

Evaluación ecotoxicológica en organismos acuáticos de la Laguna de Yuriria (Guanajuato)

Ecotoxicological evaluation in aquatic organisms of the Yuriria Lagoon (Guanajuato)

Nayeli L. Cortés Acevedo¹, Ximena D. Hernández Muñoz¹, Teresa V. Jiménez Martín¹, María Fernanda Ramírez Manjarrez², César A. Ilizaliturri-Hernández³, Diana O. Rocha Amador¹, Omar Cruz Santiago*²

¹Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

²Licenciatura en Ingeniería Ambiental, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato

³Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

*o.cruz@ugto.mx³

Resumen

En este estudio se realizó la determinación de biomarcadores ecotoxicológicos en peces de la especie *Oreochromis mossambicus* (tilapia negra) de la Laguna de Yuriria. Los peces fueron colectados en junio de 2024, junto a peces de una granja (ambiente controlado). En el plasma de estos se determinó la actividad de butirilcolinesterasa (neurotoxicidad) y glutatión s-transferasa (biotransformación de xenobióticos o estrés oxidativo), y en el cerebro se determinó la actividad de acetilcolinesterasa (neurotoxicidad), concentración de malondialdehído (peroxidación lipídica, estrés oxidativo) y la presencia de especies reactivas de oxígeno (estrés oxidativo) mediante espectrofotometría UV-Visible y fluorescencia. Los resultados obtenidos demostraron alteración en la actividad butirilcolinesterasa plasmática y acetilcolinesterasa cerebral de los peces de la Laguna. Así mismo, se encontró un mayor estrés oxidativo en muestras cerebrales de los organismos de la Laguna. Estas alteraciones pueden estar relacionados a una exposición de los peces a diferentes contaminantes producto de las actividades humanas que se desarrollan alrededor de la Laguna de Yuriria. Por ende, es fundamental desarrollar estrategias integrales para abordar las fuentes de contaminación y restaurar la calidad del agua de la laguna, garantizando así la conservación de este importante ecosistema.

Palabras clave: Biomarcadores, Contaminación, Efectos, Peces.

Introducción

La Ecotoxicología es una rama de la ciencia que integra conocimientos de la toxicología, ecología y la química ambiental, encargada de estudiar los efectos tóxicos provocados por contaminantes de origen natural o sintéticos, sobre los componentes de los ecosistemas (principalmente organismos silvestres) a través de las vías de transporte que influyen en su difusión (suelo, aire, agua, etc.) (Valeria-Amé, 2021). Esta disciplina nos permite comprender los efectos directos e indirectos causados por cualquier agente contaminante físico, químico o biológico, generalmente producido por la actividad humana. Ayudándonos así a identificar los contaminantes que representan un mayor riesgo en la salud de los organismos, con el propósito de desarrollar estrategias para prevenir, controlar o remediar estos efectos (Ochoa, 2008).

La descarga de diversos contaminantes en el ambiente acuático por la agricultura, la industria, transporte o turismo ocasiona una compleja mezcla de contaminantes que pueden tener efectos negativos en la fauna acuática y humanos. La ecotoxicología acuática se especializa en el estudio de los efectos de los contaminantes que ingresan a los ecosistemas acuáticos (océanos, ríos y lagos), pues permite evaluar el impacto en la salud de los organismos y los ecosistemas que dependen de ellos (Huerta et al., 2022).

En estudios ecotoxicológicos es común utilizar organismos vivos, para evaluar la calidad o situación del ecosistema, conocidos como bioindicadores. Estos son organismos sensibles a la presencia de contaminantes pues presentan cambios medibles en su fisiología, comportamiento o bioquímica en respuesta a la exposición. (Herzka et al., 2019). Ejemplos comunes de bioindicadores acuáticos incluyen ciertas especies de algas, peces y algunos invertebrados (Mohammad et al., 2005).

Por otra parte, los biomarcadores son medidas específicas de cambios biológicos a nivel molecular, celular o de organismo completo que pueden indicar la exposición a contaminantes o sus efectos nocivos. En ecotoxicología acuática se utilizan para evaluar la salud de organismos individuales y poblaciones expuestas a contaminantes en el agua, donde estos pueden mostrar cambios inducidos por la exposición al contaminante, como alteraciones enzimáticas (neurotoxicidad), estrés oxidativo (cambios en el sistema antioxidante) o incluso daño al ADN (Herzka et al, 2020).

Los peces habitan en gran variedad de ambientes acuáticos, por lo que esta amplia distribución y los conocimientos existentes sobre este organismo, los convierte en buenos bioindicadores. Más aún, su capacidad de acumulación de sustancias tóxicas y sensibilidad a bajas concentraciones de diversos contaminantes, incluyendo metales pesados, plaguicidas, hidrocarburos y compuestos orgánicos volátiles, los hacen organismos ideales para ser utilizados en estudios ecotoxicológicos (Herzka et al, 2020). Evaluar distintos biomarcadores en peces nos ofrece un panorama más completo de su respuesta al medio, si los indicadores presentan valores fuera de lo normal en los cambios a nivel bioquímico, molecular, inmunológico o estructural, es señal de que se encuentran bajo estresores ambientales que ponen en peligro su homeostasis (Valeria-Amé, 2021).

