puesto que permiten obtener resultados de varias especies de tiburón en una sola reacción, lo que reduce los costos de investigación.

El porcentaje promedio de sustitución de productos de tiburones por productos pesqueros ofertados fue del 60.37% (70.5% de sustitución en carne de pescado para hacer ceviche; 81% en filete económico; 50% encarne de pescado para hacer caldo; 67% en carne para hacer quesadillas y 0% en pescado ahumado y filete para capear) por lo que se puede inferir que la sustitución de algunos de estos productos por productos carne de tiburón es real. En cuanto a las muestras de pescado ahumado y filete para capear, no se observó amplificación en la prueba de la PCR, sin embargo, debido a que los tres productos analizados se encontraban en forma de filetes (no de un espécimen completo) no se pudo descartar la sustitución morfológicamente, debido a que el tamaño de los músculos era grande, lo que demuestra que fueron extraídos de peces de gran tamaño y esto aumenta las posibilidades de consumir productos con mayor cantidad de metilmercurio.

Se identificó como producto preferente para el consumo humano, al filete de pescado de la muestra analizada y coincide con las pruebas genéticas, las cuales indican que este producto es el que tiene mayor porcentaje de sustitución (81%), debido a esto es de gran importancia realizar estudios de salud pública sobre el tema.

Los hábitos alimenticios del consumo de pescado en la muestra analizada nos revelan que la ingestión de algunos de los productos incluidos en este estudio, representa un riesgo crónico asociado a su consumo, debido a que la dosis de referencia de metilmercurio fue la misma y en algunos casos fue superada en el caso de las poblaciones analizadas.

La estimación del riesgo a la salud por consumo de pescado sustituido por carne de tiburón tomó como base los resultados del coeficiente de peligrosidad, de los cuales se obtuvo un riesgo en las concentraciones promedio y máxima para todas las poblaciones y cercano a riesgo en la concentración baja para todas las poblaciones con excepción de los bebés donde el riesgo es medio (0.785). Esto significa que, en la muestra analizada, si existe riesgo a la salud, por lo que, si se desea consumir este tipo de productos, deberá hacerse comprando pescados completos para evitar la sustitución y limitando la frecuencia de ingestión.

La mayor incertidumbre de la estimación de riesgo es la no cuantificación del tóxico directamente en los individuos de interés (muestra analizada sensible y adulta). Sin embargo, es una aproximación aceptable para la toma de decisiones en la prevención de riesgo para la salud ya que los datos utilizados son de muestreos de diferentes puertos pesqueros de México.

Para obtener la función de riesgo de los resultados obtenidos en el presente estudio, se realizó un análisis matemático a través del método de interpolación de Reyes (1996), el cual demostró que la mencionada función de riesgo es estable; por lo que cualquier error en la obtención de los datos (incertidumbres), nos llevará a una relación de riesgo con las mismas características (resultados similares), y de esta forma se puede concluir que los resultados del coeficiente de peligrosidad tiene alto grado de confiabilidad.

Este estudio analizó los hábitos alimenticios del consumo de pescado de la muestra de la población analizada en la Ciudad de México y área Metropolitana, el cual demostró que con éstos y el porcentaje de sustitución de carne de pescado por carne

de tiburón, se obtuvo el riesgo global que fue de 2.27 y 1.43 en mujeres y varones respectivamente, éste supera el coeficiente de peligrosidad lo que infiere que, se encuentra expuesta de forma crónica a pesar de que la población no consume con frecuencia pescado, pero aun así implica riesgo en la salud del consumidor, por lo que se sugiere restringir el consumo de los productos de pescado a raciones como las proporcionadas en el apartado 10.7.2, comprar pescado completo para facilitar su identificación y que sean de talla pequeña para evitar consumir grandes cantidades de metilmercurio.

## 12. RECOMENDACIONES

Se recomienda:

- Secuenciar las muestras de filete económico con doble amplificación para obtener más información.
- Realizar un análisis más detallado que involucre otros factores como la talla de los peces, la determinación de metilmercurio en las muestras analizadas y la diferenciación entre tejidos (productos).
- Ampliar el estudio con mayor número de productos de pescado procesados debido a que estos son los que tiene problema de sustitución.
- Realizar encuestas nacionales de consumo e implementarlas por mayores periodos en las comunidades costeras.
- Realizar o analizar los estudios de sangre, cabello y uñas para analizar la cantidad de metilmercurio en niños, mujeres en edad reproductiva y personas de la tercera edad de comunidades costeras.

Consumidores

- Consumir pescado debido a que es un alimento saludable e importante en la dieta, esto se debe, básicamente, a la calidad de su proteína y aminoácidos esenciales y escasa cantidad de grasas saturadas.
- Sin embargo, se recomienda precaución a las mujeres en edad reproductiva, a niños de corta edad y a las personas de la tercera edad. Se invita a este grupo de población a consumir una amplia variedad de pescados, evitando las especies que se encuentren en los últimos niveles tróficos o a limitarse en el consumo de estas.
- Para elaborar caldo de pescado, se debe considerar comprar productos identificables como cabezas, esqueletos, restos con aletas pequeñas y evitar el consumo de pechuga de pescado (puesto que se observó una sustitución de 100%).
- Restringir el consumo de carne de pescado en poblaciones de alto riesgo, si no hay certeza de la especie.

- Comprar peces completos y de talla pequeña para evitar o disminuir la exposición a metilmercurio.

#### Autoridades

- Establecer un programa de vigilancia para la venta de productos procesados que asegure que el pescado vendido no sea sustituido por carne de tiburón.
- Poner a disposición del público los niveles de MeHg que presentan los peces capturados, especie, la zona de captura, etc., lo que le permitirá al consumidor poder elegir de una forma mucho más informada.
- Es importante señalar que la misma especie puede presentar grandes diferencias en la concentración de mercurio según el tamaño y la zona geográfica de captura de los pescados por lo que es necesario que las autoridades actualicen constantemente la información disponible para los consumidores.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

Abercrombie, D.L., Clarke, S.C. y Shivji, M.S. (2005). Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: application to assessment of the international fin trade and law enforcement. *Conserv. Genet.* 6, 775–788.

Aguilar, F., Chalén, X., y Villón, C. (2005). Plan de acción nacional de tiburones. Proceso de investigación recursos bioacuáticos y ambiente. Instituto Nacional de Pesca, Quito.

Alimentarius, C. (2006). CODEX STAN A-6-1978, Rev. 1-1999, Enmendado en 2006. Norma general del Codex para el queso. Roma, Italia.

Aljanabi, S. M., (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic ADN for PCR-base techniques. *Nucleic Acids Research*, pp. 4692-4693.

