

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIDAD IZTAPALAPA



EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN DOS ESPECIES DEL GÉNERO *Peromyscus* (RODENTIA: MURIDAE) QUE COHABITAN EN EL PARQUE NACIONAL DESIERTO DE LOS LEONES.

TESIS

PRESENTA:

Moisés Andrade Herrera

Para obtener el grado académico de Maestro en Biología

Director de tesis: Dr. Arturo Salame Méndez

Codirector de tesis: Dr. Jaime Rendón von Osten

Asesor: Dr. José Luis Gómez Olivares

Mayo 2011

**“La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma
Metropolitana pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de
Excelencia del CONACYT”**

El jurado designado por la División de ciencias Biológicas y de la salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Moisés Andrade Herrera

El día 25 de mayo de 2011

Comité Tutorial

Tutor: Dr. P. Arturo Salame Méndez

Tutor: Dr. Jaime Rendón von Osten

Asesor: Dr. José Luis Gómez Olivares

Sinodal: Dra. A. Alondra Castro Campillo

Sinodal: Dra. Rosa María Gómez Ugalde

Sinodal: Dr. Héctor Fernando Serrano

A la memoria de mi madre

A mi padre

AGRADECIMIENTOS.

Al CONACYT por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

A la coordinación de la Maestría en Biología de la UAM-I y en particular al Dr. José Alejandro Zavala Hurtado, por las facilidades para poder realizar mis estancias en la Ciudad de Campeche.

Al Dr. Arturo Salame Méndez, padre académico, por su persistente guía, apoyo y estímulo constante en todo momento desde que tuve la oportunidad de conocerle y por la fortuna de trabajar bajo su dirección, siempre estaré agradecido por la confianza y amistad que me brindó.

Al Dr. Jaime Rendón von Osten, por las enseñanzas y facilidades otorgadas en su laboratorio durante mi estancia en Campeche, pero principalmente por la calidez y amistad que recibí por parte de su familia.

Al Dr. José Luis Gómez Olivares, por la asesoría recibida a lo largo de mis estudios de Maestría y las facilidades en su laboratorio, por sus comentarios, observaciones y la siempre amable disposición a atender mis consultas.

A la Dra. Alondra Castro Campillo, por sus valiosos consejos académicos y personales desde que inicié este proyecto, por la oportunidad de colaborar en su laboratorio y por la invaluable amistad que me une a su familia.

A la Dra. Rosa María Gómez Ugalde, por sus valiosos aportes que sin lugar a dudas ayudaron a mejorar la calidad de este trabajo.

Al Dr. Héctor Fernando Serrano, por acceder a participar como sinodal y por sus admirables comentarios a este escrito que me ayudaron a enriquecerlo en gran medida.

A mis amigos y compañeros del grupo TEIRA, Jesús Vergara, Omar Durán, Alejandro Flores, Jiro Matsumoto y Eduardo Carrasco, por su constante apoyo, con ellos viví los mejores momentos de mi estancia en la Maestría, gracias por su amistad.

A Noé, Luis, Jonathan, Fernando y Mireya por los inolvidables momentos vividos durante todo el tiempo de conocernos.

A Juan Patiño, por sus enseñanzas y los inolvidables momentos en el trabajo de campo, descasa en paz mi buen “Jhonny”.

A Nelly e Iván por su amistad desde el primer momento en que llegué a Campeche, siempre les estaré agradecido por la hospitalidad que me brindaron, a Alex y Liss, su valiosa ayuda me permitió realizar con éxito el trabajo experimental, a Jazmín, Moncho, Mathieu, Typhenn y Mauricio, gracias por su amistad y por hacer sumamente agradable mi vida campechana.

Especialmente a Berna Uribe, mi motor para crecer personal y profesionalmente, gracias por estar conmigo, los momentos más importantes de mi vida fueron junto a ti.

A mis padres, ejemplo de la lucha diaria y del esfuerzo por salir adelante, a mis hermanos Leticia y Alberto, a mi abuela mi segunda madre, a mis sobrinos, tíos y primos, gracias por siempre estar junto a mí.

A todas las personas que han hecho posible la realización de esta Tesis.

RESUMEN

La contaminación atmosférica en la Cuenca del Valle de México es un problema que afecta a sus ecosistemas, incluyendo a las poblaciones de ratones que habitan en bosques aledaños. Debido a esto, en el presente trabajo, se documentó el efecto fisiológico causado por los contaminantes ambientales (CA) sobre dos especies de *Peromyscus*, que cohabitan el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL), para determinar si pueden servir como bioindicadores de daño por CA. Con base en la utilización de biomarcadores (AChE, BuChE, CAT y GST) en plasma, hígado y músculo esquelético, se comparó la actividad entre especies y sexos, en diferentes temporadas climáticas. Los biomarcadores indican, que ambas especies muestran un patrón similar a lo largo del año, encontrándose una inhibición hacia la temporada seca del año, coincidiendo con la frecuencia de inversiones térmicas; debido a estas similitudes en la expresión de los biomarcadores, ambas podrían servir en un momento dado como un efectivo bioindicador. Sin embargo, al compararlas sin considerar la variación temporal, quedan de manifiesto las diferencias que prevalecen entre ellas; en particular el tamaño parece jugar un papel importante en la asimilación de agentes xenobióticos ya que *P. melanotis*, la especie con mayor tasa metabólica, presenta una elevada actividad de biomarcadores. Machos y hembras no mostraron diferencias significativas en la actividad de ninguno de los biomarcadores analizados, por lo que esta distinción no parece ser un criterio de peso para la elección de algún bioindicador. Este trabajo es el primero realizado en el PNDL que utiliza estas herramientas y deja de manifiesto que hay un efecto en los organismos debido a la exposición a CA. Se recomienda continuar con los estudios para precisar qué contaminantes y de qué manera afectan a las especies de fauna silvestre que habitan este Parque Nacional.

ABSTRACT

Air pollution in the Mexico City Basin is a problem that affects ecosystems, including populations of mice living in surrounding forests. Because of this, in this study, we documented the physiological effects caused by environmental pollutants (CA) on two species of *Peromyscus*, cohabiting National Park Desierto de los Leones (PNDL) to determine whether they can serve as biomarkers of damage by CA. Based on the use of biomarkers (AChE, BuChE, CAT and GST) in plasma, liver and skeletal muscle, we compared the activity between species and sexes, in different climatic seasons. Biomarkers indicate that both species show a similar pattern throughout the year, found an inhibition to the year's dry season, coinciding with the frequency of inversions, because of these similarities in the expression of biomarkers, both could serve one time as an effective biomarker. However, when compared without considering the temporal variation is reflected by the differences that prevail among them, in particular the size seems to play an important role in the assimilation of xenobiotic agents and that *P. melanotis*, a species with higher metabolic rate, has a high activity biomarkers. Males and females showed no significant differences in the activity of any of the markers, so this distinction does not seem to be a relevant factor for the election of a biomarker. This work is the first study in the PNDL using these tools and makes it clear that there is an effect in organisms due to exposure to CA. We recommend continue with studies to clarify what pollutants and how they affect wildlife species that inhabit this park.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	3
	II.1. Contaminantes Atmosféricos.....	3
	II.2. Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs).....	6
	II.3. Plaguicidas.....	7
	II.4. Ecotoxicología y Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA).....	9
	II.5. Bioindicadores y Biomarcadores.....	11
	II.5.1 Bioindicador.....	11
	II.5.2 Biomarcadores	11
	II.5.3 Clasificación de los Biomarcadores.....	12
	II.5.3.1 Colinesterasas.....	15
	II.5.3.2 Glutation-s-transferasa (GST).....	16
	II.5.3.3 Catalasa (CAT).....	17
III.	ANTECEDENTES.....	18
	III.1. Características de la Ciudad de México.....	18
	III.2. Contaminación en la Ciudad de México y sus alrededores.....	20
	III.3. Daño fisiológico en fauna silvestre.....	22
	III.4. Trabajos con biomarcadores en fauna silvestre.....	23

IV.	JUSTIFICACIÓN.....	25
V.	OBJETIVOS.....	26
	V.1. Objetivo General.....	26
	V.2. Objetivos Particulares.....	26
VI.	HIPÓTESIS.....	26
	VI.1. Propuesta de hipótesis estadísticas.....	27
VII.	ÁREA DE ESTUDIO Y MODELOS BIOLÓGICOS.....	28
	VII.1. Área de estudio.....	28
	VII.2. Modelos biológicos.....	31
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
	VIII.1. Trabajo de campo.....	32
	VIII.2. Trabajo de laboratorio.....	32
IX.	RESULTADOS.....	35
	IX.1. Análisis de la Actividad Enzimática de biomarcadores.....	35
	IX.1.1. Comparación de Biomarcadores en Plasma.....	37
	IX.1.2. Comparación de Biomarcadores en Hígado.....	42
	IX.1.3. Comparación de Biomarcadores en Musculo esquelético.....	47
	IX.1.4. Comparación de Biomarcadores entre músculo esquelético e hígado.....	52
	IX.1.5. Correlaciones de Biomarcadores con contaminantes.....	54
X.	DISCUSIÓN.....	56
XI.	CONCLUSIONES.....	74

XII.	RECOMENDACIONES FINALES.....	77
XIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	78

I. INTRODUCCIÓN.

La contaminación atmosférica (CA) -o del aire- puede definirse como la presencia en la atmósfera de una o más sustancias o sus combinaciones, en cantidades y duración que pueden afectar la vida humana, de animales y plantas (Wark *et al.*, 1998). Los contaminantes atmosféricos considerados en las Normas Oficiales Mexicanas, para la salud ambiental, son las partículas suspendidas (*PS*), NOM-025-SSA2-1994; plomo (*Pb*), NOM-026-SSA1-1993; monóxido de carbono (*CO*). NOM-021-SSA1-1993; óxidos de azufre (*SO₂*), NOM-022-SSA1-1993; óxidos de nitrógeno (*NO_x*), NOM-023-SSA1-1993; e hidrocarburos y oxidantes fotoquímicos, NOM-020-SSA1-1993. Los primeros seis, son denominados contaminantes primarios, emitidos principalmente por la combustión de productos fósiles y procesos industriales, mientras que los oxidantes fotoquímicos como el ozono se producen en la atmósfera como resultado de reacciones fotoquímicas de los contaminantes primarios. Sin embargo, existen otros que son de igual importancia, dada su repercusión en la salud y en el impacto que generan a los ecosistemas en los que se depositan. Por ejemplo, está el grupo de compuestos químicos son los denominados compuestos orgánicos persistentes (COPs) que son mezclas de compuestos químicos a base de carbono presentes en organismos de diversos niveles tróficos, su persistencia se debe a que son bioacumulables y lipofílicos entre los que se encuentran diversos tipos de plaguicidas (Baird, 2001).

La Ciudad de México se encuentra entre las metrópolis más contaminadas del mundo, depositándose en ella gran cantidad de contaminantes producidos dentro de

ella y en sus alrededores; para el año de 2003 se calculaba que al año la ciudad arrojaba a la atmósfera cinco millones de toneladas de contaminantes (Munguía-Castro y Pérez-Neria, 2003). Sin embargo, el impacto de la contaminación sobre la fisiología de la fauna silvestre en ecosistemas terrestres aledaños a la Ciudad de México ha sido poco explorada; debido a esto es importante conocer los efectos de la constante carga de los diversos compuestos químicos sobre las poblaciones silvestres que pueden estar expuestas. Una forma de evaluar el efecto de la contaminación es mediante el uso de bioindicadores (organismos) y biomarcadores bioquímicos (celulares, moleculares y/o enzimáticos), los cuales pueden proporcionar señales tempranas del impacto de los xenobióticos sobre los organismos (Bickham et al., 2000), previas a que se desarrolle un efecto letal sobre los organismo y por ende sobre la población.

La forma en que un individuo de ambiente terrestre capta algún contaminante está determinado por circunstancias espacio-temporales de la emisión de los contaminantes (Smith *et al.*, 2007) así mismo la forma de exposición de los vertebrados terrestres está menos definida que los acuáticos (van der Oost, *et al.*, 2003). De tal manera, que en este estudio se documenta el daño fisiológico causado por los CA en tejidos de ratones del Género *Peromyscus* sin ser sometidos a condiciones controladas de laboratorio. Es decir, se evaluó el efecto que les causan los CA *in situ* durante las épocas de lluvias y secas en un bosque templado y mixto de coníferas aledaño a la Ciudad de México: el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL). El PNDL es el primer filtro para los contaminantes que llegan a la

Ciudad de México debido a la dirección de los vientos y lluvias. De tal manera, que la información reportada en el presente trabajo permite constatar que roedores del Género *Peromyscus* pueden ser considerados como modelos de bioindicadores de la CA.

II. MARCO TEÓRICO.

II.1. Contaminantes Atmosféricos.

Constantemente el ambiente es cargado de sustancias tóxicas, denominadas xenobióticos, que son compuestos químicos orgánicos exógenos liberados en el ambiente, principalmente por comunidades urbanas e industriales (van der Oost *et al*, 2003; Sarkar *et al.*, 2006). Entre estos xenobióticos están los CA considerados en las Normas Oficiales Mexicanas para la salud ambiental. Las PS son producto de procesos naturales -formación de gases- o antropogénicos estos últimos a partir de la quema de combustibles fósiles transformados en gasolinas vía automóviles y procesos industriales. Los riesgos sobre la salud que pueden provocar dependen de sus características, por ejemplo, por su contenido de metales pesados pueden bloquear las defensas del aparato respiratorio (NOM-025-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003). El tamaño de las PS es la característica física más importante para determinar su toxicidad; las partículas que miden más de 10 μm se retienen básicamente en las vías respiratorias superiores; las que miden menos de 10 μm tienen un efecto indirecto sobre el aparato respiratorio, debido a que pueden absorber agentes

microbiológicos predominando en la fracción respirable y penetrar hasta el espacio alveolar del pulmón (NOM-025-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003).

El *Pb* es uno de los metales pesados más ampliamente distribuidos en la tierra, igualmente su uso es muy diverso, por lo tanto, el riesgo a la exposición a este metal pesado, en general es muy variado (Vázquez *et al*, 2002). Una de las formas más frecuentes es como tetraetilo que es utilizado como antidetonante de las gasolinas (NOM-026-SSA1-1993), por lo que esta forma es la más común en la atmósfera. El *Pb* puede ingresar al organismo principalmente por ingesta debido a sus diversas aplicaciones, así como absorberse por vía respiratoria, lo cual puede causar una intoxicación aguda o bien acumularse de manera crónica en dientes, huesos y sistema hematopoyético, causando además alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso central, interferencia en los mecanismos de defensa del organismo (NOM-026-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003). La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) en EUA, recomienda el retiro de la exposición para la población trabajadora con una concentración de 50 µg/dL de plomo en sangre, (Bueno-Brito *et al*, 2005), en México la NOM-026-SSA1-1993, especifica que la concentración de plomo, como contaminante atmosférico, no debe rebasar el valor permisible fijado en 1.5 µg/m³, en un periodo de tres meses promedio aritmético, como protección a la salud de la población susceptible.

El *CO* es un gas inodoro e incoloro que se produce por la combustión incompleta de compuestos de carbono, por lo tanto, pueden verterlo al aire los automóviles y la industria, y en menor proporción algunos procesos naturales como los incendios

forestales y por el hábito de fumar. Su efecto dañino ocurre por su capacidad de combinarse con la hemoglobina, dando lugar a una elevada formación de carboxihemoglobina provocando la disminución en la cantidad de oxihemoglobina y por ende, la baja entrega de oxígeno a los tejidos. El CO debilita las contracciones del corazón, reduciendo la cantidad de sangre bombeada a varias partes del cuerpo, lo que resulta en una reducción de oxígeno disponible para los músculos y distintos órganos (Bravo, 1987; NOM-020-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003).

Los NO_x son vertidos a la atmósfera por procesos de combustión; juegan un doble papel en el medio ambiente, debido a que se les reconoce un efecto dañino de manera directa, además de ser los precursores del ozono. La acumulación de NO_x en el cuerpo humano, constituye un riesgo para las vías respiratorias, debido a que se ha comprobado que inicia, reactiva y puede alterar la capacidad de respuesta de linfocitos y macrófagos disminuyéndose tanto la respuesta inmune como el proceso de inflamación (NOM-020-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003).

El SO_2 proviene tanto de fuentes naturales como de la combustión de compuestos ricos en azufre. Es hidrosoluble y al hidrolizarse da lugar a compuestos ácidos, lo que le confiere sus características potencialmente agresivas. Se asocia con la humedad de las mucosas lo que provoca su irritación e inflamación aguda o crónica (NOM-020-SSA1-1993; Vallejo *et al*, 2003).

II.2. Compuestos orgánicos persistentes (COPs).

Los contaminantes descritos en párrafos anteriores son los considerados en la NOM-020-SSA1-1993, sin embargo, existen otros que son de igual importancia, dada su repercusión en la salud y en el impacto que generan a los ecosistemas en los que se depositan. Un grupo en particular son los denominados compuestos orgánicos persistentes (COPs), los cuales son mezclas de compuestos químicos a base de carbono, reconociéndose doce COPs de mayor impacto a nivel mundial (Albert, 1990). Por sus características fisicoquímicas, resisten en grado variable la degradación fotoquímica teniendo por ende una prolongada vida media en el ambiente (Baird, 2001). Los COPs se han identificado en todos los compartimientos ambientales tales como el agua, aire, lluvia, nieve, sedimentos y suelos, razón por la cual se les detecta en todas las regiones del mundo incluso en zonas muy lejanas al sitio original de liberación (Wania y Mackay, 1996; González-Jauregui, 2008). También se les ha encontrado en organismos de diversos niveles tróficos, debido a que son bioacumulables y lipofílicos; es decir, se depositan en el tejido adiposo, cuya acumulación ocurre de manera exponencial a través de las redes tróficas.

Tanto en animales como en el humano, los COPs provocan alteraciones en su biología, por ejemplo en especies de anfibios y reptiles revierte el sexo genético, es decir, feminización de machos y masculinización de hembras (Salame.Méndez *et al.*, 2008), además de alterar el comportamiento sexual y favorecer el desarrollo de tumores, cáncer y malformaciones congénitas (Baird, 2001). También provocan cambios en procesos neuroendocrinos alterando la homeostasis en órganos

endocrinos tales como la tiroides y/o gónadas, por lo tanto se dice que los COPs son disruptores endocrinos (Colborn *et al.*, 1993; Tanabe, 2002; Salame-Méndez *et al.*, 2008). Un grupo particular dentro de los COPs son los plaguicidas organoclorados (OCs) como el DDT, empleado para el control de fauna nociva en la agricultura y de vectores de enfermedades como el paludismo (González-Jáuregui, 2008).

II.3. Plaguicidas.

El ascenso en la agricultura debido a las demandas alimenticias provocó que a mediados de 1940 se intensificara y se estableciera el uso de los plaguicidas sintéticos como el mecanismo principal para la lucha contra las plagas que amenazaban los cultivos (Karam *et al.*, 2004). Los plaguicidas son un conjunto de sustancias con características muy cambiantes, la UNEP los define como “cualquier sustancia tóxica diseñada para interferir o modificar mecanismos fisiológicos fundamentales de los insectos y animales que se consideren nocivos”. Sin embargo, estas funciones son compartidas por otros animales e incluso el hombre (Baird, 2004). Si bien la intención de utilizar los plaguicidas es la de eliminar organismos no deseados, su aplicación puede interferir también con la vida de otros organismos de manera indirecta, debido al uso indiscriminado de estos xenobióticos a nivel mundial (Karam *et al.*, 2004; WHO 2009).

La manera de clasificar a los plaguicidas varía de acuerdo al organismo que afecta por ejemplo, acaricidas, fungicidas, insecticidas, raticidas, y a su modo de acción, por contacto, ingestión, fumigante, sistémicos; por su naturaleza química en inorgánicos y orgánicos o por su composición química, siendo esta última la que se

utiliza más frecuentemente aunado al tipo de daños que causan en la salud. Por lo tanto se les pueden clasificar como organoclorados, organofosforados, carbámicos, piretroides y fumigantes, entre otros (Karam *et al.*, 2004; Baird, 2001; Reigart y Roberts, 1999).

Los plaguicidas organofosforados, no son persistentes, sin embargo, representan un mayor peligro para los seres humanos y mamíferos en general; la exposición a estos compuestos mediante la inhalación, ingestión o absorción a través de la piel provocando problemas inmediatos a la salud. Por otro lado, se descomponen en días o semanas por lo tanto es difícil encontrarlos en las cadenas tróficas (Baird, 2001). Estas sustancias afectan a todos los organismos con sistema nervioso, inhibiendo enzimas que afectan su comunicación, por ejemplo, interrumpiendo el mensaje entre las células por la acetilcolina (ACh). En este sentido, la interacción sináptica interneuronal no puede actuar correctamente a menos que la ACh sea inactivada después haber ejecutado su acción. Constatándose que los compuestos organofosforados se unen con una alta afinidad al sitio activo de las colinesterasas, enzimas encargadas de inactivar a la ACh y así evitar su acción por tiempos prolongados (Baird, 2001)

Los insecticidas carbámicos tienen un mecanismo de acción similar al de los organofosforados, sin embargo, difieren en que es el átomo de carbono y no el de fósforo el que “ataca” a las colinesterasas, y al igual que los plaguicidas organofosforados, poseen una vida corta en el ambiente, debido a que reaccionan

con el agua transformándose en productos más simples e inactivos (Baird, 2001; Hoffman *et al.*, 2003).