La Laguna de Yuriria, construida hace 500 años, es una obra maestra de la ingeniería mexicana. Desviando el Río Lerma, se convirtió en la primera cuenca artificial de América Latina, irrigando campos agrícolas durante siglos. Más allá de su valor histórico, la laguna es crucial para el equilibrio ambiental regional. Regula el clima, modera temperaturas y controla inundaciones del Río Lerma (IPLANEG, 2022). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) designó a la Laguna de Yuriria como Área de Importancia para la Conservación de las Aves (AICAS) en 1999. Posteriormente, en el año 2004, fue declarada Sitio RAMSAR, reconociéndola como un Humedal de Importancia Internacional (SMAOT, 2022a). Aún con todos los beneficios que ofrece la Laguna de Yuriria, este ecosistema México enfrenta serias amenazas por la actividad humana. La descarga de aguas residuales sin tratamiento y el uso excesivo de agroquímicos en la agricultura contaminan el agua de este embalse, poniendo en riesgo la salud humana, la biodiversidad y la economía local. Es crucial realizar estudios ecotoxicológicos para comprender los impactos y establecer medidas urgentes para proteger este tesoro natural.

De acuerdo con lo anterior, un estudio ecotoxicológico, resulta competente para desarrollar estrategias de conservación para las especies que habitan en la laguna y finalmente proporcionar información científica valiosa para la toma de decisiones en materia de gestión ambiental, así como identificar las áreas prioritarias de intervención, establecer objetivos de calidad del agua y desarrollar planes de acción efectivos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar una evaluación ecotoxicológica en peces de la Laguna de Yuriria, utilizando biomarcadores para conocer si estos se encuentran expuestos a contaminantes.

Materiales y métodos

Sitio de muestreo

La Laguna de Yuriria se encuentra en las coordenadas 20°14'51"N y 101°08'58"O en los municipios de Yuriria y La Angostura del estado de Guanajuato (Fig. 1).

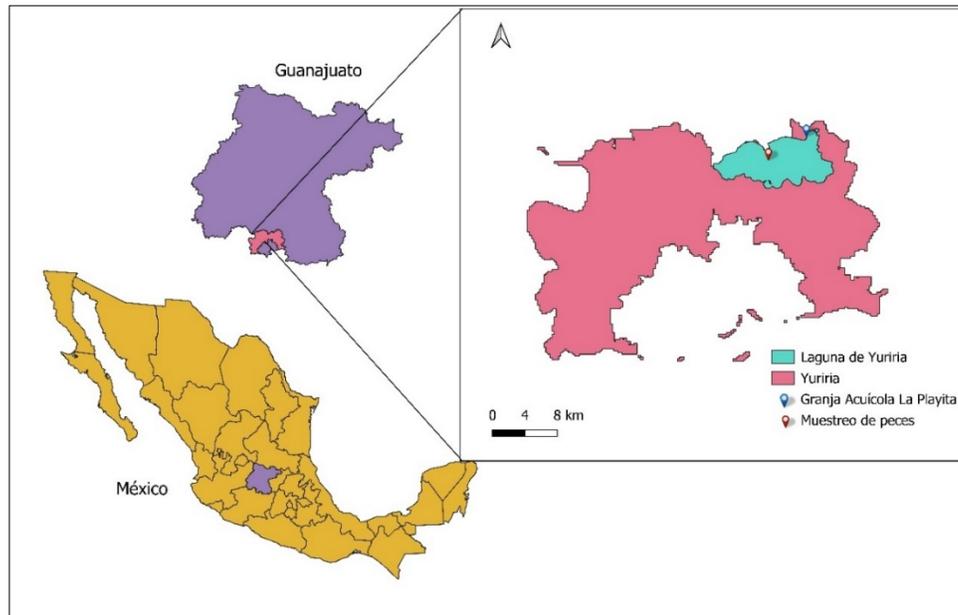


Figura 1. Localización del sitio de la Laguna de Yuriria en México y los puntos de muestreo

Colecta de organismos

Actualmente, sobre la fauna acuática del embalse se reportan peces tales como Tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*), carpa (*Cyprinus carpio*), carpa dorada (*Carassius auratus*), carpa hervibora (*Ctenopharyngodon idella*), carpa blanca (*Yuriria alta*), charal (*Chirostoma jordani*). Se registran endemismos de peces *Allophorus robustus*, *Chirostoma bartoni*, *Goodea atripinnis*, *Notropis calientis* (SMAOT, 2022b). Para este estudio se utilizaron peces de la especie *O. mossambicus* (Tilapia negra).

Tabla 1. Coordenadas de los puntos de muestreo (UTM)

Punto	Zona	Este	Norte
Laguna	14Q	0276286	2241402
Granja	14Q	0281158	2243943

El muestreo se realizó en junio de 2024, cabe señalar que los organismos se obtuvieron de solo una zona dentro del humedal debido al extremo estiaje que este experimento en el presente año. Adicionalmente, se obtuvieron organismos de una granja acuicola "La Playita", cercana al humedal (Tabla 1).

En la Laguna Yuriria se colectaron 12 tilapias con un tamaño aproximado de 13 a 16 cm de largo, y un peso aproximado de 150-200 g. De la granja también se obtuvieron 12 tilapias, con un tamaño aproximado de 20

a 25 cm y un peso aproximado de 200-300 g. A cada pez se le extrajo una muestra de sangre por punción cardíaca. Después, se diseccionó a los peces para obtener cerebro.