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research*, 25(17), 3389-3402.

Arellano, L. I., (2012). Análisis de Riesgos a la Salud por consumo de peces., La Paz: Tecnológico de Estudios Superiores del Oriente del Estado de México.

Agency Toxicology Substance and Disease (1995) Evaluación de residuos peligrosos en la salud por exposición a residuos peligrosos. Metepec, Puebla, 12 de 06 de 1995

Auger N, Kofman O, Kosatsky T, Armstrong B. (2005) Low-level methylmercury exposure as a risk factor for neurologic abnormalities in adults. *Neurotoxicology*. 2005;26:149-57.

Bessonart, M. y Rodríguez A. Y. (12 de 07 de 2007). Agnatos y Condrictios. Ciudad de México, DF.

Bohinski R. 1991. Bioquímica. Pearson Education, México.

Bonfil Sander R, R. Mena Aguilar y D De Anda Fuentes. (1988). Recurso tiburóncazpon en el sudeste de México. Los recursos pesqueros del país XXV. México, DF, DF: Instituto Nacional de la Pesca.

Bunch, T. D., Foote, W. C., y Spillett, J. J. (1976). Translocations of acrocentric chromosomes and their implications in the evolution of sheep (*Ovis*). *Cytogenetic and Genome Research*, 17(3), 122-136.

Caballero, S. C. (2012). Application of multiplex PCR approaches for shark molecular identification: feasibility and applications for fisheries management and conservation in the Eastern Tropical Pacific. *Molecular Ecology*, 233-237.

Cailliet, GM, Cavanagh, RD, Kulka, DW, Stevens, JD, Soldo, A., Clo, S., Macias, D., Baum, J., Kohin, S., Duarte, A., Holtzhausen, JA, Acuña, E., Amorim, A. y Domingo, A. 2009. *Isurus oxyrinchus*. La Lista Roja de la UICN de Especies Amenazadas 2009: e. T39341A10207466. Descargado el 26 de noviembre de 2017.

Calderón, M., y José, M. (2014). ¿Comemos tiburón? identificación molecular de carne de tiburón de venta en mercados y pescaderías del Distrito Metropolitano de Quito (Bachelor's thesis, Quito, 2014).

Cantoral, A., Batis, C., & Basu, N. (2017). National estimation of seafood consumption in Mexico: Implications for exposure to methylmercury and polyunsaturated fatty acids. *Chemosphere*, 174, 289-296.

Castellanos BJC, Ramírez SCE y Castillo GJL, (2013). Catálogo de aletas, tronchos y cabezas de tiburones en el Pacífico Mexicano. SAGARPA. Distrito Federal, México. 59 p.

Castro-González I. M. (2002). Ácidos grasos omega-3: beneficios y fuentes. *Interciencia* 27, 128-136.

Chan M. H. y Egeland M. G. (2004). Fish consumption, mercury exposure, and heart disease. *Nutr. Rev.* 62, 68-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.17534887.2004.tb00027.x>.

Chapman, D. D., Pinhal, D., & Shivji, M. S. (2009). Tracking the fin trade: genetic stock identification in western Atlantic scalloped hammerhead sharks *Sphyrna lewini*. *Endangered Species Research*, 9(3), 221-228.

Chavez-Sánchez, M. C., Álvarez-Lajonchère, L., de la Parra, A., Isabel, M., & García-Aguilar, N. (2008). Advances in the culture of the Mexican bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*, Jenyns (1842). *Aquaculture Research*, 39(7), 718– 730  
Clare, S. (2006). Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong Shark Market Base on molecular genetics and trade records. *Conservation Biology*, 201-211.

Clarkson W. T. (2002). The three modern faces of mercury. *Environ. Health Perspect.* 110, 11-23.

Clarkson TW, Magos L. (2006) The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol.* 2006;36:609-62.

COMEPESCA, (2016). COMEPESCA. [Online] Available at: <http://www.comepesca.com/conoce-el-mercado-de-la-nueva-viga/>[Consulta: mar, 2016]

CONAPESCA. 2006. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Capítulo III. Comercialización y consumo [Online] Available at: [www.conapesca.sagarpa.gob.mx](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx)[Consulta: jun, 2016]

COPEPESCA, A.-C. (07 de 07 de 2014). Mercurio y metilmercurio en los productos pesqueros. Habana.

Cornejo Romer Amelia o, Alejandra Serrato Díaz, Beatriz Rendón Aguilar, Martha Graciela Rocha Munive (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), 53-256.

Cortés, E. (2005). La Lista Roja de la UICN de Especies Amenazadas. Obtenido de Sphyna tiburero: <https://translate.google.com.mx/translate?hl=es-419&sl=en&u=http://www.iucnredlist.org/details/39387/0&prev=search>[Consulta: abr, 2016]

Costa, S., Afonso, C., Bandarra, N. M., Gueifão., Castanheira, I., Carvalho, M. L., Cardoso, C., Nunes, M. L., (2013). The emerging farmed fish species meagre (*Argyrosomus regius*): How culinary treatment affects nutrients and contaminants concentration and associated benefit-risk balance. *Food and Chemical Toxicology*. 60, pp. 277-285.

Cronin, M. A., Amstrup, S. C., Garner, G. W., y Vyse, E. R. (1991). Interspecific and intraspecific mitochondrial DNA variation in North American bears (*Ursus*). *Canadian Journal of Zoology*, 69(12), 2985-2992.

D'itri, P. y. (1977). *Mercury contamination: A human tragedy*. New York.

Del Moral y Perez Flores, L. G. Pérez Ponce de León (2013). Tiburones, rayas y quimeras de México. México: CONABIO. *Biodiversitas*, 111: 1-6.

DGSANCO. (14 de 04 de 2011). Recomendaciones de consumo de pescado para poblaciones sensibles debido a la presencia de mercurio. Unión Europea, Europa, Europa.

Díaz, J. C. (2011). Informe sobre el mercado de mercurio en México. México: CEC.ORG.

Din J. N., Newby D. E. y Flapan A. D. (2004). Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease-fishing for natural treatment. *BMJ*. 328, 30-35. DOI: 10.1136/ bmj.328.7430.30.

Dizon, A., Baker, C. S., Cipriano, F., Lento, G., Palsboll, P., y Reeves, R. (2000).

DOF, Diario Oficial de la Federación (2012). MODIFICACION de los numerales 3.1, 4.2, 6.13.3, 7.1.1.1.2, 7.1.5.2.3, 7.1.7, 7.1.10 y eliminación del Apéndice normativo A de la Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios.

Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. Publicación: jueves 27 de diciembre de 2012.