Otro grupo de contaminantes, son los denominados contaminantes peligrosos del aire, que son producidos por una combustión incompleta de material orgánico y están presentes alrededor del mundo debido a las actividades antropogénicas (Banni *et al.*, 2009). La diversa naturaleza de estos contaminantes, hace difícil la discusión de sus efectos toxicológicos ya que este grupo incluye varias clases de compuestos químicos orgánicos (por su estructura, benceno), minerales (asbestos), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs, benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno), varios metales y compuestos de metales (mercurio y compuestos de berilio), y plaguicidas (v. gr., carbaril y paration) y policlorobifenilos PCBs (Costa, 2008). La importancia de estos compuestos radica en su potencial carcinogénico y/o mutagénico (Costa, 2008).

II.4. Ecotoxicología y Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA).

Durante el siglo XX se produjeron y liberaron al medio cientos de xenobióticos como los PCBs, COPs y HAPs entre otros. Por lo tanto, la capacidad de diferentes contaminantes y sus derivados de afectar y ejercer sus acciones tóxicas, complicó la evaluación del riesgo basado únicamente a nivel ambiental. También sus efectos deletéreos en las poblaciones biológicas son a menudo difíciles de determinar en organismos ferales, debido a que muchos de esos efectos solo son detectables cuando ya ha pasado un largo periodo de tiempo (van der Oost *et al.*, 2003). Lo anterior dio lugar a la profesionalización del estudio toxicológico en los ecosistemas acuáticos y terrestres a partir del desarrollo de la ecotoxicología.

La ecotoxicología es una rama de la toxicología, que ha permitido describir la toxicidad de uno o más componentes de un ecosistema (Hoffman *et al.*, 2003). En un sentido más amplio se puede decir que la ecotoxicología es la ciencia que mide los efectos adversos (químicos, físicos y biológicos) a nivel de ecosistema. Ciencia que ha permitido responder preguntas sobre si los compuestos químicos industriales y los utilizados en actividades agrícolas ponen en riesgo o puedan tener un efecto en los ecosistemas y por lo tanto, sienta las bases para una evaluación de riesgo y un adecuado manejo a futuro (Callow y Forbes, 2003). La base teórica de la toxicología está fundamentada en la relación dosis-respuesta, es decir, en una población experimental es el número de individuos que responden a diferentes dosis de un compuesto químico que se utiliza para medir su toxicidad (Callow y Forbes, 2003). En ecotoxicología, el término dosis se refiere a la cantidad de compuesto químico se administra por inyección o ingestión, que se sustituyó por el de concentración de cierto compuesto químico en el ambiente (Callow y Forbes, 2003).

La evaluación de riesgo ambiental o ecológica (ERA), se define como el procedimiento mediante el cual se asignan magnitudes a los actuales o probables efectos adversos de los contaminantes y otras actividades antropogénicas, así como catástrofes naturales en los ecosistemas. Lo anterior implica la identificación de riesgos, tales como la liberación de una sustancia química tóxica. Sus componentes se estiman, usando herramientas científicas tales como, mediciones, pruebas y modelos matemáticos y estadísticos para cuantificar la relación entre el evento inicial

y los efectos que se suscitan. (Suter, 1993; Depledge y Fossi, 1994; van der Oost *et al.*, 2003).

II.5. Bioindicadores y biomarcadores.

La utilización y/o búsqueda de bioindicadores, es una práctica que ha crecido en los últimos 40 años de investigación científica para resolver preguntas relacionadas a los problemas que enfrentan las comunidades ecológicas. Lo anterior ha permitido el desarrollo y uso de nuevos indicadores cuya aplicación ha llegado a la salud ambiental (Niemy y McDonald, 2004).

II.5.1. Bioindicador.

Un bioindicador se puede definir como una especie o conjunto de especies silvestres adaptadas a su ambiente y que responderán a los cambios o alteraciones ocurridos en él. Es decir, en ellos se reflejarán los efectos de la contaminación lo que permitiendo la identificación o determinación cuantitativa de los factores ambientales causales de sus afecciones (Paoletti, 1999; Conti y Cecchetti, 2001; Perelmal *et al.*, 2007). Esto ha permitido obtener información acerca de la influencia del ambiente sobre las poblaciones de flora y fauna provenientes de hábitats contaminados o de organismos expuestos experimentalmente a contaminantes (McCarthy y Shugart, 1990).

II.5.2. Biomarcadores.

Otra forma de valorar el daño por contaminación en fauna silvestre, es utilizar herramientas bioquímicas, tales como los biomarcadores, los cuales han tomado

relevancia en los últimos años. Estos se desarrollaron en respuesta a la necesidad de indicadores más sensibles a los efectos subletales de los contaminantes (Bickham *et al.*, 2000). Pueden ser usados para valorar el estado de salud de un organismo, mostrando daño a diferentes niveles, ya que permiten hacer medidas a nivel celular y/o molecular y así obtener señales tempranas de riesgo ambiental por contaminación (Sarkar *et al.*, 2006; Hagger *et al.*, 2006). Walker y colaboradores (2001) definen a los biomarcadores como cualquier respuesta biológica a una sustancia química a nivel individual o por debajo de él, mostrando una alteración de la situación normal y por lo tanto medidas bioquímicas, fisiológicas, histológicas, morfológicas y/o de comportamiento deben considerarse como marcadores biológicos. Bodin y colaboradores (2004) los definen como medidas de fluidos corporales, celulares o tisulares que indican en términos bioquímicos o celulares la presencia de contaminantes o la respuesta del organismo que los captó. Los biomarcadores que han sido investigados más ampliamente son los que están relacionados con la detoxificación de xenobióticos y sus derivados (enzimas de biotransformación y antioxidantes), en donde el órgano que se utiliza comúnmente es el hígado ya que es el encargado de la desintoxicación de compuestos extraños (van der Oost *et al.*, 2003).

II.5.3. Clasificación de los biomarcadores.

Los biomarcadores se pueden clasificar en tres tipos: de exposición, de efecto y de susceptibilidad. Los biomarcadores de exposición, indican que un organismo ha estado expuesto a algún contaminante o cualquier otro agente estresor, pero no

necesariamente su respuesta está relacionada a algún mecanismo de defensa contra algún contaminante en particular ya sea a nivel de organismo o de población. Sin embargo, estos pueden dar estimaciones de exposición a varios compuestos y pueden sustituir a los análisis químicos de gran costo (Chambers *et al.*, 2002). Los biomarcadores de efecto, se relacionan específicamente a los mecanismos de acción del toxico aunado a que están perfectamente caracterizados para relacionar el grado de cambio del biomarcador con el grado de los efectos adversos (Chambers *et al.*, 2002). Estos biomarcadores pueden ofrecer respuestas cuantitativas de la identificación del peligro, demostrando que existe y sus posibles mecanismos de acción. Además de permitir la comprensión de las efectos causales del peligro y sus consecuencias ecológicas, dependiendo del grado de especificidad del biomarcador con la presión ejercida por el contaminante. Por su parte, los biomarcadores de susceptibilidad, al contrario de los de efecto no muestran etapas a lo largo del continuo del efecto de la dosis, pero reflejan un incremento en la tasa de transición entre los pasos de un continuo (Hagger *et al.*, 2006).

Los biomarcadores presentan características y atributos, con los cuales son importantes para su utilización en estudios de impacto ambiental, Sarcar y colaboradores (2006), reportaron algunos de ellos:

- Ellos identifican las interacciones que se suscitan entre los contaminantes y los organismos, además de medir los efectos subletales.
- Se debe considerar que los análisis químicos solo miden una fracción de los contaminantes pero no revelan efectos adversos.

- Detectan la presencia de contaminante conocidos y desconocidos.
- La pronta detección de los efectos tóxicos, provee señales de alerta para remediar o realizar acciones de prevención.
- Proveen medidas espacio-temporales de la biodisponibilidad de contaminantes.
- Ellos atribuyen la exposición y riesgo a contaminantes ambientales.
- Tienen la facultad de anticipar los cambios que ocurrirán en el ecosistema debido a la presión por contaminación.
- Pueden ser usados desde una vía predictiva, permitiendo el establecimiento de estrategias de bioremediación, antes de que se suscite un daño ambiental irreversible.
- Pueden ayudar a establecer rutas importantes de exposición, por la aplicación a especies de diferentes niveles tróficos, ayudando así en la priorización de planes de monitoreo y estrategias de remediación.
- Los bioensayos de toxicidad dan información de toxicidad relativa de químicos específicos, pero su extrapolación a situaciones de campo es muy difícil por varias razones, por ejemplo, especiación química, efectos de absorción y captación, acumulación e lo largo de las redes tróficas y modos de acción tóxica no detectados en pruebas a corto plazo.
- Pueden detectar exposición y los efectos tóxicos de los compuestos originales y sus metabolitos y eliminarlos fácilmente metabolizándolos (Domouthsidou et al., 2004).

- Pueden integrar las interacciones toxicológicas de las mezclas de contaminantes.
- Pueden predecir a corto plazo de efectos ecológicos a largo plazo a través de la integración en un conjunto de medidas y comprensión a diferentes niveles de contaminación (Behrens y Segner, 2005).
- Son aplicables en estudios de campo y de laboratorio.

En el pasado se establecieron ciertos criterios para la selección de un adecuado biomarcador (Mayer *et al.*, 1992). Por ejemplo, si este es sencillo para realizar las medidas y si responde de una manera dependiente a la dosis o al tiempo de exposición al contaminante y el grado de sensibilidad. Un criterio adicional es que si la variabilidad en la respuesta del biomarcador es provocada por variaciones naturales bien conocidas (Hagger *et al.*, 2006).

II.5.3.1 Colinesterasas.

Las colinesterasas (ChE) son enzimas imprescindibles para el control normal de la transmisión de los impulsos nerviosos, que van desde las fibras nerviosas hasta las células musculares, glandulares y de los ganglios autónomos, así como también hacia el sistema nervioso central (SNC) (Reigart y Roberts, 1999). Por lo tanto, su función en el organismo es la inactivación rápida, temporal y precisa de la ACh, uno de los principales neurotransmisores ligado a los receptores nicotínicos, muscarínicos y otros del SNC (Gómez-Olivares, 2000).

Una alta concentración de ACh se encuentra en las uniones colinérgicas del músculo liso y las células glandulares, lo que puede provocar continuas contracciones y secreciones, respectivamente. Así como en las uniones músculo-esqueléticas, provoca una hiper excitación y así causar espasmos musculares. En el SNC la alta concentración de ACh provoca alteraciones sensoriales y de comportamiento, incoordinación, depresión de las funciones motoras, y depresión respiratoria (Hoffman *et al.*, 2003). La inhibición de estas enzimas es provocada por la presencia de plaguicidas organofosforados y carbámicos, razón por la que estas enzimas son utilizadas ampliamente como un biomarcador bioquímico para elucidar intoxicación por este tipo de contaminantes (Hoffman *et al.*, 2003).

Los vertebrados poseen dos tipos de colinesterasas, la acetilcolinesterasa (AChE) y la butirilcolinesterasa (BuChE), la principal función de la AChE es la rápida hidrólisis de ACh en las sinapsis colinérgicas; la BuChE, es una enzima importante en la desintoxicación de los organismos. Han cobrado interés en los últimos años, por su importancia farmacológica y toxicológica ya que hidrolizan ésteres contenidos en drogas y retira los inhibidores de colinesterasas incluyendo potentes organofosforados antes que alcancen sus blancos sinápticos (Çokuğraş, 2003).

II.5.3.2 Glutation – S – transferasa (GST).

El oxígeno puede ser tóxico tanto que puede provocar estrés oxidante. Es decir, provoca daños debido a las especies reactivas de oxígeno (ROS) también nombrados radicales libres de oxígeno o oxiradicales. Estos productos de reducción

del oxígeno molecular (O_2) son el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), el cual es un oxidante altamente potente capaz de reaccionar con ciertas macromoléculas celulares, que al continuar su acción provocan inactivación enzimática; peroxidación de lípidos; daño en el ADN, y muerte celular (Winston y Di Giulio, 1991). Uno de los biomarcadores que reflejan un estado de estrés oxidante es la glutatión-S-transferasa (GST). Esta enzima pertenece a una superfamilia multigénica de enzimas primariamente solubles, dímeras y multifuncionales de la fase II del proceso de desintoxicación que se encarga de catalizar la conjugación de los compuestos electrofílicos (van der Oost, *et al.*, 2003). Aparte de sus funciones esenciales en el transporte intracelular del grupo hemo, bilirrubina y aminoácidos y la biosíntesis de leucotrienos y prostaglandinas, su papel fisiológico fundamental es iniciar el proceso de desintoxicación contra agentes potencialmente alquilantes (Habig, *et al.*, 1974). También actúa en la defensa contra el daño oxidante y productos peroxidativos del ADN y lípidos (George, 1994). La GST se encuentra principalmente en la fracción citosólica del hígado y para evaluar su actividad total se usa como sustrato artificial el 1-cloro-2,4-dinitrobenceno (CDNB) (George, 1994). La GST puede ser inducida por xenobióticos como los HAP y PCBs (van der Oost, *et al.*, 2003).

II.5.3.3. Catalasa (CAT).

Otro biomarcador que refleja el efecto de toxicidad de contaminantes o sus derivados sobre el estrés oxidativo es la catalasa (CAT). La cual degrada el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). A diferencia de algunas peroxidasas, la CAT sólo puede reducir

al H_2O_2 , y se encuentra principalmente en el hígado y particularmente en los peroxisomas, organelos con una alta tasa de producción de ROS (Boelsterli, 2003). La CAT es a menudo utilizada en ensayos espectrofotométricos siguiendo su actividad a través de la desaparición del H_2O_2 exógeno, razón por la cual esta enzima es utilizada como biomarcador de exposición a contaminantes tales como diversos tipos de plaguicidas que provocan estrés oxidativo (van der Oost *et al.*, 2003). La CAT junto con la superóxido dismutasa (SOD), se consideran las enzimas más importantes en la prevención de estrés oxidativo en las células (Ji *et al.*, 1988; Storey, 1996), en la célula cuando hay alta concentración de H_2O_2 , la actividad de la CAT va a aumentar (Ji *et al.*, 1988), sin embargo, su actividad también puede verse inhibida por presencia de diversos tipos de contaminantes (van der Oost, 2003). Se necesitan más estudios para precisar su acción debido a que presenta tanto inducción como inhibición (van der Oost *et al.*, 2003).

III. ANTECEDENTES.

III.1. Características de la Ciudad de México.

La Ciudad de México se encuentra enclavada dentro de una cuenca endorreica a una altura promedio de 2240 metros sobre el nivel del mar (msnm), rodeada por Sierras entre las que destacan la de Quetzaltepec ubicada al oriente, con una altura máxima de 4,060 msnm; la del Ajusco-Chichináutzin localizada al sur, con una altura máxima de 3,930 msnm; de las Cruces localizada al poniente, con una altitud

máxima de 3,530 msnm. Al noroeste se encuentra la Sierra La Muerta y al norte la Sierra de Guadalupe. Esta orografía es un factor determinante en la capacidad de carga que tiene la Ciudad de México para soportar las emisiones de contaminantes atmosféricos, aunado a que la altura en que está presenta un déficit en la concentración de oxígeno (< 23%) lo que provoca una menor eficiencia de los motores de combustión interna generando así el aumento en la concentración de monóxido de carbono e hidrocarburos (S.M.A. 2006a).

Dentro de la cuenca del valle de México, se encuentra la zona metropolitana del valle de México (ZMVM), la cual presenta una superficie aproximada de 4,925 km², que incluye al Distrito Federal (D.F.), sur del estado de Hidalgo y gran parte del Estado de México. La ZMVM es considerada la tercera metrópoli más poblada del mundo (después de Tokio y Nueva York). Así mismo, es la más grande de América Latina, albergando una población de más de 23 millones de habitantes: aproximadamente 15 millones en el Estado de México y casi 9 millones en el Distrito Federal (INEGI, 2010).

Las características meteorológicas de la Ciudad de México, aunadas a las condiciones fisiográficas coadyuvan a acentuar los problemas de contaminación. Por su ubicación geográfica es susceptible de ser impactada por sistemas anticiclónicos tanto del Golfo de México como del Océano Pacífico, provocando estabilidad atmosférica que inhibe el movimiento ascendente del aire.

Lo anterior impide la formación de nubosidades, permitiendo una elevada cantidad de radiación solar sobre la superficie terrestre provocando que la atmósfera sea altamente fotoreactiva ocasionando, por ejemplo, la formación de ozono a partir de contaminantes primarios (S.M.A. 2006b).

En la Ciudad de México existen dos épocas climáticas en el año: la estación invernal seca (noviembre-abril), caracterizada por la presencia de corrientes en chorro (vientos fuertes), puntualizando que la dirección de los vientos son de noroeste a suroeste y estación la lluviosa (mayo-octubre), predominando los vientos alisios con una velocidad promedio de 40 km/h (débiles).

Durante la época seca son frecuentes las inversiones térmicas, además los vientos fuertes que corren de noroeste a suroeste, generan el movimiento y transporte horizontal de contaminantes, éste movimiento es el que determina su distribución. Estos factores favorecen el arrastre y el depósito de los contaminantes tanto en la Ciudad de México como en las zonas conurbadas. Estos procesos provocan que la mayor concentración de contaminantes esté en la zona sur de la Ciudad de México, donde la Sierra de Las Cruces y la Sierra del Ajusco evitan su dispersión, por lo tanto, estas zonas boscosas son las primeras en ser afectadas (S.M.A. 2006a).

III.2. Contaminación en la Ciudad de México y sus alrededores.

En la Ciudad de México principalmente se ha documentado acerca del efecto de la contaminación en la salud. Munguía-Castro y Pérez-Neria (2003) relacionaron la

contaminación del aire con la morbimortalidad respiratoria en la ZMVM. El primer trabajo se reporta sobre el efecto dañino del ozono y del nitrato de peroxiacetilo en bosques aledaños a la Ciudad de México fue reportado por Bauer en 1972.

Por su parte, Fenn y colaboradores (1999) estudiaron la relación del depósito de nitrógeno y azufre en dos bosques cercanos al Distrito Federal (Parque Nacional Desierto de los Leones -PNDL- y Zoquiapan -ZOQ-) y los estados nutrimentales de acuerdo a las concentraciones foliares de tres especies de pinos que habitan en ambos bosques para determinar su influencia en estas comunidades forestales. Los autores encontraron que las concentraciones foliares de los contaminantes en los pinos del PNDL son mayores que en ZOQ y por ende es mayor la disponibilidad de nitrógeno en este lugar.

Saavedra-Romero y colaboradores (2003), analizaron la precipitación pluvial en el PNDL evaluando el pH y la concentración de los cationes básicos K^+ y Mg^{2+} , para determinar la presencia de lluvias ácidas y la lixiviación de cationes del follaje de los árboles. Sus resultados, mostraron que en el PNDL, se presentaron lluvias ácidas en los meses de mayor precipitación promedio, principalmente en agosto. En el año de 2008, Pérez-Suárez y colaboradores, informaron los efectos del depósito de contaminantes atmosféricos, en el PNDL y en Zoquiapan, mediante la comparación entre el escurrimiento foliar y la química del suelo, en relación con los flujos de nitratos, sulfatos y iones de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ , de dos especies de árboles. Se observó una disminución en los flujos en el siguiente orden: oyamel > pino > claros (sitios sin cobertura). De acuerdo a estos autores hay una mayor influencia de la contaminación

en el Desierto de los Leones y resaltando que un elevado depósito atmosférico modifica los procesos funcionales del ecosistema, como es el caso el escurrimiento foliar y el ciclo interno de nutrientes.

III.3. Daño fisiológico en Fauna Silvestre.

Los estudios para determinar el daño fisiológico provocado por los contaminantes atmosféricos y demás tipos de agentes xenobióticos sobre la fauna silvestre en ambientes terrestres son escasos; una evidencia es el trabajo de Olson y Hinsdill en 1984, quienes expusieron a ratones de *Peromyscus maniculatus* a mezclas de PCBs en condiciones controladas de laboratorio, encontrando una disminución de glóbulos blancos, hemolisinas y reducción del número de células del bazo las cuales se encargan de producir anticuerpos.

En general, los roedores se utilizan como monitores o centinelas en estudios toxicológicos, especialmente en áreas de residuos peligrosos, áreas radiactivas o áreas de cultivos, ya que estos animales acumulaban los contaminantes. La mayoría de estos estudios se enfocaron a evaluar las modificaciones de la dinámica poblacional sin poner atención a los efectos bioquímicos y/o fisiológicos que conllevan estos problemas (Albers *et al*, 1990; Sullivan *et al.*, 1998).

El estudio de los efectos de la contaminación sobre poblaciones de fauna silvestre utilizando biomarcadores como herramienta, ha recibido poco interés debido principalmente a que la muerte es el criterio de valoración más utilizado cuando se valoran los impactos a nivel de ecosistema (Handy y Depledge, 1999).