A las muestras de sangre se les determinó la hemoglobina y el hematocrito, posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm por 10 min para la obtención de plasma. El plasma y cerebro fueron colocados en criotubos y almacenados en nitrógeno líquido. Las muestras se transportaron en un tanque de N₂ al laboratorio, donde se colocaron a -80°C hasta su utilización en la determinación de biomarcadores.

La determinación de hemoglobina se realizó por la técnica de microcuvetas reactivas Hemocue Hb 201 con el analizador Hemocue Hb 201+®. La determinación de hematocrito se realizó con tubos capilares mediante micrométodo. Ambas determinaciones se realizaron por duplicado.

Determinación de biomarcadores en plasma

Butirilcolinesterasa (BChE)

La determinación de la actividad de la butirilcolinesterasa (BChE) en plasma se realizó mediante el método colorimétrico de Ellman et al. (1961), modificado por Gagné (2014) para microplacas de 96 pocillos. Las muestras se diluyeron previamente con buffer TRIS-CaCl₂. La mezcla de reacción consistió en añadir 50 µL de la muestra, 100 µL de DTNB (ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico) a 0.25 mM y 100 µL de BCTI (ioduro de butiriltiocolina) a 0.5 mM. La reacción cinética se midió a una longitud de onda de 410 nm en un lector de microplacas UV-Visible (Biotek Synergy H1®) durante 10 minutos, con intervalos de 1 minuto, a una temperatura de 30°C. La actividad de BChE plasmática se calculó utilizando el factor de extinción molar de DTNB para microplacas de 96 pocillos (9900 M x min⁻¹ x cm⁻¹), reportándose como µM de actividad de BChE x min x mL de plasma. Cada muestra se analizó por duplicado.

Glutación S-transferasa

Para la determinación de la actividad del glutación S-transferasa (GST) en plasma se utilizó la metodología propuesta por Habig et al. (1974) y Habdous et al. (2002) modificada por Gagné (2014) para microplacas de 96 pocillos. Las muestras de plasma se diluyeron previamente con Buffer NaCl-HEPES-NaOH. La mezcla de reacción consistió en 50 µL de plasma diluido, 100 µL de CDNB (1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno) a 6.25 mM y 100 µL de GSH (Glutación reducido) a 12.5 mM. La reacción cinética se midió a una longitud de onda de 340 nm en un lector de microplacas UV-Visible (Biotek Synergy H1®) durante 10 minutos, con intervalos de medición de 1 minuto. La actividad de GST plasmática fue obtenida usando el factor de extinción molar para microplaca de 96 pocillos (6.6 mM x min⁻¹ x cm⁻¹) reportándose como µM de actividad de GST x min x mL de plasma. Cada muestra se analizó por duplicado.

Determinación de biomarcadores en tejido cerebral

Antes de determinar los biomarcadores en las muestras de tejido cerebral se realizó la homogenización del tejido. La homogenización de los cerebros se realizó con un buffer que contenía NaCl 149 mM, EDTA 1 mM, Buffer Tris-Base 10 mM y aprotinina 10 ppm. La homogeneización se realizó con respecto al peso de la muestra de tejido en una relación 1:4. Los cerebros fueron homogeneizados en un homogenizador de perlas (BeadRuptor Elite Omni International®) con perlas de cerámica. Posteriormente, los cerebros homogenizados fueron centrifugados a 15,000 g a 4°C durante 20 minutos para la obtención del sobrenadante cerebral (S15). Antes de la realización de la determinación de los biomarcadores, a los S15 se les determinaron las proteínas

con el kit de Ensayo de Proteínas BCA Pierce™ (Thermo Fisher Scientific® 23225). Posteriormente, los S15 fueron preservados a -80°C hasta la determinación de biomarcadores.

Acetilcolinesterasa (AChE)

La determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) en sobrenadante s15 cerebral se realizó mediante el método colorimétrico de Ellman et al. (1961), modificado por Gagné (2014) para microplacas de 96 pocillos. stock yoduro de acetilcolina 0.5 mM, stock DTNB 0.25 mM. Previo a la determinación de AChE, se realizó una dilución de las muestras con buffer TRIS- CaCl_2 . La mezcla de reacción consistió en añadir 50 μL de la muestra, 100 μL de DTNB a 0.25 mM y 100 μL de ACTI (yoduro de acetiltiocolina) a 0.5 mM. La reacción cinética fue medida a una longitud de onda de 410 nm en lector de microplaca UV Visible (Biotek Synergy H1®) durante 10 min en intervalos de 1 min. La actividad de AChE cerebral fue obtenida usando el factor de extinción molar para microplaca de 96 pocillos ($9900 \text{ M} \times \text{min}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$), reportándose como μM de actividad de AChE $\times \text{min} \times \text{mg}$ proteínas. Cada muestra fue determinada por duplicado.

Especies reactivas de oxígeno (ROS)

La determinación de ROS en muestras cerebrales fue realizada mediante el método de Zhao et al. (2013). Para la determinación se preparó un blanco con PBS (buffer fosfato salino) y solución de diacetato de diclorofluorescencia (10 mg/mL, DCFH-DA); un estándar de H_2O_2 15.6 mM, con PBS y la solución DCFH-DA; y s15 con PBS y solución DCFH-DA. Todas las muestras preparadas en tubos eppendorf fueron homogeneizadas en vórtex y se incubaron a 37°C durante 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 15,000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente. En una microplaca de 96 pocillos, se agregó 150 μL de sobrenadante (blanco, estándar y muestra). La intensidad de fluorescencia fue medida a una excitación de 485 nm y una emisión de 530 nm (Biotek Synergy H1®). La presencia de ROS en tejido cerebral fue obtenida usando las unidades relativas de fluorescencia emitidas (RFU), y fueron reportadas como RFU $\times \text{mg}$ de proteína.