DOF, Diario Oficial de la Federación (2017) Promulgatorio del Convenio de Minamata sobre el Mercurio, hecho en Kumamoto, Japón, el diez de octubre de dos mil trece. Publicación: lunes 31 de octubre de 2017.

Doukakis, P. H. (2011). Applying genetic techniques to study remote shark fisheries in northeastern Madagascar. Mitochondrial DNA, 15-20.

Dowdell, N. R., Andrade, R. E., Torres, N. C., González, A. Z., Haikin, A. V., Y C. G Reyes. (2003). Propuesta De Programa De Manejo De Tiburón Ballena (Rhincodon Typus) Con Referencia Específica A Bahía De Los Ángeles, Baja California

EC, (2004). Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member. Reports on task for scientific cooperation SCOOP, 3 2-11.

ECCO, E. C. (2 de July de 2008). Regulation N° 1881/2006 setting. Official Journal L, págs. 6-9.

EFSA, E. F. (2013). Mercury in Food— EFSA Updates Advice on Risks for Public Health. Obtenido de <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/121220.htm>[Consulta: sep, 2015]

EFSA. (2015). EFSA provides risk assessment on mercury in fish: precautionary advice given to vulnerable groups. Obtenido de <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/contam040318>[Consulta: nov, 2015]

EFSA (2018) Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food<sup>1</sup>. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)<sup>2</sup>, 3. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy published on 10 April 2018.

Elasmodrive. (2017). The elasmodriver shark and ray field guide. Obtenido de Blacktip Shark picture: [http://www.elasmodiver.com/Blacktip\\_Shark\\_Pictures.htm](http://www.elasmodiver.com/Blacktip_Shark_Pictures.htm)[Consulta: sep, 2017]

Elika. 2005. *Mercurio en pescado*. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria.

Espinosa de los Monteros A. 2007. Sistemática y evolución molecular: su importancia en la conservación de aves. En: H. Gómez de Silva y A. Oliveras de Ita (eds.). *Conservación de aves experiencias en México*. Editorial CIPAMEX. México.

Espinosa Pérez, H, J. L. Castro Aguirre y L. Huidrobo-Campos. (2004). Catálogo sistemático de tiburones (Elasmobranchii: Selachimorpha). Instituto de Biología, UNAM. Listados faunísticos de México IX. 133 p.

Evans, John., Fernández Bremauntz A., Gavilán García A., Ize Lema I., Martínez Cordero M. A., Ramírez Romero P., Zuk M. (2003). *Introducción al análisis de riesgos ambientales*. México: INE-SEMARNAT.

FAO/Gobierno de Suecia (1995). Administrative report of the Technical Consultation on the Precautionary Approach to Capture Fisheries (Including Species Introductions). Lysekil, Sweden, 6-13 June 1995 (A scientific meeting organized by the Government of Sweden in cooperation with FAO) Rapport administratif de la Consultation technique sur l'approche de précaution appliquée aux pêches (y compris les introductions d'espèces). Lysekil, Suède, 6-13 juin 1995 (Réunion scientifique organisée par le Gouvernement suédois en coopération avec la FAO) Informe administrativo de la Consulta Técnica sobre el Enfoque Precautorio para la Pesca de Captura (incluidas las introducciones de especies). Lysekil, Suecia, 6-13 de junio de 1995 (Reunión Científica organizada por el Gobierno de Suecia en cooperación con la FAO). FAO Fisheries Report/FAO Rapport sur les pêches/FAO Informe de Pesca. No. 527. Rome/Roma, FAO. 1995. 25 p.

FAO. (2007). *Análisis de riesgos relativos a la inocuidad de alimentos*. Roma: Organización Mundial de la Salud.

Figuroa Navarrete A., (1982). Mercurio y Metilmercurio. In: *Mercurio en México*. México: s.n., p. 387.

Fishtag, G. (2017). Gray Fishtag. Obtenido de <http://grayfishtagresearch.org/category/registered-fish/silky-shark/>[Consulta: sep, 2017]

Fuentes, D. d. (09 de 11 de 2006). Elasmobranquios. Yucatán, Yucatán, México.

García, J. O., Tortajada, J. F., Conesa, A. C., & Castell, J. G. (2005). Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. *Acta Pediatr Esp*, 63, 182-192.

García Cepero, A. M., López Forero, Y., y Riaño Herrera, N. M. (2006). Aplicación de una técnica de cromatografía de exclusión molecular para la purificación de ADN en plantas de *coffea sp.* *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 59(2), 3499-3507.

Grébov, D. F., & Agüero, M. (2007). Ordenación de la capacidad pesquera: panorama general. *FAO Documento Técnico de Pesca (FAO)*, (461). Godin, A. C., y Morgan, A. (2011). Pesca incidental de tiburones: Alternativas de mitigación.

Washington DC: PEW Environmental Group.

Goldwater, L. J. (1972). *Mercury: A history of quicksilver.*

Golubitsky M. and Guillemin V (1974). *Stable Mappings and Their Singularities.* Graduate Texts in Mathematics 14, Springer-Verlag, USA.

González-Estecha, Montserrat., Andrés Bodas-Pinedo, José Jesús Guillén-Pérez, Miguel Ángel Rubio-Herrera, José M<sup>a</sup> Ordóñez-Iriarte, Elena M. Trasobares-Iglesias, Nieves Martell-Claros, Jesús Román Martínez-Álvarez, Rosaura Farré-Rovira, Miguel Ángel Herráiz-Martínez, Txantón Martínez-Astorquiza, Elpidio CalvoManuel, María Sáinz-Martín, Irene Bretón-Lesmes, SantiagoPrieto-Menchero, M<sup>a</sup> Teresa Llorente-Ballesteros, M<sup>a</sup> José Martínez-García, Jordi Salas-Salvadó, Pilar Bermejo-Barrera, José Antonio García-Donaire<sup>9</sup>, M<sup>a</sup> Ángeles Cuadrado-Cenzual,

Carmen (2014) Exposición al metilmercurio en la población general; toxicocinética; diferencias según el sexo, factores nutricionales y genéticos *Nutrición Hospitalaria.* Madrid, España 2014;30(5):969-988

ISSN 0212-1611 • CODEN NUH0EQ

Gallardo-Pino<sup>1</sup>, Rafael Moreno-Rojas<sup>6</sup>, Manuel Arroyo-Fernández<sup>12</sup> y Alfonso Calle-Pascual<sup>12</sup> Harada (1995), M. Minamata Disease: Methylmercury Poisoning in Japan

Caused by Environmental Pollution. En: *Critical Reviews in Toxicology*. 1995. Vol. 25, No. 1. p. 1-24.