Los roedores se han utilizado en pocos estudios como centinelas, utilizando biomarcadores moleculares para valorar la contaminación por aplicación de plaguicidas en campos agrícolas aledaños a zonas silvestres (Block *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2002).

Un estudio que permitió evaluar los daños por contaminación en roedores silvestres en vida libre en nuestro país es el de Gómez-Ugalde (2003), quien evaluó la influencia y existencia de contaminantes atmosféricos en tres especies de ratones habitantes de los Parques Nacionales Cumbres del Ajusco y Desierto de los Leones. Constándose a nivel histológico los efectos de metales pesados en diversos tejidos tales como el hígado, en donde se observaron diversas patologías, principalmente procesos inflamatorios, necrosis celular y por otro lado en los pulmones, encontrándose daños como neumoconiosis, procesos inflamatorios e hiperplasia septal adematosa principalmente en los organismos del Desierto de los Leones, en cambio en el Ajusco estas afecciones tienen clara distribución temporal principalmente influenciado por la temporada de lluvias, así mismo se valoraron dichos tejidos por espectrofotometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), la presencia de metales pesados.

III.4. Trabajos con biomarcadores en fauna silvestre.

El uso de marcadores bioquímicos y fisiológicos para valorar el impacto de los contaminantes en el ambiente, se puede considerar relativamente reciente (Fossi *et*

al., 1994). Los primeros investigadores en utilizar herramientas ecotoxicológicas fueron Bayne y colaboradores (1976), quienes realizaron dos índices de estrés midiendo la latencia de enzimas lisosomales y la relación entre las concentraciones de taurina y glicina, en mejillones sometidos a tratamientos de inanición a diferentes temperaturas.

Payne (1977), detectó la sensibilidad de la enzima aril-hidrocarbo-hidroxilasa (AHH) a hidrocarburos en peces y James y Bend en 1980 (citado en Fossi *et al.*, 1994) indujeron la actividad de la enzima AHH sometiendo a algunas especies de peces marinos a presiones por HAPs. Por su parte, Peakall (1976), administró un tratamiento de diferentes dosis de toxafeno en ratas observando una respuesta enzimática y un desequilibrio hormonal.

Existen evidencias sobre el efecto dañino de sustancias tóxicas sobre las poblaciones de fauna silvestre debido a su uso en bosques, en tierras de pastoreo, tierras de cultivos y jardines entre otros. Lo anterior hace que sea inevitable el contacto de los plaguicidas con la vida silvestre (Badii *et al.*, 2009).

El grado de envenenamiento se puede clasificar en diferentes niveles; la intoxicación aguda se da cuando la fauna silvestre se expuso de manera corta a plaguicidas provocando enfermedades o incluso la muerte; la vida silvestre presenta un daño crónico cuando se ha expuesto a los contaminantes por periodos largos de tiempo, por lo mismo no provoca inmediatamente la muerte y el envenenamiento

secundario sucede cuando el animal consume presas que contienen residuos de contaminantes (Badii *et al.*, 2009).

IV. JUSTIFICACIÓN

El estudio de los impactos de la contaminación atmosférica generalmente se centran en los efectos que causan en la población humana expuesta (Munguía-Castro y Pérez-Neria, 2003). Sin embargo, los trastornos que generan en poblaciones de fauna que habitan las zonas aledañas a las grandes ciudades son poco estudiadas desde un punto de vista fisiológico. De tal manera que en este trabajo se documentó el daño fisiológico causado por contaminantes ambientales (CA) en tejidos de ratones del Género *Peromyscus*, mediante la utilización de herramientas denominadas biomarcadores, los cuales dan señales de trastornos fisiológicos causados por influencia de agentes extraños en el ambiente. Este estudio se realizó sin someter a los ratones a condiciones controladas de laboratorio, es decir, se evaluó de manera interanual en el PNDL el efecto que les causan los CA *in situ*. Se realizó en este Parque Nacional debido a que es el primer filtro para los contaminantes que llegan de la Ciudad de México y de sus alrededores debido a la dirección de los vientos y a las temporadas tanto de lluvias como de secas.

La información obtenida a partir del análisis de biomarcadores en los individuos de las especies de roedores del Género *Peromyscus* nos podrán decir si estas especies son viables de ser utilizados como bioindicadores del efecto de los CA sobre las poblaciones de fauna en vida libre, así como hacer una aproximación del estado de

salud del bosque que se encuentra expuesto al impacto de los diversos tipos de contaminantes.

V. OBJETIVOS

V.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar si los ratones del Género *Peromyscus* cohabitantes del PNDL serían bioindicadores del efecto dañino de contaminantes ambientales tales como compuestos organosforados, metales pesados y/o hidrocarburos aromáticos.

V.2. Objetivos particulares.

- Establecer probables relaciones entre las diferentes estaciones del año y el daño causado por contaminación en tejidos de las dos especies de ratones.
- Determinar si existen diferencias en la actividad de los biomarcadores entre los dos modelos biológicos en el período de estudio.
- Determinar posibles diferencias en el daño por contaminantes atmosféricos entre sexos de ambas especies.
- Determinar la posible influencia sobre los biomarcadores por parte de los contaminantes atmosféricos los días de muestreo en base a los registros de la red de monitoreo de la Ciudad de México.

VI. HIPOTESIS.

Debido a los cambios fenológicos que se suscitan en el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL) que forma parte de la Sierra de las Cruces la cual es una

barrera que evita la dispersión de los contaminantes atmosféricos (CA) provenientes de la Ciudad de México habrá variaciones interanuales en el depósito y tipo de CA, lo cual provocará una diferencia en la activación o inhibición de biomarcadores tales como las colinesterasas, la glutatión-s-transferasa, y la catalasa en especies de ratones del género *Peromyscus* a ser utilizados como bioindicadores y que cohabitan el PNDL.

VI.1. Propuesta de hipótesis estadísticas.

Ho 1. Al no haber variaciones de manera estacional en el depósito de CA en el PNDL no habrá diferencias de los biomarcadores en los *Peromyscus*.

Ha 1. Debido a las variaciones estacionales en el depósito de CA en el PNDL sí habrá diferencias de los biomarcadores en los *Peromyscus*.

Ho 2. No habrá diferencias en la respuesta de los biomarcadores entre las especies de *Peromyscus* en el PNDL debido a los CA.

Ha 2. Los biomarcadores de ambas especies de *Peromyscus* en el PNDL responderán de manera diferente ante la presencia de los CA.

Ho 3. No habrá diferencias de los biomarcadores en relación al sexo en los *Peromyscus* del PNDL debidas a la CA.

Ha 3. Entre sexos de *Peromyscus* del PNDL habrá diferencias de los biomarcadores debidas a la CA.

Ho 4. Los biomarcadores no tendrán correlación con los CA monitoreados por la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México.

Ha 4. Al menos uno de los biomarcadores analizados en los tejidos tendrá correlación con alguno de los CA monitoreados la secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México.

VII. ÁREA DE ESTUDIO Y MODELOS BIOLÓGICOS

VII.1. Área de estudio.

La localidad donde se realizó el trabajo de muestreo se encuentra en el PNDL, que se localiza en el Distrito Federal ocupando mayor parte de la delegación Cuajimalpa de Morelos y parte de la delegación Álvaro Obregón, cuenta con 1529 ha aproximadamente, y se ubica al suroeste de la ZMVM. El Parque Nacional forma parte de la Faja Volcánica Transmexicana localizada en la vertiente oriental de la Sierra de Las Cruces. La altitud varía desde la cima del cerro San Miguel con una elevación de 3790 msnm hasta la zona situada al norte del antiguo convento con una elevación de 2700 msnm. La altura media es de 3500 msnm (P.C.M.D.L. 2006). Fig. 1.

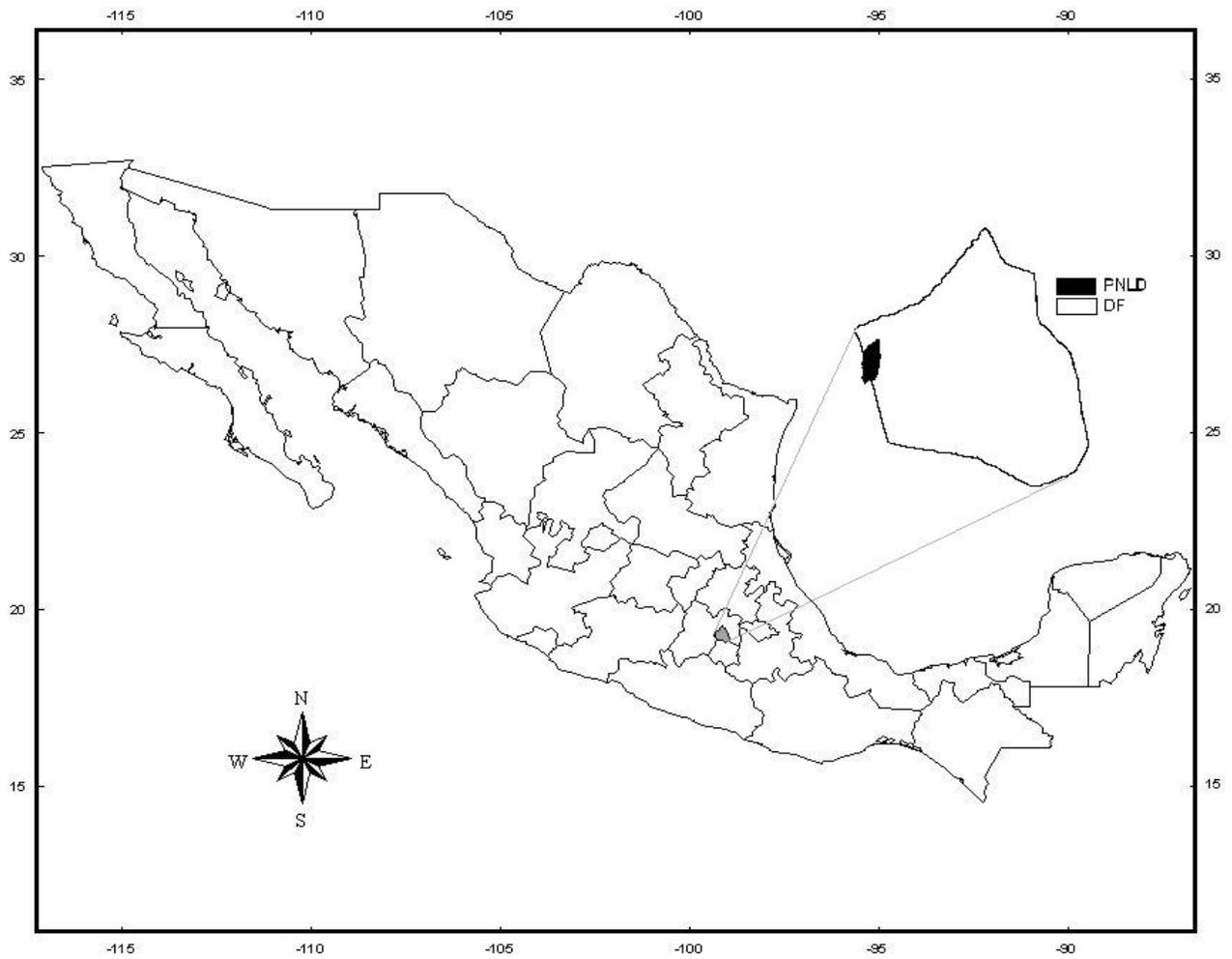


Figura 1. Parque Nacional Desierto de los Leones, lugar donde se ubica la zona de muestreo.

El origen geográfico del área se remonta al Cenozoico en el periodo Terciario Superior (Mioceno – Plioceno), caracterizado por una fuerte actividad volcánica. Las emisiones que constituyen la superficie del PNDL son rocas de tipo volcánicas extrusivas, efusivas terciarias y posterciarias (P.C.M.D.L. 2006)

El tipo de suelo del PNDL es clasificado como podzólico del tipo café vegetal con textura arcillo-arenosa El suelo es de origen volcánico y se le denomina andesitas; es

un suelo profundo, bien drenado y fértil; encontrándose húmedo la mayor parte del año. Presenta valores de pH generalmente ácidos (P.C.M.D.L. 2006).

El clima según la clasificación de Köppen, modificado por García (1981) para adaptarlo a las características de la República Mexicana corresponde al tipo C(W2) W (b')ig, que equivale a un clima templado, subhúmedo, semifrío, con lluvias en verano, presentando precipitación invernal menor de 5% con respecto al total y es isotermal (que la diferencia de temperatura entre el mes más cálido y el mes más frío es menor a 5°C), con marcha de la temperatura tipo Ganges, con lluvias de mayo a octubre (P.C.M.D.L. 2006).

La vegetación según la clasificación de Rzedowski (1978) corresponde a un bosque templado, así mismo se describen siete diferentes subtipos (Bosque de *Abies-Pinus-Quercus*; *Abies religiosa*; *Abies* perturbado por incendio; *Abies-Pinus hartwegii*; *Pinus hartwegii*-Pastizal; vegetación secundaria y áreas de reforestación. Con respecto a la flora, se reportan para el PNDL 378 especies, repartidas en 219 géneros y 74 familias, la más representada es la familia *Asteraceae* con 40 géneros y 87 especies (P.C.M.D.L. 2006).

En cuanto a la fauna, para el parque se ha informado la presencia de 57 familias de vertebrados, de las cuales tres corresponden a anfibios, cinco a reptiles, 35 a aves y 14 a mamíferos, con 136 especies en total. Las familias mejor representadas son: Plethodontidae (Clase Amphibia), con cinco especies, Phrynosomatidae (Clase Reptilia) con tres especies, Parulidae (Clase Aves) con 13 especies y Muridae (Clase

Mammalia) con siete especies (P.C.M.D.L. 2006). En esta última, se conoce con precisión las fluctuaciones de poblaciones de micromamíferos terrestres presentes (Castro-Campillo et al., 2008).

VII.2. Modelos biológicos.

Las dos especies de roedores estudiadas, el ratón de orejas oscuras (*Peromyscus melanotis*) y el ratón de las rocas (*P. difficilis felipensis*), cohabitan en el área de estudio del PNDL. Sin embargo, pertenecen a clados diferentes (Bradley et al., 2007). *Peromyscus melanotis*, es una especie monotípica endémica de México con una distribución muy amplia, estos organismos se alimentan principalmente de semillas de plantas herbáceas y de pastos (Castro-Campillo et al. 2005), los organismos de esta especie representan ratones de talla chica dentro del género. Por su parte *Peromyscus difficilis*, es una especie politípica, son ratones de tamaño medio, son herbívoros constituyendo su dieta principalmente de semillas aunque también se alimentan de materia vegetal como tallos y raíces (Chávez-Tovar y Ceballos 2005).

Además de compartir una asombrosa correspondencia en sus áreas de distribución, también comparten las mismas fuentes de alimento, ambas especies son de gran importancia para la conservación del parque y la renovación de la vegetación del mismo, debido a que sirven como dispersores de semillas y forman parte medular de la cadena trófica del lugar. Estas dos especies son representantes

de dos modelos de ratones, lo que hace suponer diferencias metabólicas entre ambas especies.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

VIII.1. Trabajo de campo

Recolección de ejemplares. Se realizó una recolecta dirigida de un año (Junio 2008 – Abril 2009) con una o dos salidas mensuales, capturándose individuos adultos vivos del ratón de las rocas (*P. difficilis*) y el ratón de orejas oscuras (*P. melanotis*) en el PNDL (entre los 19° 18' 17" N y los 99° 19' 14" W). Para lo cual se utilizaron 120 trampas Sherman (H. B. Sherman Traps, Inc., Tallahassee, Fl.) cebadas con hojuelas de avena (Jones *et al*, 1996), las cuales se colocaron a lo largo de un transecto de franja (Burnham *et al.*, 1985) de 500 metros de longitud por 5 de ancho, durante una noche.

VIII.2. Trabajo de laboratorio.

Preparación de ejemplares. El mismo día de la captura, los ratones se trasladaron al Laboratorio de Mamíferos de la UAM-Iztapalapa siendo sacrificados por dislocación cervical. A cada animal se le tomaron sus medidas mastozoológicas convencionales tales como peso, tamaño con y sin cola, tamaño de la oreja y pata trasera izquierdas. Posteriormente, se procedió a colectar el plasma y disectar hígado y músculo esquelético. Las muestras de órganos se almacenaron por separado en tubos Eppendorf a -80 °C y el plasma a -20 °C.

Análisis de las muestras. La actividad de la acetilcolinesterasa y de la butirilcolinesterasa en plasma se realizó mediante el método espectrofotométrico según Ellman (Ellman *et al.*, 1961) adaptado a un microensayo (Campoy *et al.*, 1992). La concentración de proteínas totales en plasma, homogenados y sobrenadantes se cuantificó mediante el método de Bradford (1976).

La valoración de la acetilcolinesterasa en hígado y músculo esquelético se hizo a partir de una porción de tejido que se homogenizó en 1 mL de solución tampón de fosfato pH 7.2 con Triton X-100 al 0.01%, en frío durante 20 segundos. Posteriormente se centrifugó la muestra a 10,600 X g a 4°C durante 5 minutos (Eppendorf-5417R). La determinación de proteína se hizo por el método de Bradford (1976). A partir de los valores de proteínas se procedió a estimar la actividad colinesterásica; para lo cual la muestra se diluyó en 0.5 mg/mL en amortiguador de fosfato, y se realizó un microensayo, posteriormente se registró la absorbancia -414 nm- (Multiskan Spectrum) a los 10 y 15 minutos (Ellman *et al.*, 1961).

La determinación de la glutation-S-transferasa (GST) se hizo a partir de homogeneizar una porción de tejido en 1 mL de amortiguador de fosfato pH 6.5, en frío durante 20 segundos; posteriormente se centrifugó a 9000 X g a 4°C durante 30 minutos (Eppendorf-5417R). La determinación de proteínas se realizó por el método de Bradford (1976). La muestra se diluyó a 0.5 mg/mL con el amortiguador fosfato pH 6.5. Se realizó un microensayo según Habig y colaboradores (1974). La actividad de la catalasa se evaluó según el método descrito por Aebi (1984).

Análisis estadísticos. Se analizó el comportamiento de los datos utilizando estadística descriptiva (media, moda, mediana, desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, valores mínimo y máximo) y se realizaron pruebas de normalidad, homocedasticidad y curtosis. Para explorar las posibles diferencias entre especies, temporadas climáticas y sexos se realizaron análisis de varianza (ANOVA) cuando los datos se comportaron de manera normal y en caso de hacerlo se utilizaron pruebas de Kruskal Wallis. Para comparar la actividad de los biomarcadores entre tejidos, se realizaron pruebas de *t* de student (Zar, 2007)

El promedio de actividad de los biomarcadores en los días de muestreo fueron correlacionados con el promedio de cinco días anteriores incluyendo el día del muestreo, del registro de concentración de CA en la estación de monitoreo atmosférico más cercana al área de estudio, utilizando una correlación múltiple.

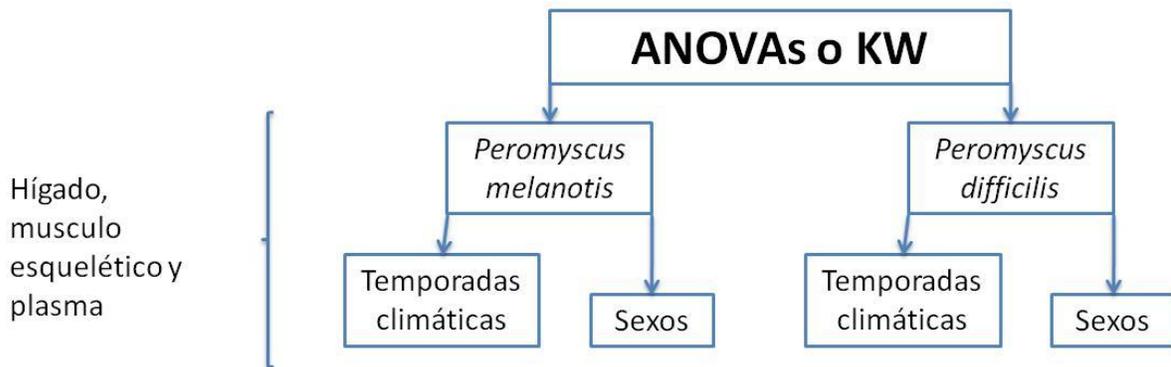


Figura 2. Esquema que muestra las comparaciones realizadas en este estudio.

IX. RESULTADOS

IX.1. Análisis de la actividad enzimática de biomarcadores.

Durante el año de muestreo se colectaron 153 individuos adultos de ambas especies (tabla 1) y se realizó para ambas especies a lo largo del año el análisis de estadística descriptiva para cada uno de los biomarcadores (tabla 2 y 3), así como la prueba de omnibus para valorar la normalidad de los datos (Zar, 2007). Posteriormente se realizaron ANOVAS si la distribución de los datos cumplían los supuestos de normalidad, homocedasticidad y curtosis y Kruskal Wallis en caso de no cumplirlos; estos análisis se realizaron con el paquete estadístico NCSS 2001; cuando la diferencia estadística es < 0.05 se colocó un asterisco, si es < 0.01 fueron dos asteriscos y si fue < 0.001 se colocaron tres asteriscos.