Peroxidación lipídica medida como Malondialdehído (MDA)

La determinación de MDA se llevó a cabo empleando el método basado en la metodología de Esterbauer y Cheeseman (1990) y Lushchack et al. (2005). Primeramente, 100 μL de s15 fueron mezclados 200 μL de ácido tricloroacético (TCA, 6.1 N, 30%) en vórtex y centrifugados a 10,000 rpm por 10 minutos. Después, 200 μL del sobrenadante, obtenido en la centrifugación, se mezclaron con 200 μL de ácido tiobarbitúrico (TBA-HCl, 0.67%). Esta mezcla se incubó en baño maría seco por 15 minutos a 100°C . Finalizado el tiempo, la mezcla se dejó se dejaron enfriar en baño de hielo por 10 min. En una microplaca de 96 pocillos se colocaron 150 μL de mezcla por duplicado (muestras s15). La coloración fue medida a una longitud de onda de 532 nm en un lector de microplacas UV Visible (Biotek Synergy H1®). La concentración de MDA fue obtenida usando el factor de extinción molar ($155 \text{ mM} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$), reportándose como nM de MDA por mg de proteína.

Análisis estadístico

La media y la desviación estándar fueron utilizados para reportar los datos de los biomarcadores obtenidos en plasma y tejido cerebral de los peces. Antes del análisis de comparación de los datos obtenidos, se

realizaron pruebas de normalidad. Dado que los datos no siguieron una distribución normal, se realizaron pruebas no paramétricas para el análisis de estos.

Para la comparación de los peces por sitio de muestreo se utilizó la Prueba U de Mann Whitney con un valor de significancia al 5%. Tanto el análisis estadístico como las gráficas que representan los resultados obtenidos se utilizó el software GraphPad Prism versión 9.0.0 para Windows (GraphPad Software, Estados Unidos).

Resultados y discusión

La actividad de AChE en cerebro fue menor en los peces de la Granja ($19.54 \pm 3.128 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mg}$ de proteína) en comparación con la obtenida por los peces de la Laguna ($35.45 \pm 15.29 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mg}$ de proteína). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($U\text{-MW}_{12,12}=12.0$, $p=0.0002$, Fig. 2 A).

Por otro lado, la actividad de BChE en plasma resultó comportarse de manera contraria a la actividad de AChE, siendo mayor en los peces de Granja ($305.3 \pm 159.57 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mL}$ de plasma) y menor en los peces de la Laguna ($75.19 \pm 50.89 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mL}$ de plasma). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($U\text{-MW}_{12,10}=6.0$, $p=0.0003$, Figura 2 B).

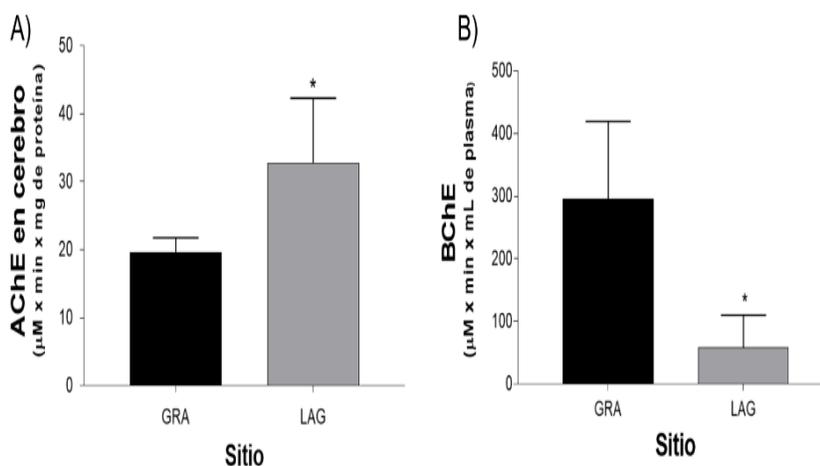


Figura 2. Actividad enzimática de AChE (A) en tejido cerebral y BChE en plasma *O. mossambicus* (GRA=Granja; LAG=Laguna), se presenta la media \pm desv. Estándar, * $p < 0.05$

La AChE es una enzima que se encuentra en la sinapsis, actúa como principal descomponedor de la acetilcolina (ACh), la cual es un neurotransmisor crucial que funge como mensajero en el sistema nervioso central y periférico (Sánchez et al., 2008). La actividad enzimática de AChE en cerebro, es utilizada comúnmente como un biomarcador de neurotoxicidad por una exposición a plaguicidas organofosforados (OP) y carbamatos (CB), ya que estos inhiben la actividad de AChE provocando disturbios en el sistema nervioso (Bautista, 2001). En este trabajo se encontró una menor actividad de AChE cerebral en los organismos de la Granja. Aunque esto podría evidenciar la presencia de plaguicidas cerca de la Granja, algunos estudios evidencian que el tamaño de los peces puede influir en la actividad de AChE, Dado que los

peces de granja eran de mayor tamaño, la disminución de AChE se podría adjudicar a esta diferencia. En diversos estudios, como el de Albedín et al. (2021), se menciona que en estos casos es mejor reemplazar la AChE por la BChE como biomarcador de exposición a plaguicidas en peces, debido a que este último es más sensible como biomarcador y no depende del tamaño del organismo.