Has-Schön E., Bogut I. y Strelec I. (2006). Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of River Neretva (Croatia). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 545-551. DOI: 10.1007/s00244-005-0047-2.

Health Canada. (2007). *Human Health Risk Assessment of Mercury in Fish and Health Benefits of Fish Consumption*. Her Majesty the Queen in Right of Canada. ISBN: 978-0-662-47023-6

Hidalgo Manosalvas, C. E. (2013). Protocolo de identificación molecular de especies de tiburón analizando muestras de Galápagos y Puerto López (Bachelor's thesis, Quito, 2013).

Holmes B.H., Steinke D. y R.D. Ward. (2009). Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95:280-288.

INAPESCA, (2014). Temporada de veda para la captura de tiburones en el Golfo de México y Mar Caribe, México: SAGARPA.

INAPESCA. (2013). INAPESCA. Disponible en: <http://www.inapesca.gob.mx/portal/conoce-al-inapesca/nosotros> [Consulta: jul, 2015], de

INEGI. (2016). Cuentame. Obtenido de Esperanza de vida. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/esperanza.aspx?tema=P> [Consulta: sep, 2017]

Ismail H. M. (2005). The role of omega-3 fatty acids in cardiac protection: an overview. *Front. Biosci.* 10, 1079-1088. DOI: <http://dx.doi.org/10.2741/1601>.

Jiménez, P. A. (2015). Genética forense aplicada a la identificación de tiburones en productos marinos mal etiquetados en mercados locales de la península de Baja California. Baja California Sur: Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Karp, G. (2011). *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos* (6a. McGraw Hill Mexico. Last, J. (2001). *A dictionary of epidemiology*. Nueva York: Oxford University.

Karlin, S., & Altschul, S. F. (1990). Methods for assessing the statistical significance of molecular sequence features by using general scoring schemes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(6), 2264-2268. Magnussen, J. E. P. E. K. C. S. C. N. C. H. A. R. y. S. M. S., (2007). Genetic tracking of basking shark products in international trade. *Animal Conservation*, pp. 199-206.

Lagnel Jacques, C. S. (2009). NOBLAST and JAMBLAST: New Options for BLAST and a Java. *Bioinformatics Applications Note*, 824-826.

Llop, Sabrina, Jesús Ibarluceab, Jordi Sunyerb, y Ferran Ballestera (2013) Estado actual sobre la exposición alimentaria al mercurio durante el embarazo y la infancia, y recomendaciones en salud pública. *Gaceta Sanitaria, España, Valencia*. 27(3):273–278

Mardini, A. (1984). Species identification of tissues of selected mammals by agarose gel electrophoresis. *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)*, 12(3), 249-251.

Martínez A. y E. Rincón. 2004. PCR. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Martínez, J., y Galván, F. (2007). Tiburones en el Ecuador: Casos de estudio. Fundación Escuela de Pesca del Pacífico Oriental, Programa de Manejo de Recursos Costeros, Manta.

McClymont, R. A., Fenton, M., y Thompson, J. R. (1982). Identification of cervid tissues and hybridization by serum albumin. *The Journal of Wildlife Management*, 46(2), 540-544.

Méndez, A. I., (2007). *Metodologías y Técnicas de Investigación aplicadas a la Comunicación*. Venezuela: Universidad del Zulia.

Merten C, Ferrari P, Bakker M, Boss A, Hearty A, Leclercq C, Lindtner O, Tlustos C, Verger P, Volatier JL and Arcella D, 2011. Methodological characteristics of the national dietary surveys carried out in the European Union as included in the European Food Safety Authority (EFSA) Comprehensive European Food Consumption Database. Food Additives & Contaminants. Part A, 28, 975-995.

Miller D.D. y S. Mariani. (2010). Smoke, mirrors, and mislabeled cod: poor transparency in the European seafood industry. *Front Ecol. Environ.* 8(10):517-521.

Morriset T, Ramirez-Martinez A, Wesolek N, et al 2013. Probabilistic mercury multimedia exposure assessment in small children and risk assessment. *Environ Int* 59:431–41

Oceana. (2013). Contaminación por mercurio. Disponible en: <https://pensamientosmarinos.wordpress.com/tag/contaminacion/>[Consulta: mar, 2016]

ONU. (2013). Convenio de Minamata sobre el mercurio. Conferencia de Plenipotenciarios (pág. 64). Genova: PNUMA.

ONU. (2017). Convenio de Minamata sobre el mercurio. Disponible en: <http://www.mercuryconvention.org/Convenio/tabid/5690/language/es-CO/Default.aspx>[Consulta: sep, 2015]

Ortega García, J. F. (2005). Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos sistema nervioso fetal y posnatal. *Pediatría*, 182-192.

Palumbi, S. R., y Baker, C. S. (1994). Contrasting population structure from nuclear intron sequences and mtDNA of humpback whales. *Molecular Biology and Evolution*, 11(3), 426-435.

Pank, M., Stanhope, M., Natanson, L., Kohler, N., y Shivji, M. (2001). Rapid and simultaneous identification of body parts from the morphologically similar sharks *Carcharhinus obscurus* and *Carcharhinus plumbeus* (Carcharhinidae) using multiplex PCR. *Marine Biotechnology*, 3(3), 231-240.

Penny ME, Creed-Kanashiro HM, Robert RC, Narro MR, Caulfield LE, Black RE (2005) Effectiveness of an educational intervention delivered through the health services to improve nutrition in young children: a cluster-randomised controlled trial.

Lancet. 2005;365 (9474):1863-72.

Perez, D. E. L., y Mesa, G. A. P. (2012). Trascendencia del metilmercurio en el ambiente, la alimentación y la salud humana. Producción+ Limpia, 6(2).

Pinhal, D. O. B. G. B. C. M. A., (2009). Genetic identification of the sharks *Rhizoprionodon porosus* and *R. landii* by PCR-RFLP and nucleotide sequence analyses of 5S rADN. Conservation Genet Resour, pp. 113-117.

Plaut, R. (1984). Analisis de riesgo. Alcance y limitaciones para el administrador de salud.

PNQR, (2008). Información sobre el mercurio, Argentina: Buenos Aires.

Ramírez Romero, P., Ramírez. Islas. J. E. Padilla. Torres. J. G. Trejo. e. I. Arellano. López., (2012). Evaluación del riesgo a la salud por exposición a mercurio debido al consumo de peces marinos en comunidades de pescadores., DF:

UAMI/SEMARNAT

Ramirez-Amaro, S. R., Cartamil, D., Galvan-Magaña, F., Gonzalez-Barba, G., Graham, J. B., Carrera-Fernandez, M., y Rochin-Alamillo, A. (2013). Artesanal de elasmobranchios en la costa Pacifico de Baja California Sur, México, implicaciones para su gestión. Scientia Marina, 77(3), 473-487.