Tabla 1. Distribución de ratones adultos de <i>Peromyscus melanotis</i> (<i>Pm</i>) y <i>P. difficilis</i> (<i>Pd</i>) analizados por temporada climática			
Temporada	# ind	<i>Pm</i>	<i>Pd</i>
Lluvias	75	29	46
Secas	62	10	52
Total	137	39	98

Tabla 2. Estadística descriptiva de la actividad de los biomarcadores, en tejidos de *P. difficilis*; los valores de la media, máximos y mínimos están expresados en U/mL en el caso del plasma y nM/min/mL en el resto de los tejidos.

BIOMARCADOR	TEJIDO	# IND	MEDIA	DESV EST	ERROR EST	MINIMO	MAXIMO
BuChE	Plasma	99	292.149	267.032	26.837	21.868	1132.877
AChE	Plasma	99	136.056	102.595	10.311	13.480	572.692
	Hígado	101	9.245	4.094	0.407	0.649	31.670
	Musculo	98	5.134	1.698	0.171	2.759	12.927
CAT	Hígado	102	5.165	10.836	1.072	0.011	64.670
	Musculo	102	15.488	12.109	1.198	0.574	117.497
GST	Hígado	100	27.975	10.965	1.096	7.429	61.425
	Musculo	101	32.482	8.237	0.819	7.426	58.284

Tabla 3. Datos de actividad enzimática de los biomarcadores en tejidos de *P. melanotis*; los valores de la media, máximos y mínimos están expresados en U/mL en el caso del plasma y nM/min/mL en el resto de los tejidos.

BIOMARCADOR	TEJIDO	# IND	MEDIA	DESV EST	ERROR EST	MINIMO	MAXIMO
BuChE	Plasma	40	183.349	168.910	26.707	25.987	915.168
AChE	Plasma	40	71.634	34.739	5.492	0.011	209.432
	Hígado	37	4.762	2.261	0.371	2.044	11.476
	Musculo	33	6.579	1.978	0.344	3.389	13.056
CAT	Hígado	34	20.698	24.632	4.224	0.001	86.923
	Musculo	34	11.057	10.910	1.871	0.013	47.735
GST	Hígado	37	75.447	121.198	19.924	19.351	777.028
	Musculo	37	39.645	22.283	3.663	0.011	117.287

IX.1.1. Comparación de biomarcadores en plasma

Comparación de biomarcadores entre temporadas climáticas

- *Peromyscus melanotis*.

Estadísticamente se encontraron diferencias significativas entre temporadas climáticas en ambos biomarcadores (KW: 6.208, $p < 0.05$). La actividad de AChE tuvo una tendencia a incrementarse durante la temporada seca con un promedio de 89.87 U/mL (Fig. 3), en el caso de la de BuChE sucedió lo contrario, es decir, la mayor actividad se presentó durante la época lluviosa (232.05 U/mL). Al comparar la actividad de ambos biomarcadores, la de BuChE fue significativamente mayor que la AChE en la temporada húmeda, en tanto que durante las secas, AChE aparenta tener mayor actividad con respecto a la BuChE, encontrándose diferencias significativas (KW: 9.375, $p < 0.05$).

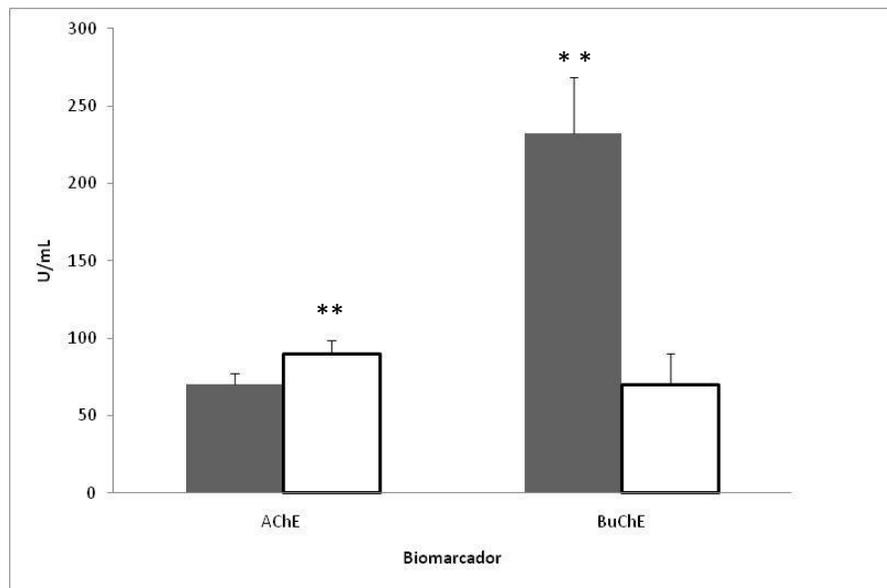


Figura 3. Actividad colinesterásica en plasma de *P. melanotis*, según las temporadas climáticas. Se observaron las diferencias entre temporadas de lluvias (barras oscuras) y secas (barras blancas) ($\alpha = 0.05$).

- *Peromyscus difficilis*.

La actividad de los biomarcadores, presentó diferencias estadísticas significativas al compararse entre temporadas. La mayor actividad de AChE se presentó durante la temporada de secas (KW: 18.747, $p < 0.05$) y en la BuChE ocurrió durante las lluvias (KW: 27.748, $p < 0.05$) (Fig. 4).

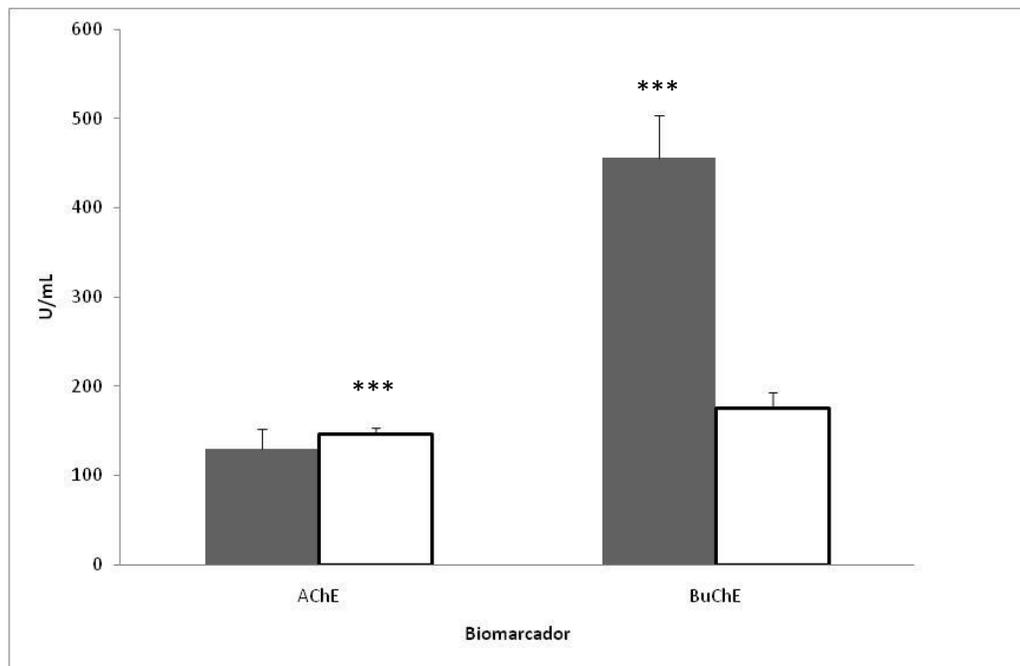


Figura 4. Actividad colinesterásica en plasma de *P. difficilis*, según las temporadas climáticas, lluvias (barras oscuras), secas (barras blancas). Donde se observaron las diferencias entre temporadas de lluvias y secas, ($\alpha = 0.05$).

Comparación entre especies

Al comparar los biomarcadores entre especies por temporada climática, durante la época lluviosa la BuChE de *P. difficilis* fue significativamente mayor con respecto a la de *P. melanotis*, mientras que la de AChE no presentó diferencias estadísticamente significativas entre especies, no obstante se observa la misma tendencia que BuChE (KW: 0.772, $p > 0.05$) (Figura 5a). Durante la temporada de secas ambos biomarcadores fueron significativamente diferentes entre especies, siendo mayores en *P. difficilis* (AChE, $F_{(1,59)} = 10.34$, $p < 0.05$, y BuChE, KW: 7.762, $p < 0.05$) (Figura 5b).

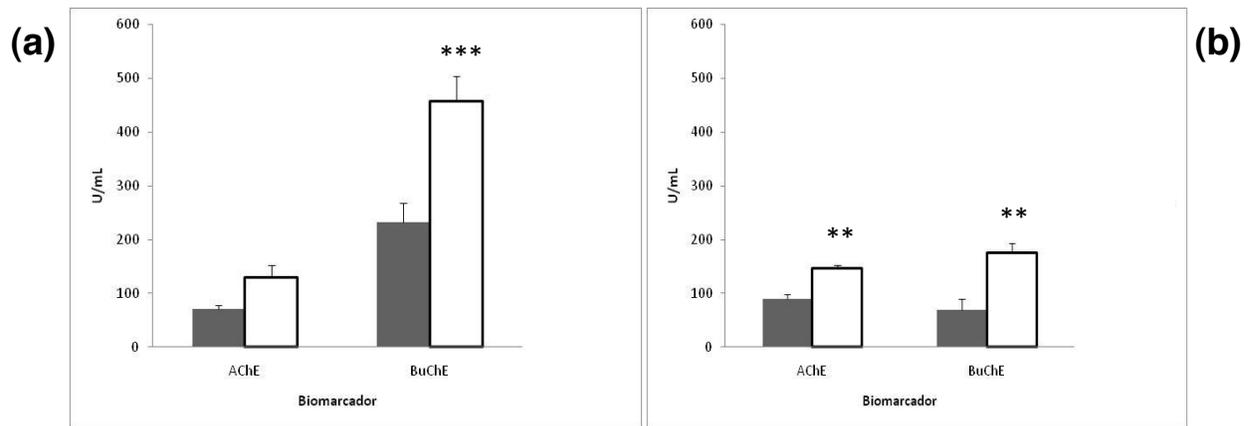


Figura 5. Comparación de la actividad colinesterásica en plasma de ratones del género *Peromyscus* según las temporadas climáticas: temporada de lluvias (a), y temporadas de secas (b); *P. melanotis* (barras oscuras), *P. difficilis* (barras blancas).

Comparación entre sexos

- *P. melanotis*.

La actividad de AChE entre sexos a lo largo del año no presentó diferencias significativas (KW: 0.0073, $p > 0.01$); teniendo los machos ligeramente mayor actividad que las hembras. Por su parte en la actividad de BuChE sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas (KW: 4.32, $p < 0.05$), siendo mayor en las hembras (Figura 6).

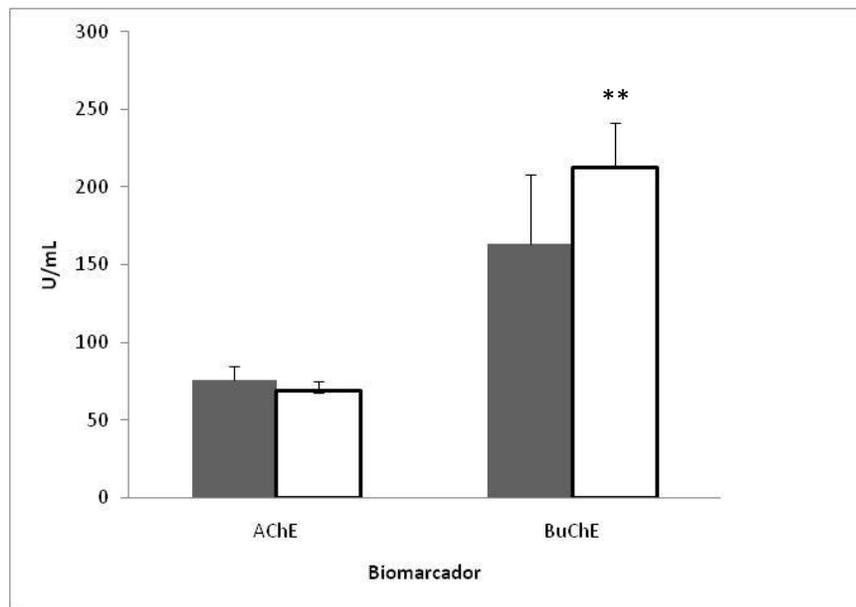


Figura 6. Comparación de la actividad colinesterásica en plasma entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas) en *Peromyscus melanotis*.

- *P. difficilis*.

En esta especie a lo largo del año ninguno de los dos biomarcadores presentó diferencias estadísticamente significativas entre sexos (AChE, KW: 2.009, $p > 0.05$; BuChE, KW: 1.56, $p \geq 0.05$), sin embargo, la AChE tendió a ser mayor en los machos y la BuChE en las hembras (Figura 7).

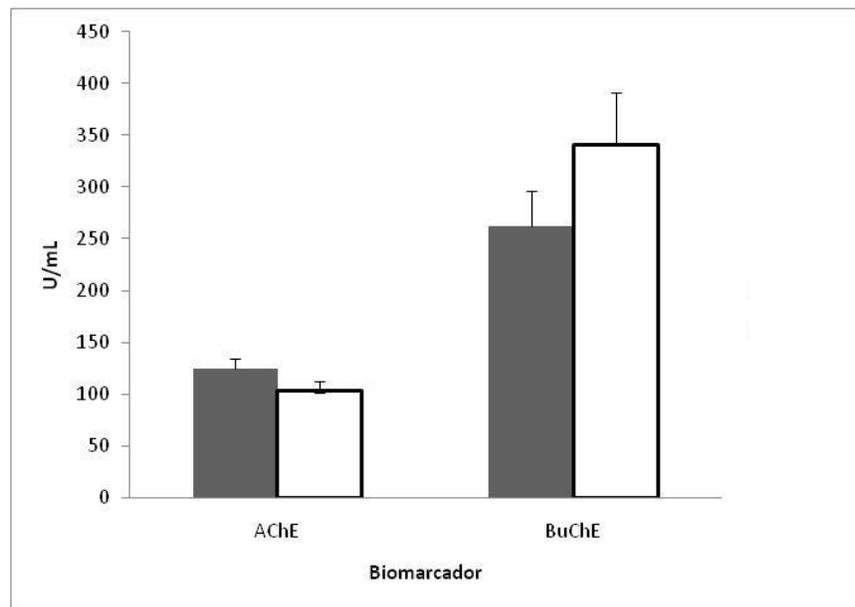


Figura 7. Comparación de la actividad colinesterásica en plasma entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas), en *Peromyscus difficilis*.

IX.1.2. Comparación de biomarcadores en hígado

En hígado se evaluaron tres biomarcadores: i) acetilcolinesterasa (AChE); ii) catalasa (CAT), y iii) glutatión-S-transferasa (GST); se realizaron comparaciones entre temporadas climáticas, entre especies y entre sexos de ambas especies.

Comparación entre temporadas climáticas

- *P. melanotis*.

En los tres biomarcadores se encontraron diferencias estadísticamente significativas (AChE, KW: 17.273, $p < 0.001$; CAT, KW: 25.641, $p < 0.001$; GST, KW: 10.667, $p < 0.05$). En general, las actividades de los biomarcadores mostraron una tendencia a ser mayores durante la temporada de lluvias, siendo la diferencia más

evidente en la actividad de la CAT; en la época lluviosa fue de 36.71 nM/min/mg de proteína, mientras que en la temporada seca apenas se registro su actividad (0.142 nM7min/mg). Por su parte, la GST en las lluvias fue prácticamente el doble con respecto a la estación seca, y la actividad AChE fue poco evidente (Figura 8).

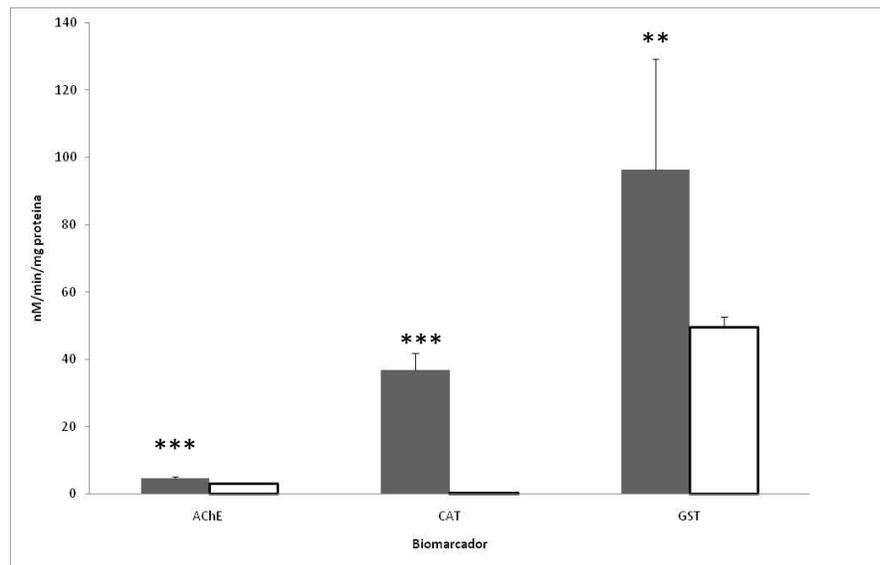


Figura 8. Comparación de la actividad de los biomarcadores en hígado de *Peromyscus melanotis* por temporadas de lluvias (barras oscuras) y secas (barras blancas).

- *P. difficilis*.

En estos individuos se encontraron diferencias significativas en los tres biomarcadores (AChE, KW: 33.924, $p < 0.001$; CAT, KW: 27.573, $p < 0.001$; GST, KW: 20.38, $p < 0.001$) con respecto a las temporadas climáticas. Los valores de actividad de AChE y CAT fueron mayores durante las lluvias y la de GST lo fue en las secas (Figura 9).

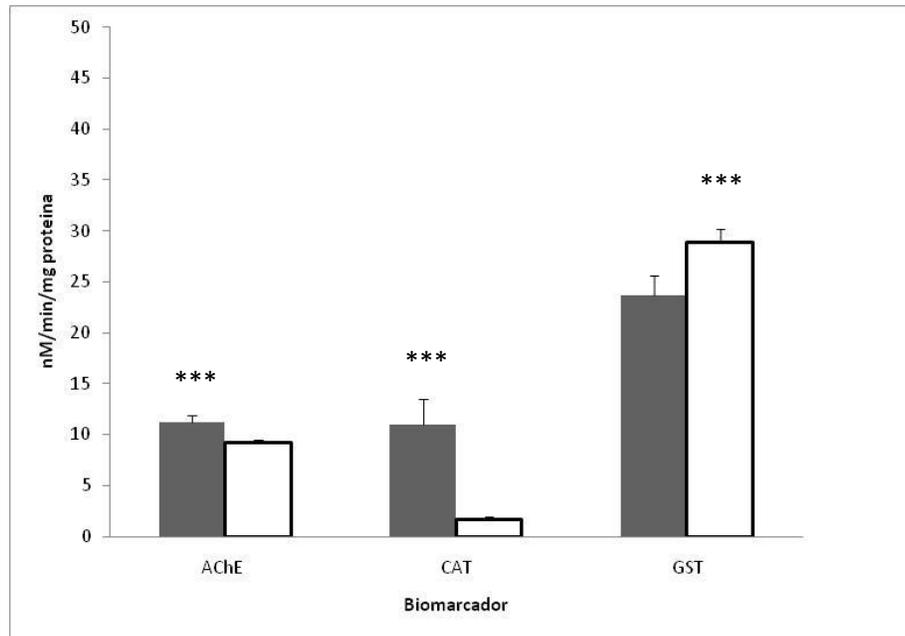


Figura 9. Comparación de la actividad de los biomarcadores en hígado de *Peromyscus difficilis* por temporadas de lluvias (barras oscuras) y secas (barras blancas).

Comparación entre especies

Al realizar las comparaciones interespecíficas durante las temporadas climáticas, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los valores de actividad enzimática de todos los biomarcadores tanto en lluvias (AChE, KW: 35.60, $p < 0.001$; CAT, KW: 17.499, $p < 0.001$; GST, KW: 35.85, $p < 0.001$) como en secas (AChE, $F_{(1,60)}: 57.95$, $p < 0.001$; CAT, KW: 6.975, $p < 0.05$; GST, $F_{(1,60)}: 39.81$, $p < 0.01$). Durante la temporada seca la actividad de los biomarcadores disminuyó de manera general, siendo más evidente en la actividad de CAT, por ejemplo, durante la época

húmeda los valores promedio fueron de 36.71 y 10.95 nM/min/mg en *P. melanotis* y en *P. difficilis* de 0.142 y 1.60 nM/min/mg, respectivamente (Figuras. 10b y 10c).