Por su parte, la butirilcolinesterasa (BChE) se encuentra principalmente en hígado, plasma y músculo liso. Es una de las principales enzimas detoxificantes capaces de eliminar una amplia gama de compuestos xenobióticos (Días et al., 2011), por lo que la disminución de su actividad debida a la inhibición de la enzima implica un aumento en la toxicidad por estos compuestos. Chuiko et al. (2002) mencionan que la diferencia en las actividades de ChE entre peces podría deberse a su inhibición por OP y CB, causada por la contaminación del medio acuático.

Comparando los resultados obtenidos de BChE frente a los de AChE, se obtuvo una disminución significativa de BChE en los peces que se encontraban en la laguna. No se ha demostrado que este biomarcador es dependiente del peso o la talla del organismo como pasa con AChE. Como se observa en la Fig. 2 B, hay una diferencia notable entre la actividad enzimática de BChE plasmática entre los peces de Granja y los peces de Laguna. Esto podría sugerir la presencia de OP o CB en el agua de la Laguna. Estudios como el de Sánchez-Hernández (2003) evidencian que los organismos sometidos a diversas concentraciones de OP y CB presentan una disminución de BChE significativa en contraste con organismos de referencia. Por lo cual, los resultados de BChE podrían señalar el riesgo al que se enfrenta la fauna acuática en la laguna de Yuriria, pues estudios en este cuerpo de agua, señalan la contaminación química y biológica debido a actividades antropogénicas y uso de plaguicidas en cultivos agrícolas aledaños (González, 2021).

La actividad de GST en plasma fue mayor en los peces de la Granja ($58.32 \pm 24.24 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mL}$ de plasma) en comparación con la obtenida por los peces de la Laguna ($38.48 \pm 29.98 \mu\text{M} \times \text{min} \times \text{mL}$ de plasma). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($U\text{-MW}_{10,11} = 15.50$, $p = 0.0039$ Fig. 3).

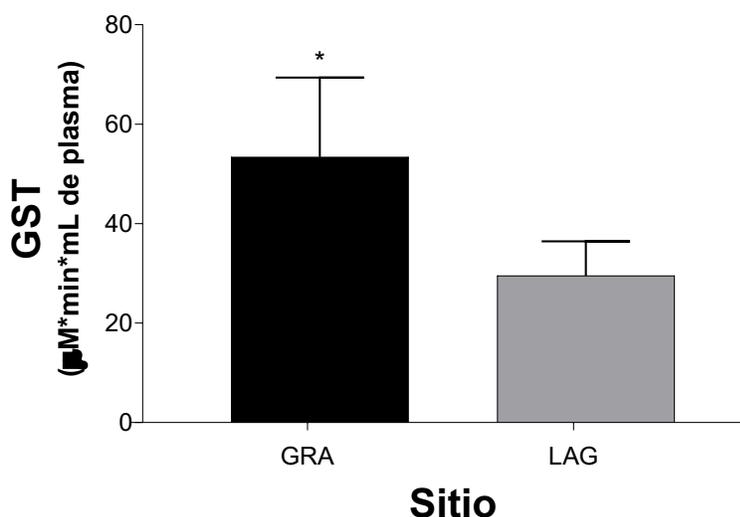


Figura 3. Actividad GST en plasma de *O. mossambicus* (GRA= Granja, LAG= Laguna), se presenta la media \pm desv. Estándar, * $p < 0.05$.

La actividad de Glutación S-Transferasa (GST) ha sido propuesta como un biomarcador de susceptibilidad a la presencia de xenobióticos potencialmente perjudiciales en los organismos acuáticos, y en ocasiones como biomarcador de estrés oxidativo. La GSTs, son una familia de enzimas de la fase II de biotransformación. En

peces se ha reportado su función catalizadora de reacciones de conjugación del GSH a xenobióticos electrofílicos y la reducción de hidroperóxidos (Ochoa y González, 2008). Las diferentes enzimas de GST se han considerado clásicamente como parte de la defensa celular contra numerosos productos químicos nocivos como los contaminantes (Strange et al., 2001).

Aunque en este trabajo se encontró una menor actividad de GST en los organismos de la Laguna en comparación con los de la Granja, algunos estudios nos indican que existe esta disminución debido a un fracaso en el proceso de desintoxicación y por el desarrollo y aumento de estrés oxidativo por la exposición no solo a plaguicidas sino a otros contaminantes (Srikanth et al. 2013; Samanta et al. 2014). Esto último, sobre el estrés oxidativo es congruente con los niveles de ROS y MDA encontrados en los peces de la Laguna (Fig. 4 A y B). Además, de que existe evidencia del ingreso de contaminantes diferentes a los plaguicidas, producto de las diferentes actividades humanas que se desarrollan alrededor de la Laguna (SMAOT. 2022a).