Reyes Victoria, J.G. (1996). Cálculo Diferencial para las Ciencias naturales, Trillas, México

Rimann, X. L. (2014). Mercurio en pescados y su importancia en la salud. Médica de Chile, 1174-1180.

Rosa, RS, Castro, ALF, Furtado, M., Monzini, J. y Grubbs, RD (2006). *Ginglymostoma cirratum*. La Lista Roja de Especies Amenazadas 2006 de la UICN: e.T60223A12325895. Descargado el 26 de noviembre de 2017.

Ruelas, J., Páez, F., Ruiz, A. C., Zamora, N., 2011. Health risk associated to dietary intake of mercury in selected coastal areas of Mexico. *Bull Environ Toxicol*. 86, pp. 180-188.

SAGARPA. (2016). Obtenido de SAGARPA periodos y zonas de veda de pesca de tiburón en el Golfo de México y Mar Caribe Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2014B371.aspx>[Consulta: jul, 2018]

SAGARPA. (2013). Catálogo de Aletas, tronchos y cabezas de tiburones en el Pacífico Mexicano. México: Sagarpa.

Salamanca, U. d. (13 de 05 de 2018). Banco Nacional de AND Carlos III. Obtenido de <http://www.bacoarding.org/docs/programa-control-calidad-muestras.pdf>

Salgado, C. (2011). Identificación molecular de especies de *Monilinia* spp. Que afectan la producción de durazno, *Prunus Pérsica*, en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha y Tungurahua. Tesis para la obtención del título licenciatura en Biotecnología. USFQ.

Sanchez, D. A. (2012). Identificación y cuantificación de especies del género *merluccius* mediante la utilización de PCR a tiempo real. España: Universidad de Vigo.

Sanger F., Nicklen S. y Coulson A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74, 5463-7

Sanz, L. D., y Cadena, C. D. (2007). Estudios Bromatológico y de calidad de cuatro especies de tiburones desembarcados en Manta, Ecuador. *EPESPO*, 78-82.

Sardinas Pena, Olivia; Trujillo, Concepción; Garcia Melian, Maricel y Fernandez Novo, Marta. Evaluación de riesgos para la salud por exposición a residuos peligrosos. Rev Cubana Hig Epidemiol [online]. 2001, vol.39, n.2

Scheaffer, R. M., y Lyman, W. R. 2007. Elementos de muestreo (6aed.). Madrid: Thomson Editores.

SEMARNAT (2010). Secretaria de Medio ambiente y Recursos Naturales. 2010.

NORMA Oficial Mexicana NOM-059SEMARNAT-2010, Protección ambiental Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.

Shimbark. (2016). Shark-World. Disponible en: <http://www.sharksworld.com/tiburon-tigre/> [Consulta: oct, 2016]

Shivji M.S., Chapman D.D., Pikitch E.K. y P.W. Raymond. (2002). Genetic profiling reveals illegal international trade in fins of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. Conservation Genetics 6: 1035-1039.

SNIIM. (2017). Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados.

Disponible en: <http://www.economia-niim.gob.mx/2010prueba/PesqNuevaViga.asp?Tipo=T&Cons=D&prod=875&ori=T&dqDia=24&dqMes=11&dqAnio=2017&aqDia=24&aqMes=11&aqAnio=2017&Orden=P&Formato=Xls&submit=Ver+Consulta> [Consulta: feb, 2018]

Soria, M. L., y Repetto, M. A. N. U. E. L. (1995). Estado actual de la toxicología del mercurio. Toxicología Avanzada, Madrid.

Stan, C. (2013). Codex standard for named vegetable oils. FAO/WHO, Rome (CODEX STAN 210-1999).

STRI. (2017). Instituto Smithsonian de Investigación Tropical. Disponible en: <http://biogeodb.stri.si.edu/sftep/es/thefishes/species/103> [Consulta: ene, 2017]

Swing, K. (2011). ¿Estamos acabando con los tiburones? Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Quito.

Takeuchi T., M. H. (1962). A Pathological Study of Minamata Disease in Japan. *Acta Neuropathologica*, 1-18.

Tamay de Dios, L., Ibarra, C., y Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*, 2(2), 70-78.

Teletchea Fabrice, Celia Maudet and Catherine Haenni (2005). Food and forensic molecular identification: update and challenges. *TRENDS in Biotechnology* Vol.23 No.7 July 359-366.

Thommasen, H. T. (1989). Development of ADN Fingerprints for Use in Wildlife Forensics. *Wildl. Soc. Bull.*, 321-326.

Turtle Island Restoration Network. Mercury Calculator. (2006); Disponible en: <http://gotmercury.org/article.php?list=type&type=75>. [Consulta: noviembre 19, 2017]

UASLP. (2008). Protocolos y métodos Laboratorio de Genómica Viral y Humana Facultad de Medicina UASLP. Disponible en: [http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Gral\\_Buffer\\_TAE\\_TBE.pdf](http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Gral_Buffer_TAE_TBE.pdf)

USEPA, (2000). Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. Washington, DC. USA: s.n.

USEPA, (2001). Guidance for implementing the january 2001 Methylmercury water quality criterion, USA: EPA.GOV.

USEPA, (2008). Guía para la evaluación de contaminantes químicos utilizados para la verificación de la Pesca, USA: EPA 823-B-00-008.

- USEPA (2010). United States Environmental Protection Agency. Methylmercury (MeHg). 2001; Disponible en: <http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm>. [Consulta: mayo, 2017]
- Vannuccini, S. (1999). Shark utilization marketing and trade. FAO Fisheries Technical Paper No.389. Roma: FAO.
- Vienne, Dominique. (2002) Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology. EnfieldUSA: Science publishers, INC.
- Walker, T. I. (1998). Can shark resources be harvested sustainably? A question revisited with a review of shark fisheries. *Marine and Freshwater research*, 49(7), 553-572.
- Walker, T.I. (2016). *Pristiophorus cirratus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T39327A68640973.  
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T39327A68640973.en>. Downloaded on 26 November 2017. [Consulta: abr., 2016]
- Ward R.D., Holmes B.H., White W.T. y P.R. Last. 2008. DNA barcoding Australian chondrichthyans: results and potential uses in conservation. *Marine and Freshwater Research* 59(1):57-71.
- Weinberg, J. (2009). Introducción a la contaminación por Mercurio para las ONG, EUA: International POP's Elimination Network.
- WHO, W. H. (2017). Exposure to Mercury: A Major Public Health Concern. Disponible en: <http://www.who.int/phe/news/>[Consulta: sep, 2017]
- Wong E.H.-K. y R.H. Hanner. (2008). DNA barcoding detects market substitution in North American Seafood. *Food Research International* 41:828-837.
- Zárate Rustrián J. (2002). Biología y pesquería de tiburón martillo, *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1843) en las aguas costeras del Golfo de México. Tesis de Licenciatura de Ciencias. UNAM. 77 p.