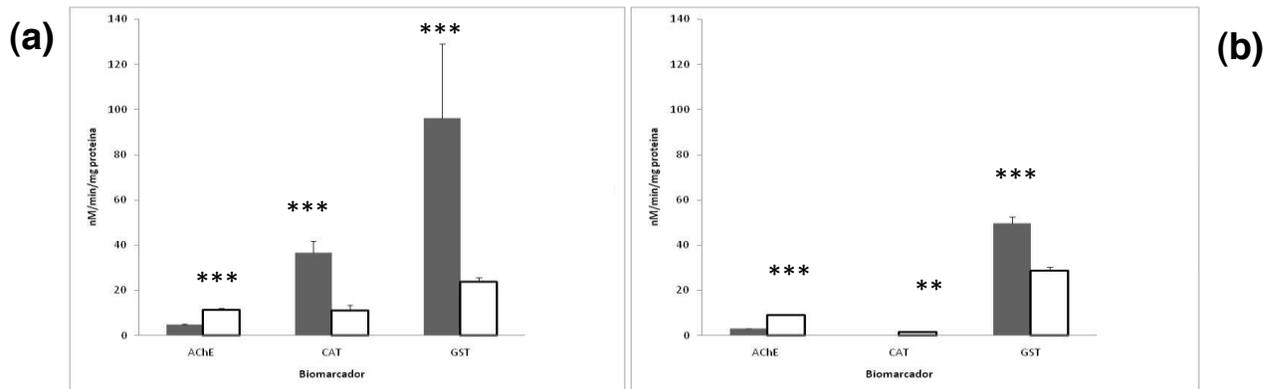


Figura 10. Comparación en la actividad de los biomarcadores en hígado entre *P. melanotis* (barras oscuras) y *P. difficilis* (barras blancas), según las temporadas climáticas: temporada de lluvias (a) y temporadas de secas (b).

Comparacion entre sexos

- *P. melanotis*

Ambos sexos no presentaron diferencias significativas tanto de manera anual como por temporada (AChE, $F_{(1,33)}$: 2.17, $p > 0.05$; CAT, $F_{(1,30)}$: 0.06, $p > 0.05$; GST KW: 0.213, $p > 0.05$). La actividad de AChE y CAT fueron similares en ambos sexos; con una tendencia de ser mayor la actividad de GST en los machos (Figura 11).

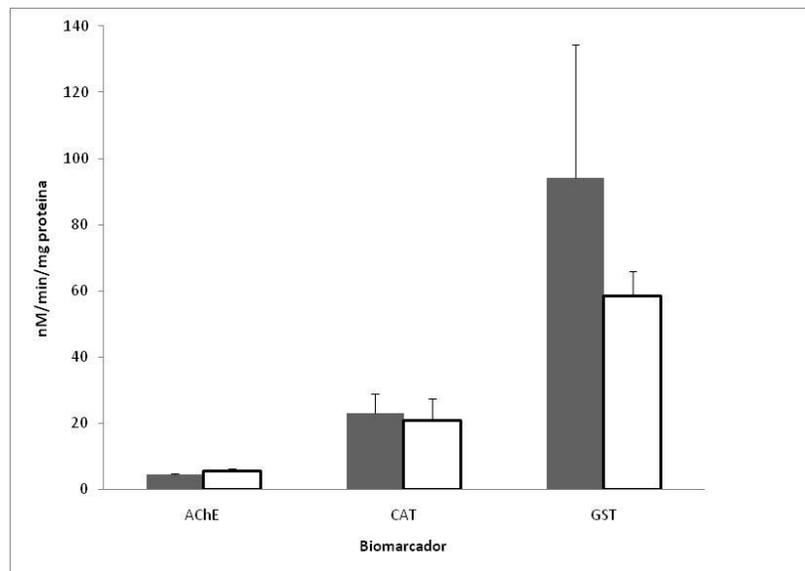


Figura 11. Comparación de la actividad de los biomarcadores en hígado entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas) en *Peromyscus melanotis*.

-P. difficilis.

En esta especie no se encontraron diferencias significativas de la actividad de los tres biomarcadores entre sexos (AChE y CAT, Kruskal Wallis, $P > 0.23$; GST, ANOVA $P = 0.06$, $\alpha = 0.05$); tendiendo a ser mayor la actividad de la GST en los machos (Figura 12).

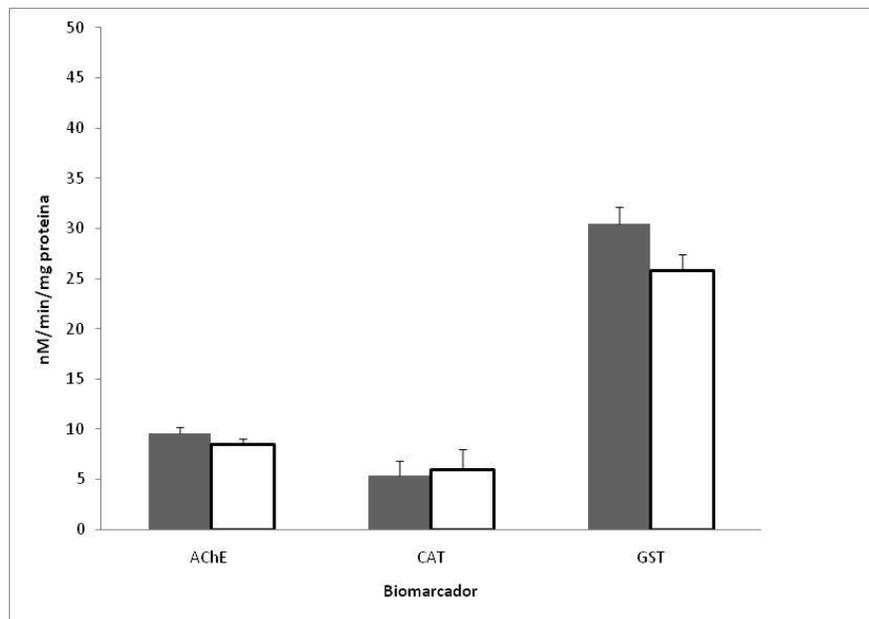


Figura 12. Comparación de la actividad de los biomarcadores en hígado entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas) en *Peromyscus difficilis*.

IX.1.3. Comparación de biomarcadores en músculo esquelético

En el musculo esquelético se evaluaron los biomarcadores de AChE, CAT y GST.

Comparación entre temporadas climáticas

- *P. melanotis*.

Entre ambas temporadas climáticas la prueba estadística encontró diferencias significativas en los tres biomarcadores (AChE, KW: 12.045, $p < 0.05$; CAT, KW: 10.75, $p < 0.05$; GST, KW: 7.87, $p < 0.05$). Para AChE y GST, la actividad fue mayor durante las lluvias, mientras que la de CAT lo fue en las secas (Figura 13)

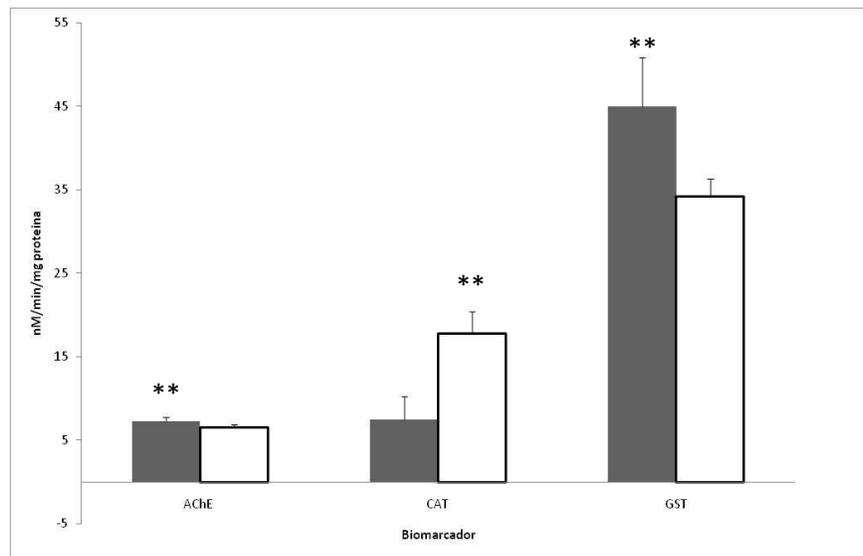


Figura 13. Comparación de la actividad de los biomarcadores en músculo esquelético de *Peromyscus melanotis* por temporadas de lluvias (barras oscuras) y secas (barras blancas).

- *P. difficilis*.

Estadísticamente sólo se encontraron diferencias significativas en AChE (KW: 15.30, $p < 0.001$) y CAT (KW: 13.07, $p < 0.001$); la actividad de AChE tendió a ser ligeramente mayor durante las lluvias, mientras que en la CAT sucedió en la temporada seca. La GST no presentó diferencias significativas en las actividades entre temporadas ($F_{(2, 98)}: 1.24, p > 0.05$) (Figura 14).

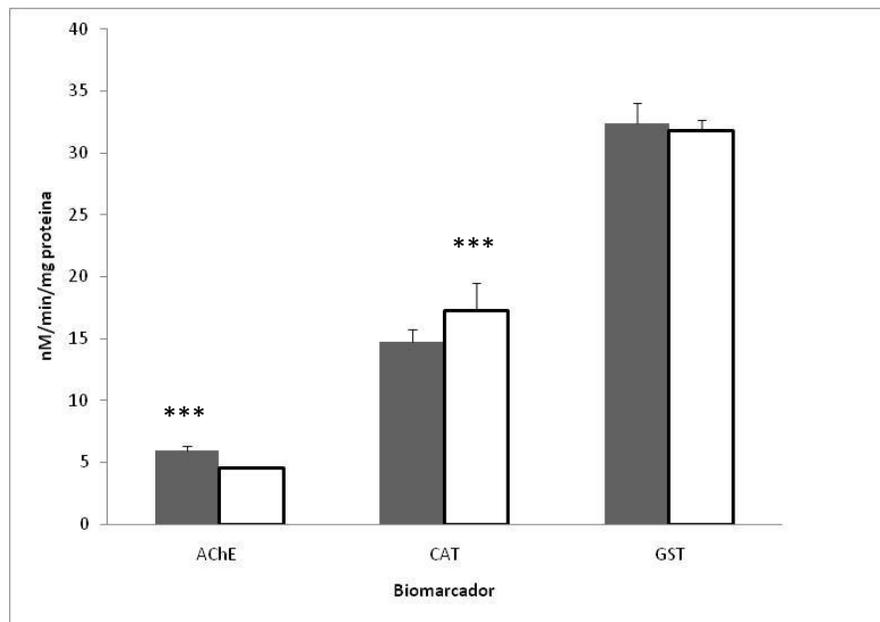


Figura 14. Comparación de la actividad de los biomarcadores en músculo esquelético de *Peromyscus difficilis* por temporadas de lluvias (barras oscuras) y secas (barras blancas).

Comparación entre especies

Durante las lluvias se encontraron diferencias significativas estadísticamente hablando (AChE, KW: 6.620, $p < 0.05$; CAT, KW: 14.08, $p < 0.001$; GST, KW: 8.140, $p < 0.05$) siendo ligeramente mayor la actividad de AChE y en mayor magnitud en CAT en *P. melanotis* (Figura 15a). Durante las secas hubo diferencias significativas solo en la AChE ($F_{(1,60)}$: 28.11, $p < 0.001$) siendo mayor en *P. melanotis*. Sin embargo, aún cuando CAT (KW: 1.743, $p > 0.05$) y GST ($F_{(1,60)}$: 1.693, $p > 0.05$) no presentaron diferencias significativas, su tendencia fue de ser mayor en *P. melanotis* (Figura 15b).

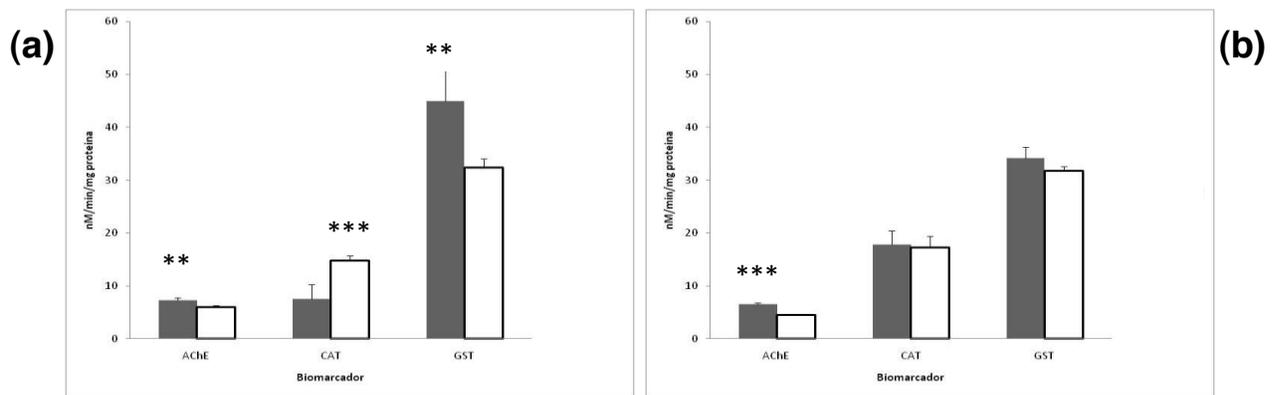


Figura 15. Comparación de la actividad de los biomarcadores en músculo esquelético entre *P. melanotis* (barras oscuras) y *P. difficilis* (barras blancas), según las temporadas climáticas: A lo largo del año (a), temporada de lluvias (b) y temporadas de secas (c).

Comparación entre sexos

- *P. melanotis*.

Entre machos y hembras no hubo diferencias significativas (AChE, KW: 1.821, $p > 0.05$; CAT, KW: 0.4367, $p > 0.508$, $p > 0.05$; GST, KW: 0.2450, $p > 0.05$), sin embargo, la AChE y GST tendieron a ser mayores en los machos y la CAT en las hembras (Figura 16).

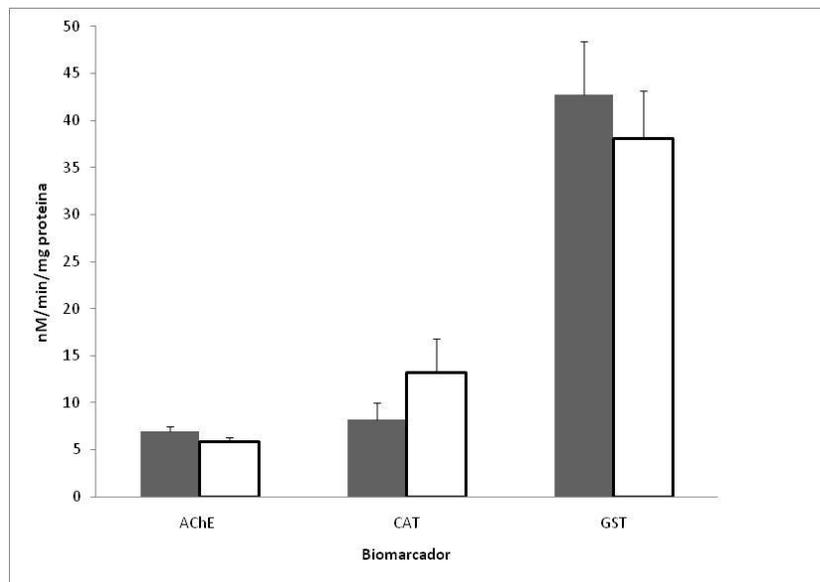


Figura 16. Comparación de actividad de biomarcadores entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas) de *Peromyscus melanotis*.

- *P. difficilis*.

Estadísticamente, no se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras, sin embargo al contrario que en *P. melanotis* la actividad de los biomarcadores fue mayor en los machos (AChE, KW: 0.384, $p > 0.05$; CAT, KW: 0.043, $p > 0.05$; GST, $F_{(1, 86)}$: 0.13, $p > 0.05$) (Figura 17).

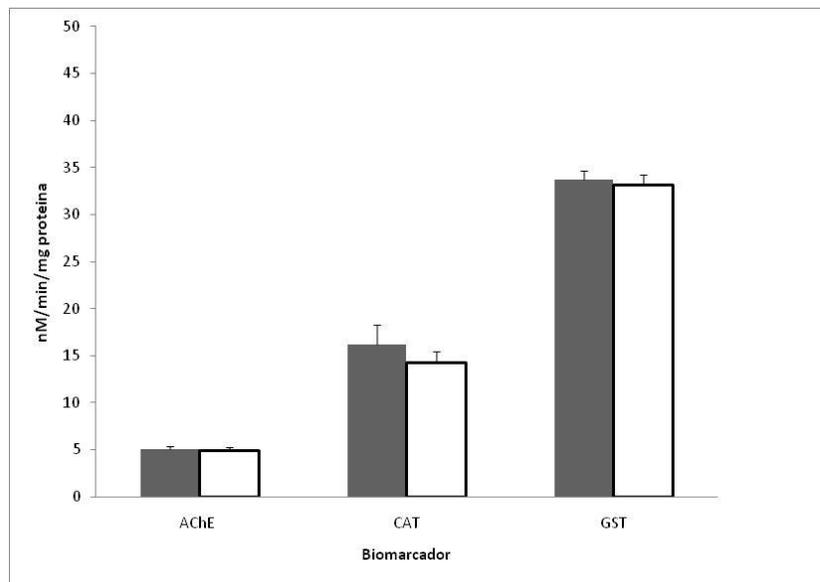


Figura 17. Comparación de actividad de biomarcadores entre machos (barras oscuras) y hembras (barras blancas) de *Peromyscus difficilis*.

IX.1.4 Comparación de biomarcadores entre músculo esquelético e hígado

- *P. melanotis*.

Se realizaron las comparaciones de los biomarcadores por cada tejido de forma separada en ambas especies.

Tanto en la temporada de lluvias como en la de secas la actividad de la AChE fue mayor en el musculo esquelético encontrándose diferencias significativas ($t = 2.98$, $p < 0.002$ y $t = -10.41$, $p < 0.001$, respectivamente) (Figura 16a y b). La CAT en la época de lluvias fue mayor en el hígado ($t = 4.39$; $p < 0.001$) en temporada seca lo fue en el musculo esquelético ($t = 3.55$; $p < 0.001$) (Figura 18a y b), y la GST en

ambas temporadas del año fue significativamente mayor en el hígado ($t = 3.55$; $p < 0.001$, y $t = 4.33$, y $p < 0.001$, respectivamente (Figura 18a y b).

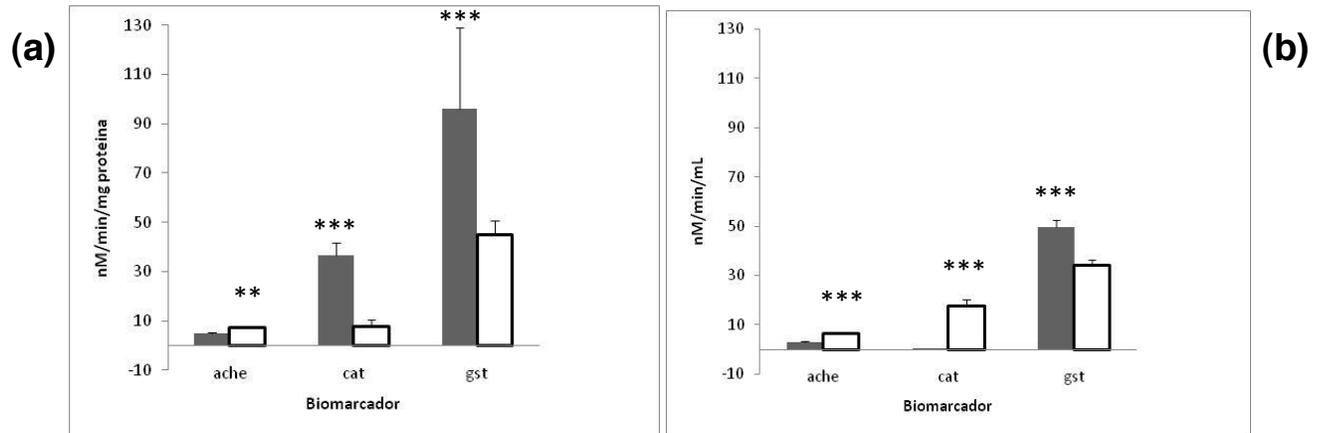


Figura 18. Comparación de la actividad de los biomarcadores entre tejido muscular esquelético (barras blancas) e hígado (barras oscuras) en *Peromyscus melanotis*: por temporada de lluvias (a), y temporadas de secas (b).

- *P. difficilis*.

En la época de lluvias y secas la actividad de AChE fue mayor en hígado ($t = 5.143$, $p < 0.001$, y $t = 6.27$, $p < 0.001$, respectivamente) (Figura 17a y b). La actividad de CAT en ambas épocas fue mayor en músculo esquelético, encontrándose diferencias estadísticas significativas tanto en la temporada de lluvias ($t = 2.41$; $p < 0.015$) como en la época seca ($t = 6.27$; $p < 0.001$) (Fig. 17a y b). Por su parte, la GST en ambas fue mayor en el músculo esquelético (lluvias: $t = -3.51$; $p < 0.001$; secas: $t = 2.41$; $p < 0.01$), encontrando la diferencia de actividad más evidente durante la época seca (Figura 19a y b).