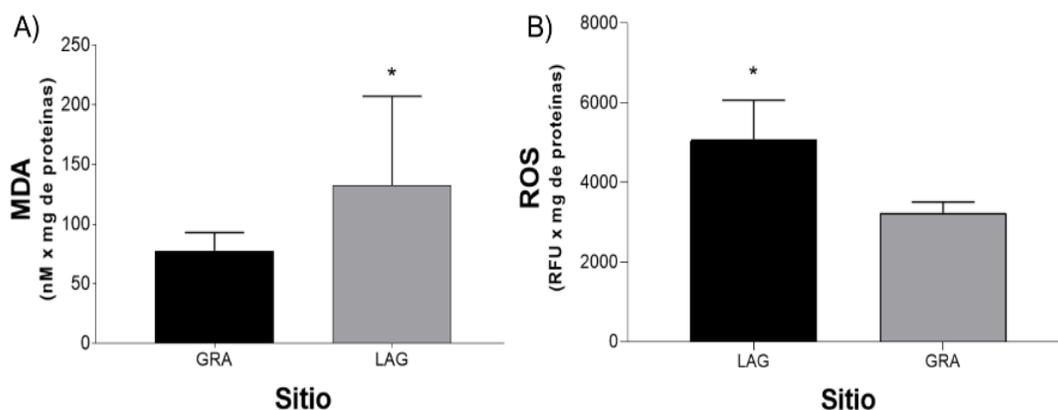


Figura 4. Concentración de MDA (A) y presencia de ROS (B) en tejido cerebral de *O. mossambicus* (GRA= Granja n=12, LAG= Laguna n=12), se presenta la media \pm desv. Estándar, * $p < 0.05$.

La concentración de MDA fue mayor en el cerebro de los peces de la Laguna (132.6 ± 74.60 nM x mg de proteína) en comparación con la obtenida en los de la Granja (77.68 ± 15.33 nM x mg de proteína). Esta diferencia fue estadísticamente significativa (U-MW_{12,12}=25.0, $p=0.0056$, Fig. 4 A). Por otra parte, la presencia de ROS fue mayor en los peces de la Laguna (5090 ± 1822.303 RFU x mg de proteína) en comparación con la obtenida por los peces de Granja (3239 ± 478.994 RFU x mg de proteína). Esta diferencia también fue estadísticamente significativa (U-MW_{12,10}=12.0, $p=0.0008$, Fig. 4 B).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), son principalmente moléculas de señalización que se forman en pequeñas cantidades durante procesos celulares, como la respiración aeróbica o procesos inflamatorios, e inducen al envejecimiento por la diferenciación celular y la apoptosis (Jakubczyk et al., 2020). El exceso de ROS puede alterar las funciones celulares normales y promover daños irreversibles a lípidos (peroxidación), ácidos nucleicos (cambios en el ADN) y proteínas celulares (agregación, desnaturalización). Lo anterior puede ocasionar efectos adversos en los sistemas circulatorio, respiratorio y el SNC (Carvajal, 2019; Jakubczyk et al., 2020).

En la Figura 4 B se puede apreciar que hubo una mayor presencia de especies reactivas de oxígeno en el cerebro de los peces de Laguna, lo cual podría estar indicando que los organismos de Laguna experimentaron estrés oxidativo. Esto puede estar relacionado con la exposición de contaminantes ambientales o a condiciones estresantes en el agua de la Laguna, como la presencia de metales pesados, productos químicos agrícolas o cambios bruscos en la calidad del agua (Ochoa & González, 2008; Valavanidis et al., 2006; Menon et al. 2023).

Otro indicador ambiental para evaluar el estrés oxidativo de los organismos es la concentración de MDA en tejidos. Un nivel elevado de MDA se considera un indicador de peroxidación lipídica derivada del estrés oxidativo que es generado por la exposición de los peces a contaminantes, lo que implica que, a mayor estrés oxidativo por exposición del organismo a contaminantes (García et al., 2020). La peroxidación lipídica (LPO) puede generarse en los lípidos ubicados en la membrana celular, provocando alteraciones que conducen a la inestabilidad y daño de la membrana, y consecuentemente a la muerte celular (Ochoa & González, 2008). En este trabajo, se encontró una mayor concentración de MDA en los organismos de Laguna, y en conjunto con la presencia de ROS, se evidencia que los peces de Laguna han estado sometidos a mayores niveles de estrés oxidativo.

Tabla 2. Diferentes estudios que evidencia el uso de biomarcadores de neurotoxicidad y estrés oxidativo en peces

Especie	Sitio	Biomarcador evaluado	Efecto encontrado	Referencia
<i>M. cephalus</i>	Estuario de Kovalam y Estuario Ennore (India).	GSH, LPO, TAC, PC.	Daño al ADN, disfunción celular, estrés oxidativo (MDA, GSH).	Ekambaram et al., 2012.
<i>O. niloticus</i>	Norte de Misiones, Argentina.	Actividad colinesterasa, recuento diferencial de leucocitos y micronúcleos.	Alteración celular, daño al DNA, alteración de colinesterasas.	Soto et al., 2020.
<i>C. parallelus</i>	Brasil y Uruguay (zonas de alto impacto antrópico).	Enzimas hepáticas, GST, anomalías en núcleos de eritrocitos y micronúcleos.	Daño celular, daño al DNA, daño hepático.	Recabarren et al., 2019.
<i>O. niloticus</i>	Valencia, España (contaminación inducida a grupo de peces con Cilindrospermopsina).	MDA GST, otras enzimas antioxidantes.	Daño a componentes celulares, lípidos, proteínas y DNA.	Ríos-Camacho al., 2013.