Zamora-Arellano, N., Ruelas-Inzunza, J., García-Hernández, J., Ilizaliturri-Hernández, C. A., & Betancourt-Lozano, M. (2017). Linking fish consumption patterns and health risk assessment of mercury exposure in a coastal community of NW Mexico. *Human and Ecological Risk Assessment*

Zamora-Arellano, N. Y., Betancourt-Lozano, M., Ilizaliturri-Hernández, C., García-Hernández, J., Jara-Marini, M., Chávez-Sánchez, C., & Ruelas-Inzunza, J. R. (2018). Mercury Levels and Risk Implications Through Fish Consumption on the Sinaloa Coasts (Gulf of California, Northwest Mexico). *Risk Analysis*.

Zahir, F., Rizwi, S. J., Haq, S. K., & Khan, R. H. (2005). Low dose mercury toxicity and human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(2), 351–360

Zuk M., Martínez M. A. (2010). Introducción al análisis de riesgos ambientales. *Incertidumbre y vulnerabilidad*. Instituto Nacional de Ecología 113-126 p.

## **ANEXO I “ENCUESTA”**



Esta alerta al tiempo



### Encuesta

Sexo:            Hombre: \_\_\_\_\_ Mujer: \_\_\_\_\_  
 Peso (Kg): \_\_\_\_\_ Estatura (m): \_\_\_\_\_

1. ¿Número de integrantes en su hogar?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Especificaciones
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---------	------------------

¿Número de personas que consumen pescado en su hogar?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Especificaciones
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---------	------------------

2. ¿Número de mujeres entre 15 y 45 años que consumen pescado en su hogar y cantidad que consume?

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso corporal kg/cada consumidor
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

3. ¿Número de niños menores a 15 años que consumen pescado en su hogar y cantidad que consumen?

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso corporal kg/cada consumidor
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

4. ¿Número de personas que pertenecen a la tercera edad que consumen pescado en su hogar y cantidad que consumen?

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso corporal kg/cada consumidor
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

5. ¿Número de varones mayores a 15 años y menores a 60 años que consumen pescado en su hogar y cantidad que consumen?

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso corporal kg/cada consumidor
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

Mencione el tipo de pescado que consume con mayor frecuencia

6. Filete de pescado

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo



Caso dentro del tiempo



**7. Carne para ceviche**

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

**8. Nuggets de pescado**

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

**9. Carne para caldo de pescado**

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

**10. Pescado ahumado**

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

**11. Otro**

# personas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9 o mas	Peso Kg/producto comprado
Gramos	0	100	150	200	300	400	500	600	700	800	Frecuencia de consumo

OBSERVACIONES

---



---



---



---



---

**ANEXO II “CONSULTA DE EXPERTOS”**

**Anexo II. Evidencia científica de algunos estudios previos realizados sobre la problemática de la sobrepesca, identificación y problemas por consumo de tiburón.**

AUTOR y AÑO	TITULO	TÉCNICA
Pank <i>et al.</i> 2001	Rapid and Simultaneous Identification of Body Parts from the Morphologically Similar Sharks <i>Carcharhinus obscurus</i> and <i>Carcharhinus plumbeus</i> (Carcharhinidae) Using Multiplex PCR.	Extracción de ADN. Con el espaciador (ITS2) se amplificó con PCR estándar empleando cebadores universales de tiburón FISH5.8SF.
Chapman <i>et al.</i> 2003	A streamlined, bi-organelle, multiplex PCR approach to species identification: Application to global conservation and trade monitoring of the great white shark, <i>Carcharodon carcharias</i> .	PCR multiplex
Shivji <i>et al.</i> 2005	Genetic profiling reveals illegal international trade in fins of the great white shark, <i>Carcharodon carcharias</i> .	PCR multiplex
Magnussen <i>et al.</i> 2006	Identification of Shark Species Composition and Proportion in the Hong Kong Shark Fin Market Based on Molecular Genetics and Trade Records.	La técnica se basa en las diferencias de secuencia de ADN entre las especies de tiburones utilizando el locus ITS2 de ADN.
Clarke <i>et al.</i> 2006	Identification of Shark Species Composition and Proportion in the Hong Kong Shark Fin Market Based on Molecular Genetics and Trade Records.	PCR multiplex
Sebastián <i>et al.</i> 2008.	Characterization of the pelagic shark-fin trade in north-central Chile by genetic identification and traders surveys	Para la identificación se realizó por medio de PCR múltiple la técnica de (Shivji <i>et al.</i> , 2002), con los dos cebadores universales tiburones y 10 especie-específicos
Bronwynet <i>et. al.</i> 2009	Identification of shark and ray fins using DNA barcoding	Extracciones de ADN del protocolo descritos en Walsh <i>et al.</i> , (1991) también Hajibabaei <i>et al</i> (2005). Etapa 2: Se extrajo ADN utilizando un protocolo automatizado de fibra de vidrio (Ivanova <i>et al.</i> , 2006).
Danillo <i>et al</i> 2009	Identificación genética de los tiburones <i>Rhizoprionodon porosus</i> y <i>R. lalandii</i> por PCRRFLP y nucleótidos de la secuencia	ADN genómico fue extraído (Aljanabi y Martínez, 1997)
Mendonc, <i>et al</i> (2010)	Identificación genética de <i>Lamniform</i> y <i>Carcharhiniform</i> tiburones mediante PCR multiplex	El ADN genómico fue extraído usando el método de extracción salina descrito por Aljanabi y Martínez (1997). Reacciones de amplificación de la subunidad del gen citocromo oxidasa I (COI)
Barbuto, <i>et al</i> 2010	DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” ( <i>Mustelus spp.</i> )	La preparación de tejido muscular utilizando el método del tiocianato de guanidinio y