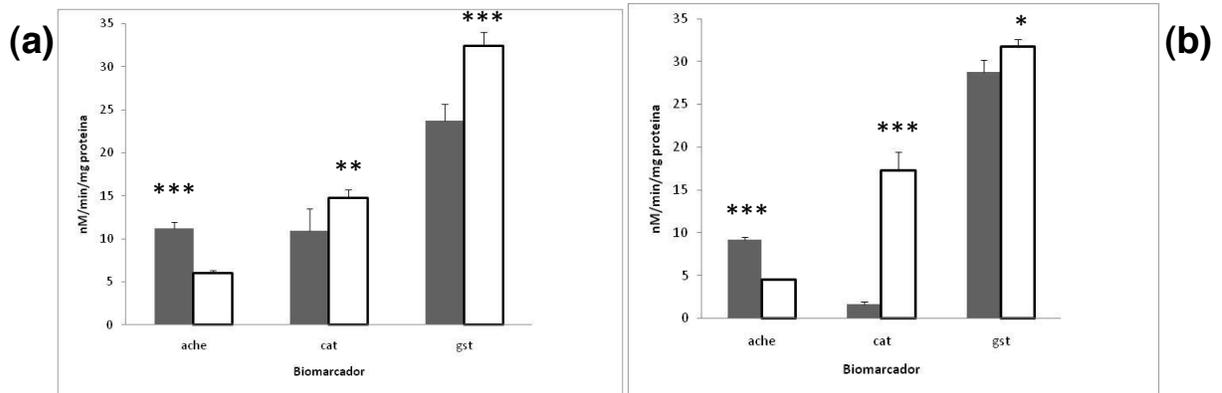


Figura 19. Comparación de la actividad de los biomarcadores entre tejido muscular esquelético (barras oscuras) e hígado (barras blancas) en *Peromyscus difficilis*: Por temporada de lluvias (a), temporadas de secas (b).

IX.1.5 Correlaciones de biomarcadores con contaminantes

Para este análisis se obtuvieron los promedios de la actividad de los cuatro biomarcadores por día de muestreo, por especie y sexo, así como los promedios de cuatro días referentes al mes de muestreo y del día que se hizo de contaminantes atmosféricos (O_3 , CO, NO, NO_2 , NO_x , PM_{10} y SO_2) de la red de monitoreo del Distrito Federal.

En *P. melanotis*, se encontraron correlaciones significativas ($p < 0.05$) de la CAT en músculo esquelético con CO, NO, NO_2 , NO_x , y SO, y la GST con las PM_{10} , todas las correlaciones negativas, esta tendencia se presenta en la mayoría de las correlaciones sin ser significativas, algunos biomarcadores mostraron correlaciones positivas principalmente con el O_3 , y dos biomarcadores, la AChE en plasma y GST en hígado, no mostraron correlación con NO_2 y PM_{10} , respectivamente (tabla 4).

En *P. difficilis*, no se encontraron correlaciones significativas de los biomarcadores con ningún contaminante, al igual que en *P. melanotis*, la mayoría de las correlaciones fueron negativas y solo BuChE en plasma y GST en hígado no se correlacionaron con NO y PM₁₀ respectivamente (tabla 5).

Tabla 4. Matriz de correlación de Spearman, entre los contaminantes ambientales reportados por la Red de Monitoreo Ambiental del Distrito Federal y los biomarcadores analizados en tejidos de *P. melanotis*. Las correlaciones significativas ($\alpha= 0.05$), se muestran sombreadas en gris.

	CO	NO	NO ₂	NOx	O3	PM10	SO2
AChE plasma	-0.209	0.048	0.000	0.095	0.119	-0.095	0.119
	0.620	0.911	1.000	0.823	0.779	0.823	0.779
BuChE plasma	-0.344	-0.238	-0.333	-0.190	0.143	-0.643	-0.095
	0.404	0.570	0.420	0.651	0.736	0.086	0.823
AChE hígado	-0.184	-0.119	-0.381	-0.143	0.333	-0.333	-0.095
	0.662	0.779	0.352	0.736	0.420	0.420	0.823
CAT hígado	-0.061	-0.048	-0.333	-0.095	0.405	-0.167	0.048
	0.885	0.911	0.420	0.823	0.320	0.693	0.911
GST hígado	0.209	0.095	-0.119	-0.024	0.095	0.000	-0.071
	0.620	0.823	0.779	0.955	0.823	1.000	0.867
AChE músculo	0.337	0.036	0.286	0.143	-0.107	0.179	0.036
	0.460	0.939	0.535	0.760	0.819	0.702	0.939
CAT músculo	-0.859	-0.833	-0.786	-0.881	-0.190	-0.548	-0.905
	0.006	0.010	0.021	0.004	0.651	0.160	0.002
GST músculo	-0.282	-0.381	-0.476	-0.429	0.310	-0.786	-0.381
	0.498	0.352	0.233	0.289	0.456	0.021	0.352

Tabla 5. Matriz de correlación de Spearman, entre los contaminantes ambientales reportados por la Red de Monitoreo Ambiental del Distrito Federal y los biomarcadores analizados en tejidos de *P. difficilis*. No se observaron correlaciones significativas ($\alpha= 0.05$).

	CO	NO	NO ₂	NO _x	O ₃	PM10	SO ₂
AChE plasma	-0.111	-0.050	0.033	-0.033	-0.133	0.400	-0.117
	0.777	0.898	0.932	0.932	0.732	0.286	0.765
BuChE plasma	-0.043	0.000	-0.183	-0.017	0.233	-0.167	0.017
	0.913	1.000	0.637	0.966	0.546	0.668	0.966
AChE hígado	0.017	0.017	-0.150	-0.017	-0.067	0.167	-0.033
	0.965	0.966	0.700	0.966	0.865	0.668	0.932
CAT hígado	-0.264	-0.267	-0.433	-0.300	0.317	-0.450	-0.200
	0.493	0.488	0.244	0.433	0.406	0.224	0.606
GST hígado	-0.051	0.083	0.200	0.167	-0.150	0.000	0.117
	0.896	0.831	0.606	0.668	0.700	1.000	0.765
AChE músculo	-0.282	-0.405	-0.524	-0.429	0.595	-0.167	-0.357
	0.498	0.320	0.183	0.289	0.120	0.693	0.385
CAT músculo	0.349	0.433	0.433	0.467	0.167	0.533	0.417
	0.357	0.244	0.244	0.205	0.668	0.139	0.265
GST músculo	-0.119	-0.083	-0.133	-0.067	0.067	-0.333	-0.117
	0.760	0.831	0.732	0.865	0.865	0.381	0.765

X. DISCUSIÓN

Los estudios referentes a la contaminación en especies terrestres es escasa comparada con la extensa información reportada en las acuáticas (ICME, 2000), debido a que los ambientes acuáticos son más homogéneos (Smith *et al*, 2007; Begon *et al*, 2006). A pesar de esto, sabemos que la constante carga de agentes xenobióticos al ambiente a consecuencia de las actividades humanas, puede dañar a las poblaciones de fauna silvestre, dependiendo de la fuente y grado de exposición en la que se encuentre una población específica (Smith *et al*, 2007).

En ambientes terrestres el estudio del impacto de la contaminación sobre las poblaciones silvestres se encuentran mejor documentado en aves, debido a su capacidad de acumular contaminantes (Golden y Rattner 2003). En mamíferos, el estudio de estos tópicos se hace más complejo, debido a que las vías de exposición son más variadas; los vertebrados terrestres pueden estar expuestos mediante la ingestión de materia contaminada, absorción a través del pelo o inhalación de partículas de ciertos contaminantes volátiles (Smith *et al.*, 2007). Una gran acumulación de compuestos extraños en los órganos puede generar un desbalance redox en las células y por lo consiguiente la producción de especies reactivas de oxígeno –ERO- (Lopes *et al.*, 2002; Tian, 1998; Jaeschke, 2008). En organismos aerobios, el mantenimiento de un balance redox es importante para las funciones metabólicas vitales y para la integridad celular (Lopes *et al.*, 2002; van der Oost *et al.*, 2003), para mantenerlo la célula tiene defensas antioxidantes que protegen contra las ERO, estas defensas son enzimas antioxidantes que catalizan la reducción de los radicales libres (Lopes, *et al.*, 2002; van der Oost *et al.*, 2003).

En este trabajo se analizaron en diferentes tejidos, las diferencias temporales (lluvias – secas) en la actividad de tres biomarcadores y su relación con los contaminantes ambientales.

Comparación de los Biomarcadores en plasma

Con el objetivo de identificar al mejor biomarcador, se analizó la actividad AChE y BuChE en el plasma de ambas especies, tanto en época de lluvias como en secas, encontrando mayor actividad (Tabla 2 y 3) en la también llamada colinesterasa sérica (BuChE), que como su nombre lo indica es más abundante en plasma en comparación con la AChE, la cual se encuentra principalmente en los eritrocitos (Gómez, 2000), La butirilcolinesterasa es un biomarcador muy sensible de exposición a plaguicidas, debido a su alta tasa de reacción con plaguicidas organofosforados (Magnotti *et al.*, 1988), por lo que en este caso al ser más abundante puede reflejar de mejor manera las diferencias entre especies o sexos.

Temporadas climáticas.

La contaminación en la Ciudad de México es un problema constante, la emisión de contaminantes dentro de la ciudad presenta poca variación a lo largo del año (S.M.A. 2008), sin embargo al realizar el análisis de los biomarcadores en plasma, la BuChE presenta mayor actividad durante las lluvias tanto en *P. melanotis* (232.05 U/mL), como en *P. difficilis* (456.18 U/mL), en comparación con la temporada de secas (70.20 U/mL y 174.85 U/mL, respectivamente), dicho decremento fue aproximadamente en más del 60% en ambos casos, esta disminución en la actividad de la BuChE sugiere la presencia de uno o varios agentes anticolinesterasico en el ambiente durante la temporada seca, de esta manera, los efectos que causan o la manera en que se manifiestan varían de acuerdo a los factores climáticos locales

como la temperatura, inversiones térmicas, lluvia, dirección y velocidad de los vientos, es decir, dependen también de la estación climática en la que se encuentre. La disminución en la actividad de BuChE, durante la temporada seca, corresponde con la presencia de inversiones térmicas frecuentes en el Distrito Federal, durante la época invernal seca del año del muestreo solo durante noviembre y diciembre se presentaron más de 20 episodios (S.M.A. 2008). Durante estos fenómenos de contaminación se incrementan los niveles de partículas suspendidas y de contaminantes primarios en las capas atmosféricas más cercanas al suelo, se podría suponer que los eventos de lluvia ácida podría afectar de forma significativa la actividad de los biomarcadores debido al gran depósito de contaminantes durante la temporada de lluvias en el suelo, sobre las hojas y frutos de plantas del bosque, que a su vez sirven de alimento para los roedores (Fenn *et al.*, 1999; S.M.A. 2008), y también determinado por la fuerte asociación de los ratones con el suelo (Tataruch y Kieerdof, 2003; Smith *et al.*, 2007), sin embargo los resultados que se observan en BuChE en plasma no lo reflejan de esta manera.

Por otro lado la actividad de la AChE, muestra un patrón diferente con relación a BuChE. En ambas especies, la mayor actividad se encuentra en la época de secas. Si bien se tiene reportado que ambas colinesterasas tienen una función similar, BuChE es más abundante en plasma de diferentes mamíferos, principalmente humanos, caballos y ratones (Westlake *et al.*, 1983; Çokuğraş, 2003), reportándose también muy bajos niveles de AChE en dicho fluido (Gómez, 2000), de manera similar al presente trabajo en donde la expresión de ambos biomarcadores fue

significativamente diferente, por lo que en plasma, se puede tomar como un mejor biomarcador a la BuChE, ya que se presenta en mayor concentración y se expresa de mejor manera encontrándose que su actividad era en promedio 70% mayor que la AChE, respondiendo con una mayor sensibilidad. Sin embargo los resultados encontrados en plasma se deben cotejar con respuestas de estos biomarcadores en otros tejidos donde se lleven a cabo reacciones de desintoxicación dentro del organismo, así como en donde se encuentren sitios de acción de dichos biomarcadores, como lo pueden ser el hígado y el musculo esquelético.

Comparación entre especies

Para valorar el estado de salud de un ecosistema dado, se deben elegir los bioindicadores adecuados, es decir, aquellos que sean lo suficientemente sensibles para responder a las perturbaciones que sufra el ecosistema (Mayer *et al.*, 1992). *Peromyscus difficilis* parece ser un mejor bioindicador que *P. melanotis*, cuando se utilicen colinesterasas en plasma, para valorar impactos de contaminantes, ya que si bien, ambos modelos responden de manera similar a la presión de los contaminantes, en ambas temporadas climáticas *P. difficilis*, presentó una mayor actividad colinérgica, así mismo, muestra mayor contraste entre temporadas climáticas, es decir, es más sensible. Estos resultados a expensas de ser cotejados con los datos de los otros biomarcadores tanto en hígado como en músculo esquelético, sugieren que si bien ambas especies pertenecen al mismo género, los procesos evolutivos que han derivado en diferentes adaptaciones, tales como historias de vida, etapas reproductivas y procesos metabólicos, generan ciertas

diferencias interespecíficas que permiten asimilar de distinta manera el impacto de la contaminación.

La actividad de las colinesterasas en plasma es mayor en ambas especies, incluso durante la época de secas en donde presentan menor actividad, esto es en comparación con las actividades basales de estas mismas enzimas en estudios con ratones donde se mide la actividad de dichos biomarcadores como referencia (Westlake *et al*, 1983; Van Lith *et al*, 1991 y Alves-Amaral *et al*, 2008). Cabe resaltar que estas actividades son tomadas en condiciones controladas de laboratorio, por lo que se puede inferir que las condiciones ambientales juegan un papel importante en la expresión y respuesta de los biomarcadores bioquímicos.

Comparación entre sexos

En los últimos años se le ha dado especial importancia a establecer diferencias en la captación y asimilación de los contaminantes entre sexos debido a que en vida libre hembras y machos presentan una susceptibilidad diferente dependiendo de diversos factores como pueden ser cambios en las tasas metabólicas, estados y cambios hormonales, etapas reproductivas y variaciones en la talla (Burguer *et al*, 2007), sin embargo, los resultados de colinesterasas en plasma respaldan la evidencia de otros trabajos (González *et al*, 2008) en los que no se encuentran diferencias significativas en la expresión de biomarcadores entre hembras y machos en ninguna de las dos especies, ya sea en temporada de lluvias o secas, esta evidencia se corrobora al no encontrar diferencias en los demás biomarcadores en

los tejidos analizados. No obstante, en plasma las hembras de ambas especies, tienen ligeramente mayor actividad colinérgica que los machos, patrón encontrado también en trabajos previos (Chanda *et al*, 1997) sin ser esta diferencia significativa para hacer una distinción sobre si un sexo puede funcionar como un mejor bioindicador por exposición a contaminación.

Comparación de los Biomarcadores en hígado

Este órgano es en donde los compuestos exógenos son biotransformados y eventualmente excretados, como consecuencia las células del hígado son expuestas a grandes concentraciones de estos compuestos químicos, lo cual puede causar un disfunción de este órgano, daño celular y en general falla del mismo (Hodgson y Levy, 2004; Jaeschke, 2008).

Temporadas climáticas

La actividad de la AChE fue significativamente mayor durante la época de lluvias en comparación con la época de secas, tanto en *P. melanotis* en donde se observó una disminución aproximada del 18% de la actividad con respecto a *P. difficilis*, encontrando una disminución mayor a 35% de la actividad de este biomarcador. Esta evidencia encontrada en hígado soporta los datos que se encuentran en la butirilcolinesterasa en plasma en donde se aprecia también una disminución aunque mayor a la encontrada en hígado, la inhibición de la actividad de las colinesterasas aunque principalmente se atribuye a la presencia de compuestos organofosforados y carbámicos, otros estudios también refieren disminución en su

actividad provocada por metales y detergentes (Jemec *et al.*, 2009); En el PNDL se depositan gran cantidad de metales pesados, algunos de ellos son requeridos por los animales para su desarrollo normal, sin embargo, el aumento en sus concentraciones pueden causar toxicidad (Jemec *et al.*, 2009). Para 2003, se reportaron altas concentraciones de metales pesados en diferentes tejidos, de algunas especies de roedores habitantes del PNDL, incluyendo ambas especies analizadas en el presente estudio. Las concentraciones de metales pesados encontrados en el hígado de estos organismos fue más alta durante las época de secas (Gómez-Ugalde, 2003), coincidiendo con la disminución de la actividad colinérgica tanto en hígado como en plasma de los dos modelos biológicos, en base a esto, se puede suponer una influencia por parte de los metales pesados, sin embargo, esta evidencia no es suficiente para asegurar que su sola presencia sea un detonante en la inhibición colinérgica.

La CAT, en ambas especies fue significativamente mayor durante la temporada lluviosa (*Pm*: 36.72 nM/min/mg y *Pd*: 10.95 nM/min/mg) en comparación a la época de secas (*Pm*: 0.142 nM/min/mg y *Pd*: 1.60 nM/min/mg); con una disminución aproximada del 90% en ambos casos. A partir de los datos, se puede observar que la actividad de la CAT hepática, se ve sensiblemente alterada por los eventos climáticos presentes en las dos épocas del año en el PNDL; los cuales generan que el depósito de contaminantes sea diferente en el bosque así como diferentes reacciones de estos en el ambiente; sin embargo, hacer una interpretación y determinar la causa exacta del comportamiento de la actividad de la CAT

encontrada en las estaciones climáticas en nuestros modelos estudio, resulta complicado, ya que si bien se ha reportado que esta enzima se activa en situaciones estrés por presencia de compuestos xenobióticos, particularmente plaguicidas en plasma (Gabryelak y Klekot, 1985) y en hígado por la exposición a PCBs y HAPs en peces (van der Oost *et al.*, 2003). Otros trabajos reportan que su actividad puede verse reducida cuando el organismo se encuentre en presencia de altos niveles de ERO (Schrader y Fahimi 2006; Jemec *et al.*, 2009) y en otros estudios principalmente de laboratorio con peces, en donde se expusieron a HAPs y extractos de descargas de motores o a cadmio (Bainy *et al.*, 1996). La actividad de la CAT puede alterarse por diversos contaminantes y factores asociados tales como ciclos de vida, dieta, salud o edad (Kaplan y Groves, 1972; Tian *et al.*, 1998; Koizumy *et al.*, 1987; Jemec *et al.*, 2009), los cuales pueden estar sometiendo a los organismos a situaciones de estrés oxidativo.

La actividad de la GST muestra un patrón diferente en la expresión de este biomarcador en las diferentes especies, ya que *P. melanotis* presenta mayor actividad durante las lluvias (lluvias: 96.28 nM/min/mg; secas: 49.59 nM/min/mg), en tanto que *P. difficilis* lo hace durante las secas (lluvias: 23.78 nM/min/mg; secas: 28.81 nM/min/mg). Estudios previos reportan que la actividad de la GST puede estar inducida por la toxicidad de diferentes compuestos xenobióticos (Lopes *et al.*, 2002; van der Oost *et al.*, 2003), un aumento en la actividad de la GST se ha vinculado con adaptaciones y resistencia de los organismos a diferentes estresantes químicos y físicos que se encuentran en el ambiente (Field y Thurman, 1996). La diferencia

interespecifica que se observa en la actividad de la GST entre temporadas climáticas en el presente estudio, puede deberse a adaptaciones de las especies para la asimilación de ciertos agentes estresantes, por otro lado, la presencia de metales pesados puede alterar también la actividad catalítica de la GST (Lopes *et al.*, 2002).

Comparación entre especies

Al comparar la actividad colinérgica en el hígado se observó el mismo patrón que en el plasma en donde se encontró que *P. difficilis* presenta mayor actividad con respecto a *P. melanotis*, ambas especies responden de igual manera y con el mismo orden de magnitud en las temporadas climáticas, sin embargo, como sucedió en plasma la actividad de la AChE hepática de *P. difficilis* fue del doble que en la otra especie. Por lo tanto, despreciando esta diferencia, ambas especies muestran la misma respuesta sobre las presiones ambientales. Por lo que ambas especies pueden funcionar como un eficiente bioindicador cuando se analicen los impactos por agentes anticolinesterasicos en vida libre.

Cabe resaltar que la actividad de AChE hepática encontrada en ambas especies en cualquiera de las temporadas climática es mayor a la actividad colinérgica reportada para otros roedores tanto silvestres como animales de laboratorio en los que se ha calculado su actividad basal, esto realizado bajo condiciones de aclimatación (Westlake *et al.*, 1983; Rattner y Hoffman 1984; Chanda *et al.*, 1997; Gómez 2000; Timur *et al.*, 2003), esta actividad superior refleja la importancia que tienen las variables ambientales sobre la expresión de cualquier

variable fisiológica que se mida en los organismos silvestres y deja de manifiesto la importancia de los trabajos en campo.

Al contrario que la AChE, en el hígado la mayor actividad de GST y CAT se observó en los organismos de *P. melanotis*, observándose una actividad tres veces mayor que en *P. difficilis*, esta diferencia hace suponer que el tamaño juega un papel importante en la expresión de estos biomarcadores, sin embargo, se deben realizar estudios más precisos al respecto ya que se deben establecer diferencias fisiológicas entre especies antes de relacionarlas a efectos por contaminación, esta evidencia se suma a trabajos previos en los que también se encontraron diferencias entre especies de roedores en la actividad de GST (Morgenstern *et al.*, 1984; Chang *et al.*, 1990; Lopes *et al.*, 2002), al igual que en AChE la mayor actividad de estas enzimas en comparación con animales de laboratorio o en cautiverio pueden atribuirse a las costumbres de forrajeo y dieta que pueden alterar la actividad de las enzimas hepáticas (Rattner y Hoffman, 1984).