Finalmente, este trabajo ha demostrado la alteración enzimática de AChE y la presencia de estrés oxidativos en peces de la especie *O. mossambicus* de la Laguna de Yuriria. En diferentes estudios (Tabla 2) se ha evidenciado que los peces son buenos bioindicadores de la contaminación ambiental utilizando biomarcadores ecotoxicológicos.

Conclusión

El presente estudio ha permitido evaluar los efectos de la contaminación y el estrés ambiental en la salud de los peces, comparando organismos provenientes la Laguna de Yuriria, zona con actual escasez de agua y

contaminantes, con peces de una granja bajo condiciones controladas. Los resultados obtenidos a través de la determinación de biomarcadores neurológicos y de estrés oxidativo, tanto en cerebro como plasma, revelan diferencias significativas entre ambos grupos, evidenciando el impacto negativo de la contaminación ambiental en la salud de los peces.

Los resultados de este estudio revelan que los peces de la Laguna de Yuriria presentan estrés oxidativo (aumento de MDA y ROS) y alteraciones en las enzimas esterasas (AChE, BChE). Estos hallazgos evidencian una exposición constante a contaminantes en el ecosistema acuático, lo cual compromete la salud de las poblaciones de peces y, por ende, la integridad de otros organismos que habitan en la laguna.

Dichos efectos adversos pueden tener consecuencias a largo plazo para la supervivencia de las especies y la estructura de la comunidad acuática. Es fundamental desarrollar estrategias integrales para abordar las fuentes de contaminación y restaurar la calidad del agua de la laguna, garantizando así la conservación de este importante ecosistema.

Agradecimientos

Se agradece a la estudiante de Maestría Paola E. López Villa por el apoyo proporcionado en la determinación de algunos biomarcadores. Así mismo, el equipo agradece las facilidades otorgadas para realizar parte de las determinaciones en el Laboratorio de Biomarcadores del Centro de Investigación Aplicada al Ambiente y Salud (CIAAS) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Bibliografía/Referencias

- Albendín, M. G., Manuel-Vez, M. P., & Arellano, J. M. (2021). In vivo cholinesterase sensitivity of gilthead seabream (*sparus aurata*) exposed to organophosphate compounds: Influence of biological factors. *Ecological Indicators*, 121, 107176. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107176>
- Bautista Covarrubias, Juan Carlos. (2001). INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE ACETILCOLINESTERASA (AChE), COMO EFECTO DE TOXICIDAD POR INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS SOBRE CAMARÓN BLANCO. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. Recuperado de:
- Bujdud León, Aixa Najla, Pereda Solís, Martín Emilio, Martínez Guerrero, José Hugo, & Guerrero Cervantes, Maribel. (2019). INHIBICIÓN DE LA BUTIRILCOLINESTERASA EN EL GORRIÓN CASERO EXPUESTO A MALATIÓN. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(4), 831-837. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992019000400831
- Carvajal Carvajal, Carlos. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100. Extraído de: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091#:~:text=Los%20ROS%2C%20especialmente%20el%20H2O2,estr%C3%A9s%20oxidativo%20con%20consecuencias%20patol%C3%B3gicas.
- Chuiquo G.M., Podgornaya V.A., Zhelnin Y.Y. (2002). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in brain and plasma of freshwater teleosts: cross-species and cross-family differences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 135 (2003) 55–61
- Días Assis R.C., Bezerra Souza R., Carvalho Bezerra L. (2011). Fish Cholinesterases as Biomarkers of Organophosphorus and Carbamate Pesticides. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/221917451_Fish_Cholinesterases_as_Biomarkers_of_Organophosphorus_and_Carbamate_Pesticides
- Esterbauer, H. y Cheeseman, K.H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, 186, 407-421.