		tierra de diatomeas (Gerloff <i>et al.</i> , 1995).
Sebastián, 2010	A multidisciplinary approach to identify pelagic shark fins by molecular, morphometric and digital correlation data	PCR multiplex
Demian <i>et al</i> 2011	El comercio de aletas de seguimiento: identificación genética común en el Atlántico occidental festoneado tiburón martillo <i>Sphyrna lewini</i>	Especie-specific PR multiplex a 62 aletas de tiburón, amplificando por el pcr y protocolos de secuencia mtCR Duncan <i>et al</i> (2006), 547 bp
Doukakis, et al. 2013	Aplicación de técnicas genéticas para el estudio de las pesquerías de tiburón remoto en Madagascar noreste	Extracción de ADN, amplificación por PCR y la secuencia de DNA COI códigos de barras Los cebadores específicos para cada especie fueron diseñados para amplificar específicamente las porciones de la región ITS2.
Hidalgo Manosalvas, C. E. (2013)	<u>Protocolo de identificación molecular de especies de tiburón analizando muestras de Galápagos y Puerto López</u>	
<b>SUSTITUCIÓN DE PRODUCTOS PESQUEROS POR TIBURÓN y/o PROBLEMAS DE SOBRE PESCA PARA CONSUMO</b>		
Bostock, T., y Herdson, D. (1985).	La pesca y utilización del tiburón en el Ecuador.	
BANDA, R. G. H (2000)	Determinación de mercurio total en hígado y musculo de tiburones provenientes de las pesquerías de Sonora y Sinaloa, México.	
Alvarez Capote, J. S. (2007).	Sustitución de harina de pescado por harina de soya e inclusión de aditivos en el alimento a fin de mejorar la engorda del camarón blanco <i>Litopenaeus schmitti</i> .	
Masid, M., y Mateo, J. A. (2008).	De la sustitución a la exportación. El sector pesquero argentino entre 1930 y 1965.	
Betancourt, S. H., Flores, F. S., Segura, L. C., y Sélem, C. I. (2011).	Los tiburones en la costa norte de Yucatán: ¿poblaciones amenazadas por la sobrepesca?	
Mendoza-Díaz, F., Serrano, A., Cuervo-López, L., López-Jiménez, A., Galindo, J. A., y Basañez-Muñoz, A. (2013).	Concentración de Hg, Pb, Cd, Cr y As en hígado de <i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes: <i>Carcharhinidae</i> ) capturado en Veracruz, México. <i>Revista de Biología tropical</i> , 61(2), 821828.	
Rodriguez, J. E. (2017).	Level of mercury in tuna ( <i>Thunnini</i> ) and shark ( <i>Selachimorpha</i> ) in Costa Rica. <i>UNED Research Journal</i> , 9(1).	
<b>AUTOR</b>	<b>TESIS</b>	<b>GRADO</b>

Maz, A., y López, C. (2006).	Biomagnificación y bioacumulación de mercurio en cuatro especies de tiburón de la península de Baja California Sur, México.	Licenciatura en Biología marina
Escribá, C., Soto, M., y García, J. (2007)	Cuantificación de mercurio (Hg), por la técnica de espectrometría de absorción atómica con celda de vapor frío (FIAS), en muestras de carne de tiburón provenientes de las costas del Atlántico y Pacífico de la República de Guatemala	Maestría
Hurtado, R. (2010).	Determinación de mercurio total en hígado y músculo de tiburones provenientes de las pesquerías de Sonora y Sinaloa, México.	Maestría en <i>Biociencias, México</i>
Escobar Sánchez, O. (2011).	<i>Bioacumulación y Biomagnificación de mercurio y selenio en peces pelágicos mayores de la Costa Occidental de Baja California Sur, México</i>	Doctorado en Ciencias Marinas
Ana Cristina Sánchez Díaz 2012	Identificación y Cuantificación de Especies del Género <i>Merluccius</i> Mediante la Utilización de PCR a Tiempo Real	Doctorado
Alexis Alejandro Jiménez Pérez 2015	Genética forense aplicada a la identificación de tiburones en productos marinos mal etiquetados en mercados locales de la Península de Baja California	Licenciatura en Biólogo Marino
Calderón, M., y José, M. (2014). (Bachelor's thesis, Quito, 2014).	¿Comemos tiburón? identificación molecular de carne de tiburón de venta en mercados y pescaderías del Distrito Metropolitano de Quito	Maestría
S. Caballero, d. Cardenosa, g. Soler and j. Hyde	Application of multiplex PCR approaches for shark molecular identification: feasibility and applications for fisheries management and conservation in the Eastern Tropical Pacific	Maestría
Autor	Artículo y/o libro mercurio	Otros
Núñez Nogueira G., Bautista Ordóñez, J., Rosiles Martínez, R. (1998)	Concentración y distribución de mercurio en tejido del cazón ( <i>Rhizoprionodon terraenovae</i> ) del Golfo de México	Se tomaron 5 g de tejido, posteriormente se realizó la digestión húmeda (ácido nítrico y perclórico). La determinación de mercurio se realizó con la técnica de hidruros acoplado a un espectrofotómetro de absorción atómica
Núñez Nogueira, G., Bautista Ordoñez, J., y Rosiles Martínez, R. (1998)	Concentración y distribución de mercurio en tejidos del cazón ( <i>Rhizoprionodon terraenovae</i> ) del Golfo de México.	
Ramírez Romero, P. G. S. O. M. E. Ramírez. Islas. J. E. Padilla. Torres. J. G. Trejo. e. I. Arellano. López., (2012).	Evaluación del riesgo a la salud por exposición a mercurio debido al consumo de peces marinos en comunidades de pescadores., DF: UAMI/SEMARNAT	

Arellano, L. I., (2012).	Análisis de Riesgos a la Salud por consumo de peces.	Licenciatura
Sylvie Boucher de Grosbois (2013)	Informe resumido sobre contenido de mercurio en tejidos de peces de México	Para la determinación de mercurio se utilizó el AMA-254 (analizador de mercurio), equipado con un automuestreador para muestras sólidas ASS-254 (Altec, República Checa).
H. Okyere, R.B. Voegborlo, S.E. Agorku. 2015	Human exposure to mercury, lead and cadmium through consumption of canned mackerel, tuna, pilchard and sardine	
Francisco Buitrago 2011	La exposición al mercurio que conlleva la ingesta de pescado contaminado no se asocia a una mayor incidencia de enfermedad cardiovascular en adultos americanos	

Nota: Los límites permisibles para consumo de carne de tiburón se observan en la tabla 11 de capítulo 9 de presente estudio. En México no se tiene límites para este tipo de alimento.

### **ANEXO III “INFORMACIÓN ADICIONAL”**

## INFORMACIÓN ADICIONAL

### *Purificación y secuenciación*

Las muestras de algunos tiburones (mako T-3, sedoso T-1 y tigre T-5) y de algunas muestras de productos pesqueros (carne para ceviche CE17, carne para quesadillas P/Q3, filete económico FE5, carne para caldo P/C6,), se llevaron a laboratorio Divisional de Biología Molecular de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, donde se realizó la purificación del gel de agarosa y la secuenciación.