Comparación entre sexos

No se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras, en los tres biomarcadores, en ninguna de las dos especies utilizadas como bioindicadores, estos resultados son consistentes con los de otros trabajos en los que se trata de hacer diferencias entre la susceptibilidad a compuestos exógenos dependiendo el sexo, conductas sexuales o etapas de reproducción en los que no se han encontrado diferencias entre machos y hembras, ya sea en la caracterización de biomarcadores

como en la acumulación de contaminantes en tejidos de organismos expuestos (Mertens *et al.*, 2001; Lopes *et al.*, 2002; González *et al.*, 2008), solo algunos trabajos realizados en condiciones controladas han encontrado diferencia entre sexos en la expresión de biomarcadores, por ejemplo, Chanda y colaboradores (1997), compararon los efectos de clorpirifos en la actividad de colinesterasas hepáticas entre machos y hembras, encontrando que la actividad de AChE en hembras disminuye significativamente en comparación con los machos; sin embargo, las diferencias entre sexos no parece ser un criterio de valoración adecuado para evaluar los efectos de la contaminación en hígado.

Comparación de los biomarcadores en músculo esquelético

En las células musculares también se llevan a cabo reacciones de desintoxicación por las mismas enzimas que lo realizan en las células de otros tejidos como las del hígado, por lo que también son susceptibles de experimentar situaciones de estrés oxidativo, así mismo, son sitio de acción de otras moléculas como los neurotransmisores como la acetilcolina (Chatonnet y Lockridge 1989; Frey y Hegeman 2007). Por lo que es importante valorar las reacciones de estas mismas enzimas en diferentes órganos y tejidos para obtener una información más completa sobre los efectos de la contaminación en el organismo.

Temporadas climáticas

La actividad de AChE en el músculo esquelético mostró el mismo comportamiento en ambas especies, en donde la actividad de este biomarcador varió

significativamente entre temporadas, sufriendo una disminución hacia la temporada seca, la reducción en la actividad de AChE en *P. melanotis* fue cercana al 11 % en tanto que en *P. difficilis* fue más sensible, aproximadamente del 25%. La inhibición en la actividad de AChE en esta temporada es similar y soporta la evidencia que se encuentra tanto en hígado como en plasma, con estos datos se puede inferir de forma más contundente la presencia de compuestos anticolinesterasicos en mayor concentración en el ambiente, durante la temporada de secas sobre el PNDL, los efectos de la acumulación de contaminantes en el parque parece no alcanzar niveles tales para afectar de manera importante la fisiología de las especies estudiadas, ya que estudios realizados en la zona no reportan declinación en su densidad poblacional (Castro-Campillo *et al.*, 2008).

En el músculo esquelético la actividad de la CAT en ambas especies es superior en la época seca del año, teniendo una diferencia de actividad de 57% en *P. melanotis* y de 15% en *P. difficilis*, cabe resaltar que esta expresión de la CAT en músculo es inversa a la que se encuentra en hígado, en donde las diferencias en la expresión de la enzima entre temporadas presentaron grandes diferencias en las medias de la actividad, se necesitan más estudios para elucidar la respuesta de la CAT a diferentes contaminantes, así mismo el modo de exposición de los organismos a los contaminantes y la manera de absorción para precisar los mecanismos y sitios de acción de los mismos.

La actividad de la GST en el musculo fue similar en ambas especies, obteniendo mayor actividad durante las lluvias, sin embargo, únicamente se

encontraron diferencias significativas en *P. melanotis* en donde la reducción durante las secas fue cercana al 25 % de la actividad de la enzima, aunque en *P. difficilis* se observa el mismo comportamiento la reducción en la actividad enzimática no fue muy grande (2%), al igual que en la CAT la actividad encontrada en musculo muestra un patrón inverso al encontrado en hígado, esto puede ser efecto de susceptibilidad a un contaminantes en particular, ya que en estudios previos revelan activación o inhibición de estas enzimas dependiendo del tejido estudiado y del contaminante analizado (van der Oost et al., 2003; Ahmed y Zaki, 2009). Son relativamente pocos los trabajos que analizan los efectos de los contaminantes ambientales en ambientes terrestres en vida libre, se necesita mayor información sobre la sensibilidad y reacción de las defensas antioxidantes ante los impactos de la contaminación en vida libre principalmente en ambientes terrestres.

Comparación entre especies

La actividad de la AChE en el músculo fue significativamente más alta en *P. melanotis*, en cada temporada, este comportamiento de la AChE en músculo contrasta con la encontrada tanto en plasma como en hígado en donde la actividad colinérgica siempre se había presentado en *P. difficilis*, esto sugiere una mayor actividad de AChE en musculo posiblemente debida a que *P. melanotis* es una especie más activa y de metabolismo más acelerado. Pocos trabajos han valorado la actividad de AChE en músculo esquelético de ratones. Sin embargo, éstas investigaciones, han sido en condiciones de laboratorio y para valorar los rangos de tolerancia a un fármaco en particular, sin embargo, la actividad de AChE encontrada

en los organismos estudiados reflejan una mayor expresión en relación con otros trabajos realizados en músculo de roedores (Xie *et al.*, 2000; Minic, *et al.*, 2003).

La actividad de la CAT en músculo, es significativamente mayor en *P. difficilis* durante la estación lluviosa, sin embargo durante las secas, no se encuentran diferencias significativas entre la actividad de la CAT de ambas especies, sin embargo este biomarcador presenta una ligera tendencia a incrementarse en *P. melanotis*; trabajos previos reportan una correlación entre la inhibición de la AChE y la peroxidación de lípidos (Ahmed y Zaki, 2009), un efecto similar se observa en las actividades de estas dos enzimas en musculo en ambas especies, sin embargo, este resultado contrasta con la evidencia encontrada en hígado por lo que se deben realizar estudios más específicos para determinar las razones de la inducción o inhibición de la CAT en los diferentes tejidos que se analice.

La actividad de la GST en músculo fue significativamente mayor en *P. melanotis*, efecto previamente encontrado en hígado, esto sugiere que esta especie por ser más pequeña y tener requerimientos de consumo de energía mayores, su metabolismo sea más acelerado (Vergara-Huerta, 2009) por lo mismo la actividad de las enzimas antioxidantes puede ser mayor en especies más pequeñas.

Son pocos los trabajos realizados en músculo que valoran la respuesta de estos tres biomarcadores a situaciones de estrés por contaminación atmosférica, sin embargo, se ha medido la actividad de estas enzimas en respuesta a fármacos y después de la aplicación de algún contaminante en particular en condiciones de

laboratorio (Kaplan y Groves, 1972; Landmesser, 1972; Grankvist, *et al.*, 1981); la actividad de los tres biomarcadores en músculo resultan más elevados en relación con los registrados en trabajos previos, esto puede ser debido a los factores ambientales tales como la temperatura, humedad o la fuente de exposición entren en juego con los diferentes contaminantes, o bien por las características propias de la especie, conductas reproductivas o alimentarias, estas variables no se toman en cuenta en trabajos en condiciones controladas.

Comparación entre sexos

Los datos de los tres biomarcadores no arrojan diferencias significativas entre machos y hembras, esta evidencia en conjunto con la encontrada tanto en plasma como en hígado, soporta los resultados en trabajos previos en donde se determina que el sexo no es un criterio de valoración para elegir un bioindicador, por lo menos cuando se utilicen AChE, CAT y GST como puntos de valoración (Lopes *et al*, 2001; Burguer *et al*, 2007).

Comparación de los biomarcadores entre hígado y músculo esquelético

Los tres biomarcadores (AChE, GST y CAT) se valoraron en ambos tejidos, el propósito de esta comparación es determinar en qué tejido se expresan de mejor manera y en determinado caso precisar en cuál de ellos es más factible realizar el análisis de un biomarcador dado, la comparación se realizó por cada una de las especies o bioindicador estudiado, encontrando patrones diferentes en ambas especies. En *P. melanotis*, la AChE presentó mayor actividad en músculo, mientras

que la CAT y la GST lo hicieron en el hígado, observándose diferencias significativas entre ambos tejidos, esto se presentó tanto en lluvias como en secas, a excepción de la CAT en la cual durante las secas su actividad se vio sensiblemente reducida en el hígado en comparación con el músculo; por otro lado, en *P. difficilis*, la actividad de AChE fue significativamente mayor en hígado, en tanto que la CAT y la GST presentaron mayor actividad en el músculo, observándose también diferencias significativas.

En *P. melanotis*, la mayor actividad de la AChE registrada en músculo, en comparación con el hígado (27%) en esta especie se puede considerar como un efecto esperado, ya que esta especie es un modelo biológico más pequeño y por lo tanto presenta un metabolismo más acelerado, con necesidades energéticas mayores con mayor necesidad de movilidad, por lo tanto genera mayor actividad colinérgica en las conjunciones neuromusculares (Fernández-Manchón, 2002). El valorar la actividad de la AChE tanto en hígado como en músculo, parece ser una herramienta útil para estimar el impacto de los contaminantes, ya que si bien su principal función es regular la actividad colinérgica en las terminaciones neuromusculares, por ejemplo en el músculo, en otros tejidos como en el hígado realiza también otras funciones como secuestrador de compuestos anticolinérgicos (Çokuğraş, 2003), y en otros procesos fisiológicos (Massoulié *et al.*, 2008) que pueden verse afectados por presencia de compuestos xenobióticos.

En Ambas especies, la actividad de la CAT en hígado disminuye hacia las secas, en tanto que en músculo tiende a aumentar hacia esta misma estación, sin embargo,

de manera general en *P. melanotis*, la CAT presentó mayor actividad en el hígado y en *P. difficilis* esto se observó en músculo, se sabe que la CAT en mamíferos es más abundante en hígado y riñones y se presenta en poca concentración en músculo esquelético (Ji *et al.*, 1988) por lo que la alta actividad en hígado de *P. melanotis* puede deberse a una alta concentración de esta enzima; por otro lado, la alta actividad de la CAT en músculo en relación con la hepática en *P. difficilis*, difiere con lo reportado en otros trabajos en donde se reporta que su actividad es muy baja para ser detectada (Ji *et al.*, 1988).

La actividad de la GST, al igual que la CAT es contrastante en ambas especies, encontrándose patrones diferentes en la actividad de esta enzima en los dos tejidos. En *P. melanotis* en primera instancia, se registró mayor actividad de GST en hígado en relación con el músculo, esto puede deberse a la presencia de xenobióticos en el ambiente y que en determinado momento pueden estar afectando al organismo, esto puede deberse a que esta enzima es más abundante en este tejido y es precisamente el hígado el principal órgano encargado de la desintoxicación del organismo (Jaeschke, 2008); siendo la GST una de las que se encarga de la eliminación diversos compuestos lipofílicos, mediante la conjugación con la GSH (Field y Thurman, 1996; Jaeschke, 2008). Sin embargo la alta actividad de la GST en músculo de *P. difficilis*, con relación al hígado, es algo a resaltar ya que no se tiene evidencia previa de esta diferencia en cuanto a la actividad de esta enzima entre hígado y músculo esquelético.

XI. CONCLUSIONES.

Los diferentes fenómenos climatológicos en conjunto con la liberación en el ambiente de los diversos tipos de contaminantes, es lógico que generan una presión y somete a situaciones de estrés a los organismos en vida libre. El conocimiento del problema y las maneras en que afecta a los organismos es el primer paso para poder establecer programas para evitar los riesgos.

Una forma de evaluar el impacto de la contaminación desde el punto de vista fisiológico en las poblaciones silvestres es mediante la utilización de biomarcadores bioquímicos, evaluados en especies silvestres, las cuales nos pueden dar alertas tempranas de algún efecto en los organismos de una población. La utilización de estas medidas en vida libre en ambientes terrestres, puede ser una herramienta que complemente los estudios tradicionales que solo miden la carga de algún contaminante en particular, el presente trabajo es una contribución al estudio de los efectos de la contaminación en los ambientes silvestres que rodean a la Ciudad de México, haciendo énfasis en la importancia de valorar las reacciones fisiológicas de dos especies que pueden darnos señales de alguna alteración, antes de observarse efectos letales o irreversibles en las comunidades silvestres.

En la Ciudad de México, la emisión de contaminantes en el ambiente en constante a lo largo del año, sin embargo las temporadas climáticas provocan que los contaminantes liberados lleguen a las poblaciones silvestres de diferentes maneras, es decir, modifica la forma de exposición a los compuestos xenobióticos.

La evidencia que muestran los biomarcadores en ambas especies indica que los fenómenos climáticos suscitados en la temporada de secas tales como las inversiones térmicas que provocan la presencia en el ambiente de los contaminantes durante más tiempo pueden estar afectando más a los organismos en comparación con las constantes lluvias ácidas que se presentan durante la temporada húmeda en la cuenca del Valle de México; cabe resaltar también que la temporada seca coincide con la época fría del año por los que otros factores climáticos como la baja en la temperatura o la restricción dietética por la temporada puedan acentuar el impacto de los contaminantes.

Las diferencias interespecíficas encontradas en la expresión de los biomarcadores, reflejan la importancia que tienen las características propias de cada especie, en este caso, la diferencia en el tamaño corporal entre los dos bioindicadores puede provocar diferentes tasas metabólicas, lo cual alterará la asimilación de los xenobióticos y la velocidad en que son biotransformados y eliminados por cada especie, también pueden influir otro tipo de características como pueden ser conductas reproductivas y hábitos alimentarios. Aunque el presente trabajo deja de manifiesto que existe un efecto diferencial en la expresión de los biomarcadores, tanto entre temporadas como entre especies, son necesarios más trabajos que muestren cuales pueden ser las causas precisas de tal alteración, teniendo en cuenta la influencia de las variables ambientales, es decir, dándole importancia a la realización de los trabajos en campo.

No obstante las diferentes conductas que pueden tomar machos y hembras de una misma especie, por ejemplo, durante la reproducción; no se encontraron evidencias de una asimilación diferente de los efectos a la exposición a los contaminantes entre sexos de ninguna de las dos especies, estos datos respaldan lo encontrados en trabajos previos en los que no se observan diferencias entre machos y hembras tanto de mamíferos como de otros vertebrados.

Las diferentes actividades de los biomarcadores utilizados no permiten precisar que tejido es mejor o en cual es adecuado realizar el análisis en particular, a raíz del análisis de las correlaciones entre los biomarcadores y los contaminantes atmosféricos reportados, se puede inferir la presencia en el ambiente de otros tipos de contaminantes que no se monitorean y que pueden poner en riesgo la salud de los organismos que habitan el PNDL.

Finalmente, estos resultados contribuyen a reforzar la idea de utilizar una batería o conjunto de biomarcadores en diversos tejidos de un organismo o bioindicador, para valorar efectos en lugar de la valoración de un solo biomarcador, esto permitirá obtener una visión más completa del efecto fisiológico de un contaminante dentro del organismo.

XII. RECOMENDACIONES FINALES

La evidencia recabada en el presente trabajo, sobre el impacto fisiológico de la contaminación ambiental sobre especies de fauna silvestre, es el primer estudio realizado en el PNDL, en donde se utilizan los biomarcadores bioquímicos como herramienta de valoración, estos resultados en conjunto con trabajos previos en donde se detectan presencia de contaminantes tanto en fauna como en flora habitante del parque, así como en suelo, sientan las bases para estudios más precisos en la determinación del impacto de la contaminación en el bosque, con miras a establecer un posible programa de evaluación de riesgos ambientales dentro del Parque Nacional.

La valoración de otros biomarcadores que permitan ver un tipo de presión fisiológica diferente a la que se manifiesta con los utilizados en la presente tesis, así como su valoración en otros tejidos permitirá tener una visión más completa del efecto que tienen los contaminantes sobre los organismos en vida libre.

A manera de complementar estos resultados es importante también realizar trabajos en condiciones controladas de laboratorio con estas mismas especies, exponiéndolas a diferentes contaminantes, para precisar diferencias entre los bioindicadores eliminando la influencia de diversas variables, tales como las condiciones ambientales o de alimentación.

XIII. BIBLIOGRAFÍA.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105:121-130.

Ahmed, M. M., y N. I. Zaki. 2009. Assessment the ameliorative effect of pomegranate and rutin on chlorpyrifos-ethyl-induced oxidative stress in rats. *Nature and Science*. 7(10):49-61.

Albers, P. H., G. Linder and J. D. Nichols. 1990. Effects of tillage practices and carbofuran exposure on small mammals. *Journal of Wildlife Management*. 54(1):135-142.

Albert, L. A. 1990. *Curso Básico de Toxicología Ambiental*. LIMUSA NORIEGA. 2nd ED. Mexico, D. F. 311 pp.

Alves- Amaral, G., M. Pires-Oliveira, A. L. Andrade-Lopes, T. Chiavegatti, R. Oliveira-Godinho. 2008. Gender-related differences in circadian rhythm of rat plasma acetyl- and butyrylcholinesterase: effects of sex hormone withdrawal. *Chemico-Biological Interactions*. doi: 10.1016/j.cbi.2010.04.002.

Badii, M., S. H. Hernández y S. Guerrero. 2009. Efecto de los plaguicidas en pequeños mamíferos. *CULCYT, Ciencia y Tecnología*. 6(30):5-16.

Bainy, A. C. D., E. Saito, P. S. M. Carvalho, V. B. C. Junqueira. 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicology*. 34:151-162.

Baird, C. 2001. Química Ambiental. EDITORIAL REVERTÉ. 1ra. Ed. Barcelona, España. 622 pp.

Banni, M., Z. Bouraoui, J. Ghedira, C. Clerandeu, H. Guerbej, J. F. Narbonne and H. Boussetta. 2009. Acute effects of benzo[a]pyrene on liver phase I and II enzymes, and DNA damage on sea bream *Sparus aurata*. Fish Physiology and Biochemistry. 35:293-299.

Bauer, L. I. De. 1972. Uso de plantas indicadoras de aeropolutos en la Ciudad de México. Agrociencia. 9(D): 139-141.

Bayne, B. L., D. R. Livingstone and M. N. Moore. 1976. A Citochemical and Biochemical Index of Stress in *Mytilus Edulis* L. Marine Pollution Bulletin. 7(12):221-224.

Begon, M, C. R. Townsend y J. L. Harper. 2006. ECOLOGY, from individuals to ecosystems. 4th Edition. Blackwell Publishing. USA.

Behrens, A. and H. Segner. 2005. Cytochrome P4501A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanised area: results of a five-year-study. Environmental Pollution. 136(2):231–242

Bickham, J. W., S. Sandhu, P. D. N. Hebert, L. Chikhi and R. Athwal. 2000. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: Implications for biomonitoring and ecotoxicology. Mutation Reseach. 463:33-51.

Block, E. K., T. E. Lacher, Jr., L. W. Brewer, G. P. Cobb III y R. J. Kendall. 1999. Population responses of *Peromyscus* resident in Iowa cornfields treated with the organophosphorus pesticide COUNTER[®]. *Ecotoxicology*. 8(3):189-200.

Bloom, J. C. y J. T. Brandt. 2008. Toxic responses of the blood. In Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 7th ed. ED. Curtis D. Klaassen. McGraw-Hill. EUA. pp. 455-484.

Bodin, N. T. Burgueot, J. Y. Stanisi Stanisière, G. Bocquené, D. Menard, C. Minier, I. Boutet, A. Amat, Y. Cherel and H. Budzinski. 2004. Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 138(4):411-427.

Boelsterli, U. A. 2003. *Mechanistic Toxicology: The molecular basis of how chemicals disrupt biological targets*. Taylor & Francis Group. 1st ED. New Fetter Lane, London. 314 pp.

Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.

Bradley, R. D., N. D. Durish, D. S. Rogers, J. R. Miller, M. D. Engstrom and C. W. Kilpatrick. 2007. Toward a molecular phylogeny for *Peromyscus*: evidence from mitochondrial cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy*. 88:1146–1159.

Bravo, H. 1987. La contaminación del Aire en México. EDITORIAL FUNDACIÓN UNIVERSO XXI. México, D. F. 296 pp.

Bueno-Brito, C., A. Sánchez-Ramos, A. Armenta-Solís, E. González-Vera. 2005. Contenido de plomo y manganeso en despachadores de gasolina. *Bioquímica*. 30(2): 41-46.

Burger, J., C. Fossi, P. McClellan-Green, E. D. Orlando. 2007. Methodologies, bioindicators, and biomarkers for assessing gender-related differences in wildlife exposed to environmental chemicals. *Environmental Research*. 104:135-152.

Burnham, K. P., D. R. Anderson and J. L. Laake. 1985. Efficiency and bias in strip and line transect sampling. *The journal of Wildlife Management*. 49(4):1012-1018.

Callow, P. and V. E. Forbes. 2003. Does Ecotoxicology Inform, Ecological Risk Assessment?. *Environmental Science and Technology*. 37(7):146-151.