- Ekambaram Padmini, Narayanan Meenakshi, Jayachandran Tharani. (2012). Changes in Oxidative Stress and Antioxidant Status in Stressed Fish Brain. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. Recuperado de: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=e6f5fbee4968bc41c5e9b974826f5613d149b324>
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Jr. y Feather-Stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7, 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Ferrari, L., Salibán, A., F.R. de la Torre. (2002). Freshwater pollution biomarker: response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, Volume 131, Issue 3. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1532045602000145>
- Gagné, F. (2014). *Biochemical Ecotoxicology: Principles and Methods*. Elsevier Inc. y Academic Press, Estados Unidos.
- García Danielly, Lima Daína, Grünig Humberto da Silva Danilo, Alves de Almeida Eduardo. (2020). Decreased malondialdehyde levels in fish (*Astyanax altiparanae*) exposed to diesel: Evidence of metabolism by aldehyde dehydrogenase in the liver and excretion in water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 190. Extraído de: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651319314381#:~:text=Increased%20malondialdehyde%20\(MDA\)%20levels%20are,exposure%20of%20fish%20to%20pollutants](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651319314381#:~:text=Increased%20malondialdehyde%20(MDA)%20levels%20are,exposure%20of%20fish%20to%20pollutants).
- González Arévalo, Ana Luisa. (2021). La contaminación por desechos industriales en la Laguna de Yuriria, ubicada en la Región Centro de México. Recuperado de: <https://ru.iiec.unam.mx/5458/1/056-Gonz%C3%A1lez.pdf>
- Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S., y Siest, G. (2002). Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 326(1-2), 131–142. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(02\)00329-7](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(02)00329-7)
- Habig, W. H., Pabst, M. J., y Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of biological chemistry*, 249(22), 7130–7139.
- Huerta Olvera, Selene Guadalupe (2022). *Toxicología ambiental, clínica y cotidiana*, capítulo 12: Ecotoxicología, Editorial el Manual Moderno.
- Herzka, S., Zaragoza, A., Peters, E., Hernández, G. (2020) Contaminantes, biomarcadores y bioindicadores en organismos, ATLAS de línea base ambiental del golfo de México, 1ª edición, pp:13-15. Extraído de: https://atlas cigom.cicese.mx/map_data/T005/ATLAS-TOMO-05.pdf
- IPLANEG. (2022). Programa Municipal de Desarrollo Urbano y Ordenamiento Ecológico Territorial. GUANAJUATO, GTO. <https://gtodigital.guanajuato.gob.mx/index.php/pmduoet/>
- Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 48(284), 124–127. Extraído de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32352946/>
- Lushchak, V.I., Bagnyuka, T.V., Lushchak, V., Storey, J.M. y Storey, K.B. (2005). Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(6), 1319-1330.
- Menon SV, Kumar A, Middha SK, Paital B, Mathur S, Johnson R, Kademan A, Usha T, Hemavathi KN, Dayal S, Ramalingam N, Subaramaniyam U, Sahoo DK and Asthana M (2023), Water physicochemical factors and oxidative stress physiology in fish, a review. *Front Environ*. Recuperado de: <https://www.frontiersin.org/journals/environmental-science/articles/10.3389/fenvs.2023.1240813/full>
- Mohammad, P. (2005). Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados.
- Ochoa DM, González JF. (2008). ESTRÉS OXIDATIVO EN PECES INDUCIDO POR CONTAMINANTES AMBIENTALES *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, vol. 55, núm. II, 2008, pp. 115-126. Extraído de: <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639218006.pdf>
- Recabarren, V., Ronda T., Arias, A. (2019). Uso de biomarcadores en la evaluación ambiental de ecosistemas marinos en América. *Jaina Costas y Mares ante el cambio climático* 1 (2):1-18. Doi:26359/52462.0719. Recuperado de:

https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/203153/CONICET_Digital_Nro.71405fbc-7a3b-431e-9d59-8e16a524908a_B.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- Ríos, C., Guzmán, G., Prieto, A., Cameán, F., (2013). Alteración de biomarcadores de estrés oxidativo en Tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a dosis repetidas de Cilindrospermopsina por diferentes vías de exposición. *Revista de Toxicología*, 30 (2), 149-160. Recuperado de: https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/97144/RT_camean-fernandez_2013_alteracion.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Samanta P., Pal S., Mukherjee A.K., Ghosh A.R., (2014), Biochemical effects of glyphosate based herbicide, Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, pp 120-125. www.elsevier.com/locate/ecoenv
- Sánchez Chávez, Gustavo y Salceda Rocío. (2008). Enzimas Polifuncionales: El Caso de la Acetilcolinesterasa. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revdubio/reb-2008/reb082b.pdf>
- Sanchez-Hernandez, J. C. (2003). Evaluating reptile exposure to cholinesterase-inhibiting agrochemicals by serum butyrylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(2), 296. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2003\)022<0296:eretc>2.0.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2003)022<0296:eretc>2.0.co;2)
- SMAOT. (2022a). Laguna de Yuriria y su Zona de Influencia. Guanajuato. <https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/areas-naturales-protegidas/10/Laguna-de-Yuriria-y-su-Zona-de-Influencia>
- SMAOT. (2022b). LISTADO DE FAUNA DE YURIRIA. <https://smaot.guanajuato.gob.mx>. <https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/areas-naturales-protegidas/10/Laguna-de-Yuriria-y-su-Zona-de-Influencia>
- Soto, D., Luque F., Gnazzo, V., (2020). Peces de consumo humano como indicadores de contaminación ambiental por plaguicidas en el norte de Misiones, Argentina. Recuperado de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-810X2020000100007
- Srikanth, K. & E. Pereira & A. C. Duarte & I. Ahmad, (2013). Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish—a review. *Environ Sci Pollut Res*, pp: 2133–2149. DOI 10.1007/s11356-012-1459-y
- Strange. R.C., Spriteri M.A., Ramachandran S., Fryer A.A. (2001). Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol 482, pp 21-26. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(01\)00206-8](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(01)00206-8).
- Üner, N., Oruç, E. Ö., Sevgiler, Y., Şahin, N., Durmaz, H., & Usta, D. (2006a). Effects of Diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 241–245. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.08.007>
- Universidad De Guanajuato. (s.f.). ¿CÓMO INFLUENCIA EL MANEJO DE LA LAGUNA DE YURIRIA A LA AGRICULTURA? [Diapositivas de PowerPoint]. División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. <https://www.globalnature.org › bausteine.net › LagunaYuriria.PDF>
- Valavanidis Athanasios, Vlahogianni Thomais, Dassenakis Manos, Scoullou Michael. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 64, Issue 2. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651305000643>
- Valeria Amé - coordinación general de Pedro Carriquiriborde (2014). Principios de ecotoxicología, 1ª edición, La Plata: Universidad Nacional de La Plata; EDULP, pp: 12-14.
- Zhao, X., Wang, S., Wu, Y., You, H., & Lv, L. (2013). Acute ZnO nanoparticles exposure induces developmental toxicity, oxidative stress and DNA damage in embryo-larval zebrafish. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 136-137, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.03.019>