La reacción de la PCR para secuenciación está basada en el método desarrollado por Sanger y colaboradores (1977). Se utilizó un termociclador donde se aplicaron ciclos de desnaturalización, anillamiento del cebador y extensión. A lo largo de los ciclos se fueron introduciendo aleatoriamente los ddNTP marcados fluorescentemente. Éstos carecen de un grupo OH en la posición 3' de la ribosa y detienen la elongación del ADN. De esta forma se produjeron amplicones de todos los tamaños posibles, desde el cebador más un nucleótido ddNTP hasta la molécula que abarca la longitud completa del amplicón. La detección del ddNTP marcado de cada uno de los fragmentos permitió obtener la secuencia completa del fragmento de ADN.

La reacción de secuenciación (tabla 3) se llevó a cabo mediante el *Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit* (Perkin Elmer), de acuerdo con el protocolo sugerido por el fabricante, basado en el método de Sanger. El producto se purificó en columnas *Centri Sep* con *sephadex* para eliminar el colorante que no se incorporó en la reacción. Las muestras se secuenciaron automáticamente en el equipo *ABI PRISM 3130XL* (*Applied Biosystems* Hitachi). Se utilizó el par de oligonucleótidos (FISH5.8SF y FISH28SR) a una concentración de 10  $\mu$ M. Se añadió una concentración final de 10 ng de ADN.

Tabla 11. Programa de ciclos de la PCR para secuenciación

Etapa	Temperatura	Tiempo	Número de Ciclos
Desnaturalización inicial	94°C	1 min	1
Desnaturalización	94°C	10 min	27
Hibridación	50°C	5 min	
Extensión	60°C	4 min	
Conservación	4°C	∞	1

### Secuenciación

Se seleccionaron algunas de las muestras positivas en los ensayos de la PCR y se mandaron a secuenciar. Los resultados se analizaron con el programa software BLASTn (Altschul et al., 1997) para determinar el porcentaje de identidad correspondiente a diferentes especies de tiburones, mediante el puntaje (*score*) y el valor esperado (valor E) que presentaron, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 1. Porcentaje de identidad genética entre las muestras de este estudio y especie de tiburones conocidas

MUESTRA	DESCRIPCIÓN	NOMBRE COMÚN	valor E	IDENTIDAD
FE5 Filete económico (141)	<i>Isurus oxyrinchus</i> (174)	Tiburón mako	2e-34	81%
P/Q3 Carne para quesadillas (567)	<i>Carcharhinus brevipinna</i> (683)	Tiburón aleta negra	1e-178	83%
T-1(632)	<i>Isurus oxyrinchus</i> (732)	Tiburón mako	0.0	86%

Algunos de los parámetros a evaluar en la secuenciación son el porcentaje de identidad y el valor esperado (valor E). Éste es un parámetro que describe el

número de coincidencias que uno espera observar por casualidad al buscar en una base de datos de un tamaño en particular, teniendo en cuenta que las alineaciones

cortas tienen mayor probabilidad de coincidir de forma aleatoria con fragmentos de las cadenas de ADN que se están analizando. Los valores más bajos (cerca de cero) serán estadísticamente más significativos entre una secuencia y otra.

El valor E depende del tamaño de la base de datos. Para bases de datos muy pequeñas, los valores E altos son más significativos que para bases de datos muy grandes. Para la base de datos del NCBI, que no es redundante (NR) por lo general los valores E de 0.01 o menos son considerados como significativos, pero esto puede depender de la secuencia que se esté analizando.

El valor E óptimo dado por el programa blast depende de la base de datos empleada y de la longitud de la secuencia (Lagnev, 2009).

En la secuenciación se utilizaron los oligonucleótidos universales para condrictios con tamaño de amplicón de 860 a 1470 pb diseñados para la familia Carcharinidae, Sphyrnidae y la especie *Galeocerdo cuvier*.

El filete económico es el más consumido por los integrantes de la muestra analizada. Se obtuvo 557 bp de ADN diana para la secuenciación, la cual un score de 147 bits de 162 y reveló un porcentaje de identidad de 81% (141/174) con el tiburón mako (*Isurus oxyrinchus*) y un valor E de  $2e^{-34}$ , lo que implica un resultado significativo. El consumo de este animal implica riesgo a la salud, puesto que es un organismo de gran tamaño, lo que aumenta la cantidad de metilmercurio acumulado.

Además, en la base de datos de la biblioteca pública del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI; por sus siglas en inglés), la misma muestra coincide con otras especies de tiburón, por lo que se puede comprobar la efectividad de los oligonucleótidos universales para condrictios.

En el caso de la muestra de carne de pescad para hacer quesadillas P/Q3, se secuenció un fragmento de 812 pb, la cual coincidió con el tiburón aleta negra

(*Carcharhinus brevipinna*) con un porcentaje de identificación del (567/683) 83%. Sin embargo, el valor E fue de  $1e-178$

El porcentaje de identidad de la muestra T-1 fue (632/737) 86% con la especie *Isurus oxyrinchus* y un valor E de 0.0. Se obtuvo 923 pb del fragmento a secuenciar, con un score de 796 bits de 882, por lo que el resultado es significativo.

Las muestras de filete económico y T-1, esta especie tiene algún tipo de protección a nivel internacional de acuerdo con *Red List of Threatened Species* (2017) de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (*IUCN*; por sus siglas en inglés). El tiburón mako (*Isurus oxyrinchus*) se encuentran en la categoría de vulnerable, que quiere decir que la población de esta especie se encuentra en decadencia y la otra especie pertenecen a la categoría LC (preocupación menor).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00025

Matrícula: 2151801000

IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE TIBURONES COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE MÉXICO COMO CARNE DE PESCADO Y EVALUACIÓN DE RIESGO A LA SALUD POR SU CONSUMO.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:30 horas del día 13 del mes de diciembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA SOSA  
DR. HECTOR BARRERA VILLA ZEVALLOS  
DRA. ANIA MENDOZA CANTU  
DR. JOSE GUADALUPE REYES VICTORIA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS (ENERGIA Y MEDIO AMBIENTE)

DE: LAURA GUADALUPE ELIZALDE RAMIREZ

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

*Aprobar*

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



LAURA GUADALUPE ELIZALDE RAMIREZ  
ALUMNA

REVISÓ



DR. JOSE ANTONIO DE LOS REYES HEREDIA  
SECRETARIO GENERAL

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBI



DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTA



DRA. IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA SOSA

VOCAL



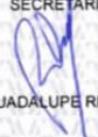
DR. HECTOR BARRERA VILLA ZEVALLOS

VOCAL



DRA. ANIA MENDOZA CANTU

SECRETARIO



DR. JOSE GUADALUPE REYES VICTORIA