Campoy, F. J., J. Cabezas-Herrera and C. J. Vidal. 1992. Interaction of acetylcholinesterase with *Lens culinaris* agglutinin reveals differences in glycosylation of molecular forms in sarcoplasmic reticulum membrane subfractions. *Journal of Neurosciences Research*. 33:568-578.

Castro-Campillo, M. Martínez-Coronel, U. Aguilera y J. Ramírez-Pulido. 2005. *Peromyscus melanotis* (J. A. Allen y Chapman, 1897). Pp.754-755. In Los mamíferos silvestres de México (ceballos G. y O. Giselle, eds.). CONABIO y Fondo de Cultura Económica. México.

- Castro-Campillo, A., A. Salame-Méndez, J. Vergara-Huerta, A. Castillo y J. Ramírez-Pulido.** 2008. Fluctuaciones de micromamíferos terrestres en bosques templados aledaños a la ciudad de México, Distrito Federal. Pp. 391-410 In: Avances en el Estudio de los Mamíferos de México (Lorenzo, C., E. Espinoza y J. Ortega, eds.). Publicaciones especiales, Vol. II, Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C., México, D. F.
- Chambers, J. E., J. S. Boone, R. L. Carr, H. W. Chambers and D. L. Stratus.** 2002. Biomarkers as predictors in health and ecological risk assessment. Human and Ecological Risk Assessment. 8:165-176.
- Chanda, S. M., S. R. Mortensen, V. C. Moser, and S. Padilla.** 1997. Tissue-Specific effects of chlorpyrifos on carboxylesterase and cholinesterase activity in adult rats: an *in Vitro* and *in Vivo* comparison. Fundamental and Applied Toxicology. 38:148-157
- Chang, M., J. R. Burgess, R. W. Scholz, C. C. Reddy.** 1990. The induction of specific rat liver Glutathione S-Transferase subunits under inadequate selenium nutrition causes an increase in prostaglandin F_{2α} formation. The Journal of Biological Chemistry. 265(10):5418-5423.
- Chatonnet, A., y O. Lockridge.** 1989. Comparison of Butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. Journal of Biochemistry. 260:625-634.
- Chávez-Tovar, J. C., y G. Ceballos.** 2005. *Peromyscus difficilis* (J. A. Allen, 1891). Pp. 729-730. In Los mamíferos silvestres de México (ceballos G. y O. Giselle, eds.). CONABIO y Fondo de Cultura Económica. México.

Çokuğraş, A. N. 2003. Butyrylcholinesterase: structure and Physiological Importance. Turkish Journal of Biochemistry. 28(2):54-61.

Colborn, T., F. S. vom Saal y A. M. Soto. 1993. Developmental Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. Environmental Health Perspectives. 101(5):378-384.

Conti, M. E. and G. Cecchetti. 2001. Biological monitoring: Lichens as bioindicator of air pollution assessment – a review. Environmental Pollution. 114:471-492.

Costa, D. L. 2008. Air pollution. Pp. 1119-1156. In: Toxicology, The Basic Science of Poisons. (Klaassen, C. D., eds). McGraw Hill ED. USA.

Depledge, M. H. and M. C. Fossi. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Ecotoxicology. 3:161-172.

Domouthsidou, G. P., S. Kaloyianni and V. K. Dimitriadis. 2004. Lissosomal membrane stability and metallothionein content in *Mytilus galloprovincialis* (L.) as biomarkers. Combination with trace metals concentrations. Marine Pollution Bulletin. 48:572-586.

Ellman, G. L., K. D. Courtney, V. J. Andres and R. M. Featherstone. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology. 7:88-95.

Fairbrother, A. 1994. Immunotoxicology of captive and wild birds. En R. J. Kendall and T. H. Lacher, Jr. (Eds). Wild Life Toxicology and population modeling, A Special Publication of SETAC, CRC Press, Inc, Florida, 251-261.

Fenn, M. E., L. I. De Bauer, A. Quevedo-Nolasco and C. Rodriguez-Frausto. 1999. Nitrogen and Sulfur deposition and forest nutrient status in the Valley of Mexico. Water, Air and Soil Pollution. 113:155-174.

Fernández-Manchón, E. J. 2002. Receptores farmacológicos. En Farmacología General. Eds. Morrón-Rodríguez, F. J., y M. Levy-Rodríguez. ED Ciencias Médicas, La Habana, Cuba. Pp. 55-99.

Field, J. A., y E. M. Thurman. 1996. Glutathione Conjugation and Contaminant Transformation. Environmental Science & Technology. 30(5):1413-1418.

Fossi, M. C., C. Leonzio and D. B. Peakall. 1994. The use of non Destructive Biomarkers in the Hazard Assessments of Vertebrate Populations. Cap. 1. Pp. 3-34, en Nondestructive Biomarkers in Vertebrates. Eds. M. C. Fossi y C. Leonzio. Lewis Publishers Press, Inc. Boca Raton, Florida.

Frey, P. A., y A. D. Hegeman. 2007. Enzymatic Reaction mechanisms. Oxford University Press. New York. Pp 291-296.

Gabryelak, T., y J. Klekot. 1985. The effect of paraquat on the peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species. Comparative Biochemistry Physiology. 81C:415-418.

García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Copen. Offset Larios. Tercera edición. México, D. F., México.

George, S. G. 1994. Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic-conjugating enzymes in fish. In: Aquatic Toxicology; Molecular, biochemical and Cellular perspectives. (Malins, D. C. Ostrander, G. K. Eds.). Lewis Publishers, CRC press, pp. 37-85.

Gómez-Olivares, J. L. 2000. Propiedades estructurales de las colinesterasas de corazón, eritrocito e hígado de ratones normales y distróficos *Lama2^{dy}*. *TESIS DOCTORAL*. Universidad de Murcia. Murcia, España. 346 pp.

Gómez-Ugalde, R. M. 2003. Efectos de la contaminación atmosférica en poblaciones de pequeños roedores silvestres (*Microtus mexicanus*, *Peromyscus melanotis* y *Peromyscus difficilis*) en México, D. F. *Tesis Doctoral*. Universitat de Barcelona. Barcelona, España. 409 pp.

González-Jáuregui, M. 2008. Relación de concentraciones residuales de una mezcla de plaguicidas organoclorados y policlorobifenilos con la concentración de hormonas sexuales de dos poblaciones de *Crocodylus moreletii*. *Tesis de Maestría*. Instituto de Ecología, A. C. 82pp.

González X. I., J. R. Aboal, J. A. Fernández, A. Carballeira. 2008. Evaluation of some sources of variability in using small mammals as pollution biomonitors. *Chemosphere*. 71:2060-2067.

Grankvist, K., S. L. Marklund y I. B. Täljedal. 1981. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochemistry Journal*. 199:393-398.

Habig, W. H., Pabst M. J. and W. B. Jakoby. 1974. Glutathione S-transferases. *The Journal of Biological Chemistry*. 249:7130-7139.

Hagger, J. A., M. B. Jones, D. R. P. Leonard, R. Owen and T. S. Galloway. 2006. Biomarkers and Integrated Environmental Risk Assessment: Are more questions than answers? *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2(4):312-329.

Handy, R. D., y M. H. Depledge. 1999. Physiological Responses: Their measurement and use as environmental biomarkers in ecotoxicology. *Ecotoxicology*. 8:329-349.

Hodgson E., y P. E. Levi. 2004. Hepatotoxicity. In *A textbook of Modern Toxicology*. 3rd Ed. ED. Ernest Hodgson. Wiley-Interscience. pp. 263-272.

Hoffman, D. J., B. A. Rattner, G. A. Burton Jr., and J. Cairns Jr. 2003. *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers. 755 pp.

ICME. 2000. Metal bioavailability in soil and water. In Persoone, G., LaPoint, T.W. (Eds.), *Proceedings from the International Workshop on Environmental Risk Assessment Methodologies for Metals and Inorganic Metal Compounds*. Montpellier, France. International Council for Metals in the Environment, Ontario, Canada.

INEGI. 2010. Censo de Población y Vivienda. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. www.inegi.org.mx

Jaeschke, H. 2008. Toxic responses of the liver. In Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 7th ed. ED. Curtis D. Klaassen. McGraw-Hill. EUA. pp. 557-582.

Jemec, A., D. Drobne, T. Tišler y K. Sepčić. 2009. Biochemical biomarkers in environmental studies—lessons learn from enzymes catalase, glutathione S-transferase and cholinesterase in two crustacean species. Environmental Science Pollution. Doi: 10.1007/s11356-009-0112-x.

Ji, L. L., F. W. Stratman y H. A. Lardy. 1988. Antioxidant Enzyme Systems in Rat and Skeletal Muscle. Archives of Biochemistry and Biophysics. 263(1):150-160.

Jones, C., W. J. McShea, M. J. Conroy and T. H. Kunz. 1996. Capturing mammals. Chap. 8, pp. 115-155, en *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Mammals* (Wilson, D. E., F. R. Cole, J. D. Nichols, R. Rudran y M. S. Foster, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington, D. C.

Kaplan, J. H. y J. N. Groves. 1972. Liver and blood cell catalase activity of tumor-bearing mice. Cancer Research. 32:1190-1194.

Karam, M. A., G. Ramírez, L. P. Bustamante-Montes y J. M. Galván. 2004. Plaguicidas y salud de la población. Ciencia *Ergo Sum*. 1(11): 246-254.

Klaassens, C. D. 2008. Toxicology: The basic science of poisons. McGraw Hill. 7th Ed. EUA.

Koizumi, A., R. Weindruch y R. L. Walford. 1987. Influences of dietary restriction and age on liver enzyme activities and lipid peroxidation in mice. The Journal of Nutrition. Doi:0022-3166.

Landmesser, L. 1972. Pharmacological properties, cholinesterase activity and anatomy of nerve-muscle junctions in vagus-innervated frog Sartorius. Journal of Physiology. 220:243-256.

Lopes, P. A., A. M. Viegas-Crespo, A. C. Nunes, T. Pinheiro, C. Marques, M. C. Santos y M. L. Matthias. 2001. Influence of age, and sexual activity on trace elements levels and antioxidant enzyme activities in field mice (*Apodemus sylvaticus* and *Mus spretus*). Biological Trace Elements Research. 85:227-239.

Lowry, H. O., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193:265-275.

Magnotti Jr., R. A., K. Dowling, J. P. Eberly y R. S. McConnell. 1988. Field measurement of plasma and erythrocyte cholinesterases. Clinica Chimica Acta. 315: 315-332.

Massoulié, J., N. Perrier, H. Noureddine, D. Liang, S. Bon. 2008. Old and new questions about cholinesterases. Chemico-Biological Interactions. 175:30-44.

Mayer, F. L., D. J. Versteeg, M. J. McKee, L. C. Folmar, F. L. Graney, D. C. McCume and B. A. Rattner. 1992. Physiological and nonspecific biomarkers. En: Bergman HL, editor. Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton (FL): Lewis. p 5–85.

Mertens, J., S. Luyssaert, P. Verbeeren, N. Vervaeke. 2001. Cd and Zn concentrations in small mammals and willow leaves on disposal facilities for dredged material. *Environmental Pollution*. 115: 17–22.

Minic, J., A. Chatonnet, E. Krejci y J. Molgó. 2003. Butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase activity and quantal transmitter release at normal and acetylcholinesterase knockout mouse neuromuscular junctions. *British Journal of Pharmacology*. 138:177-187.

Morgenstern R., G. Lundqvist, G. Anderson, L. Balk y J. W. De Pierre. 1984. The distribution of microsomal glutathione transferase among different organelles, different organs, and different organisms, *Biochemical Pharmacology*. 33(22): 3609–3614.

Munguía-Castro, M. E., y J. Pérez-Neria. 2003. La contaminación atmosférica en el sur de la Zona Metropolitana del Valle de México. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. 16(1): 48-53.

McCarthy and L. R. Shugart (eds.). 1990. Biomarkers of environmental contamination, Lewis Publ., Boca Raton.

Niemy, G. J. and M. E. McDonald. 2004. Application of Ecological Indicators. Annual Review of Ecology and Systematics. 35:89–111.

Norma Oficial Mexicana-020-SSA1. 1993. Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al ozono (O₃) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México, D. F. NOM-020-SSA1-1993.

Norma Oficial Mexicana-021-SSA1. 1993. Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al monóxido de carbono (CO) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México, D. F. NOM-021-SSA1-1993.

Norma Oficial Mexicana-022-SSA1. 1993. Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al bióxido de azufre (SO₂) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México, D. F. NOM-022-SSA1-1993.

Norma Oficial Mexicana-023-SSA1. 1993. Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al bióxido de nitrógeno (NO₂) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México, D. F. NOM-023-SSA1-1993.

Norma Oficial Mexicana-025-SSA1. 1993. Salud Ambiental: criterio para evaluar la calidad del aire ambiental, con respecto al material particulado en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. México, D. F. NOM-025-SSA1-1993.

Olson, L. J., R. D. Hinsdill. 1984. Influence of feeding chlorocholine chloride and glyphosine on selected immune parameters in deer mice, *peromyscus maniculatus*. *Toxicology*. 30(2): 103-114.

OMS. 2009. Organización Mundial de la Salud. www.oms.org

Payne, J. F. 1977. Mixed Function Oxidases in Marine Organisms to Petroleum Hydrocarbon Metabolism and Detection. *Marine Pollution Bulletin*. 8(5):112-116.

Paoletti, M. G. 1999. Using Bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74:1-18.

P.C.M.D.L. 2006. Programa de Conservación y Manejo Parque Nacional Desierto de los Leones. CONANPSEMARNAT. 1 Ed. Mexico. D. F. 170 pp.

Peakall, D. B. 1976. Effects of Toxaphene on Hepatic Enzyme Induction and Circulating Steroid Levels in the Rat. *Environmental Health Perspectives*. 13:117-120.

Peebua, P. 2005. Ecotoxicological assessment of pesticides and heavy metals in tilapia (*Oreochromis niloticus*). TESIS DOCTORAL. Mihadol University.

Perelmal, P., E. Martinez-Carretero, G. Moreno, M. A. Castro and A. Faggi. 2007. El uso de la corteza de mora (*Morus alba*) como biomonitor para detectar contaminación en la Ciudad de Mendoza. *HOLOGRAMÁTICA- Facultad de Ciencias Sociales- UNLZ*. 7:205-214.

Pérez-Suárez, M., M. E. Fenn, V. M. Cetina-Alcalá and A. Aldrete. 2008. The effects of canopy cover on throughfall and soil chemistry in two forest sites in the Mexico City air basin. *Atmósfera* 21(1): 83-100.

Rattner, B. A., and D. J. Hoffman. 1984. Comparative toxicity of acephate in laboratory mice, white-footed mice, and meadow voles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 13:483-491.

Reigart, J. R., y J. R. Roberts. 1999. Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas. Stretton Associates, Inc. 5th Ed. 253 pp.

Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. LIMUSA, México.

Saavedra-Romero, L. L., D. Alvarado-Rosales, J. Vargas Hernández y T. Hernández-Tejeda. 2003. Análisis de la precipitación pluvial en bosques de *Abies religiosa* (HBK) SCHLTDL. et Cham., en el sur de la Ciudad de México. *Agrociencia*. 37:57-64.

Salame-Méndez, A., F. Méndez de la Cruz, G. Aguirre-León y H. Serrano. 2008. Disrupción endocrina de la diferenciación sexual. *ContactoS* 70(oct-nov):43-49.

Schrader, M., y H. D. Fahimi. 2006. Peroxisomes and oxidative stress. *Biochemica et Biophysica Acta*. Doi:10.1016/j.bbamcr.2006.09.006.

Sarkar, A., D. Ray, A. N. Shrivastava and S. Sarker. 2006. Molecular Biomarkers: Their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*. 15:333-340.

Smith, P. N., G. P. Cobb, F. M. Harper, B. M. Adair y S. T. McMurry. 2002. Comparison of white-footed mice and rice rats as biomonitors of polychlorinated biphenyl and metal contamination. *Environmental Pollution*. 119:261-268.

Smith, P. N., G. P. Cobb, C. Godard-Codding, D. Hoff, S. T. McMurry, T. R. Rainwater, K. D. Reynolds. 2007. Contaminant Exposure in Terrestrial Vertebrates. *Environmental Pollution*. 150:41-64.

S.M.A. 2006a. Secretaría del Medio Ambiente. Informe Climatológico Ambiental del Valle de México. México, D. F. 211 pp.

S.M.A. 2006b. Secretaría del Medio Ambiente. La calidad del aire en la Zona Metropolitana del Valle de México, 1986-2005. Mexico, D. F. 86 pp.

S.M.A. 2008. Secretaría del Medio Ambiente. La calidad del aire en la Zona Metropolitana del Valle de México, 2008. Mexico, D. F. 147 pp.

Storey, K. B. 1996. Oxidative stress: Animal Adaptations in Nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 29:1715-1733.

Sullivan, T. P., C. Novotny, R. A. Lautenschlager and R. G. Wagner. 1998. Silvicultural use of herbicide in sub-boreal spruce forest: Implications for small mammal population dynamics. *Journal of Wildlife Management*. 62(4):1196-1206.

Suter, G. W. II. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. USA. 538pp.

Tanabe, S. 2002. Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds. *Marine Pollution Bulletin*. 45:69-77.

Tataruch F., H. Kierdorf. 2003. Mammals as biomonitors. In *Bioindicators and Biomonitors*. Eds., B.A. Markert, A. M. Breure, H. G. Zechmeister. Elsevier Science Ltd. Pags. 737-772.

Tian, L., Q. Cai y H. Wei. 1998. Alterations of antioxidants enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology & Medicine*. 24(9):1477-1484.

Timur, S., S. Önal, N. Ü. Karabay, F. Sayim, F. Zihnioğlu. 2003. In vivo effects of malathion on glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase activities in tissues of neonatal rats.

UNEP. 2010. United Nations Environment Programme. www.unep.org

Vallejo, M., K. Jáuregui-Renaud, A. G. Hermosillo, M. F. Márquez, M. Cárdenas. 2003. Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la Ciudad de México. *Gaceta Médica de México*. 139(1):57-63.

van der Oost, R., J. Beber and N. P. E. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13: 57-149.

Van Lith, H. A., L. F. M. Van Zutphen y A. C. Beynen. 1991. Butyrylcholinesterase activity in plasma of rats and rabbits fed high-fat diets. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 98(2):339-342.

Vázquez, B. E., M. P. Maldonado, O. F. Videgaray, S. F. Moreno. 2002. Intoxicación por plomo. Reporte de un caso y revisión de la literatura. Anales Médicos de la Asociación Médica de hospitales ABC.47: 33-37.

Vergara-Huerta, J. 2009. Evaluación de indicadores del metabolismo intermediario en dos especies de *Peromyscus* que cohabitan en un bosque templado. Tesis de Maestría. UAM-I, México. 81 pp.

Walker, C. H., S. P. Hopkin, R. M. Sibly and D. B. Peakall. 2001 Principles of Ecotoxicology. Taylor and Francis, Publishers. 2nd ed. USA. 309pp.

Wania, F. y D. Mackay. 1996. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. Environmental Science and Technology. 30(9):390-396.

Wark, K., C. F. Warner y W. T. Davis. 1998. AIR POLLUTION: Its origin and control. Addison Wesley Longman, Inc. 3rd ed. USA. 573pp.

Westlake, G. E., A. D. Martin, P. I. Stanley & C. H. Walker. 1983. Control enzyme levels in the plasma brain and liver from wild birds and mammals in Britain. Comparative Biochemistry and Physiology. 76C:15-24.

Winston, G. W., R. T. Di Giulio. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organism. Aquatic Toxicology. 19: 137-161.

WHO. 2009. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. World Health Organization.

Xie, W., J. A. Stribley, A. Chatonnet, P. J. Wilder, A. Rizzino, R. D. McComb, P. Taylor, S. H. Hinrichs y O. Lockridge. 2000. Postnatal developmental delay and supersensitive to organophosphate in Gene-targeted mice lacking acetylcholinesterase. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 293(3):896-902.

Zar, J. H. 2007. *BIOSTATISTICAL ANALYSIS*. *Prentice-Hall, Inc.* U.S.A. 5^a Edición. 662 pp.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00063

Matricula: 20832717

EVALUACION DEL EFECTO DE LA CONTAMINACION ATMOSFERICA EN DOS ESPECIES DEL GENERO Peromyscus (RODENTIA: MURIDAE) QUE COHABITAN EN EL PARQUE NACIONAL DESIERTO DE LOS LEONES

En México, D.F., se presentaron a las 11:00 horas del día 25 del mes de mayo del año 2011 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. AURORA ALONDRA CASTRO CAMPILLO
DR. HECTOR FERNANDO SERRANO
DRA. ROSA MARIA GÓMEZ UGALDE
DR. JOSÉ LUIS GÓMEZ OLIVARES



MOISES ANDRADE HERRERA
ALUMNO

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:

MAESTRO EN BIOLOGIA

DE: MOISES ANDRADE HERRERA

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 al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

LIC. JULIO CÉSAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. RUBEN ROMAN RAMOS

PRESIDENTA

DRA. AURORA ALONDRA CASTRO
CAMPILLO

VOCAL

DR. HECTOR FERNANDO SERRANO

VOCAL

DRA. ROSA MARIA GÓMEZ UGALDE

SECRETARIO

DR. JOSÉ LUIS GÓMEZ OLIVARES