

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE BAJA CALIFORNIA



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
FACULTAD DE CIENCIAS**

DOCTORADO EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

**EXPOSICIÓN AMBIENTAL A Pb, Cr, As, Hg, Se Y TOXAFENO: GENOTOXICIDAD
EN PECES DEL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.**

Tesis que para obtener el grado de:
DOCTOR EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

Presenta:
MIGUEL ANTONIO FLORES GALVÁN

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
FACULTAD DE CIENCIAS

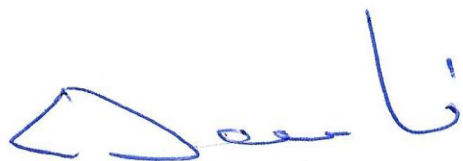
DOCTORADO EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

EXPOSICIÓN AMBIENTAL A Pb, Cr, As, Hg, Se Y TOXAFENO: GENOTOXICIDAD EN
PECES DEL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

PRESENTA:

MIGUEL ANTONIO FLORES GALVÁN



DR. LUIS WALTER DAESSLÉ HEUSER



DR. GORGONIO RUIZ CAMPOS



DR. JOSÉ VINICIO MACÍAS ZAMORA



DRA. OLIVIA TORRES BUGARÍN



DRA. EVARISTA ARELLANO GARCÍA

RESUMEN

En el valle de Mexicali existen varias actividades que son fuente de emisiones y contaminación, que afectan a los cuerpos de agua debido a que, a través de la precipitación, el arrastre por el viento o por disposición directa, los contaminantes son depositados en estos. Para determinar que problemas están causando la contaminación se evaluó la exposición ambiental al Pb, As, Hg, Cr, Se y toxafeno en los peces del valle de Mexicali. La agricultura fue determinada como la principal fuente de contaminación por su extensión y la ausencia de leyes regulatorias. Entre las especies capturadas con mayor abundancia relativa (CPUE), se encuentran *C. macularius* (CPUE= 4.09) en la laguna de evaporación de Cerro Prieto y *Mugil cephalus* (CPUE= 3.29) del río Hardy. De los contaminantes analizados en el agua, el As (639.87 ppb) y el Se (24.35 ppb) son los de mayor concentración acumulándose en el tejido de los peces (2.82 ppm (± 4.52) y 7.9 ppm (± 7.6), respectivamente); además el toxafeno estuvo presente en todas las especies analizadas, siendo este un primer acercamiento en el valle de Mexicali a su acumulación en los organismos expuestos. La genotoxicidad en peces está significativamente correlacionada a la concentración de As ($r= 0.32$) y Se ($r= 0.59$) en el agua. Mientras que el número de EMN no se correlaciona con las variaciones de la abundancia relativa.

Palabras clave: Mexicali, Peces, Arsénico, Selenio, Mercurio, Toxafeno, Genotoxicidad, Eritrocitos micronucleados.

DEDICATORIA

A mi esposa e hija:

Idalia Yazmin Castañeda Yslas

Yazmin Esmeralda Flores Castañeda

A mis padres:

Alma Rosa Galván Jurado

Antonio Flores Ibarra

A mis hermanos:

Marcus Eduardo Flores Galván

Aldo Yunuen Flores Galván

AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca que me brindó durante mis estudios de posgrado en el programa de Doctorado en Medio Ambiente y Desarrollo, así como del apoyo logístico recibido durante los muestreos de campo del Cuerpo Académico Estudios Relativos a la Biodiversidad a través de la Red de Especies Exóticas de México.

A mis directores de tesis, Dr. Walter Daesslé Heuser y Dr. Gorgonio Ruiz Campos, quienes supervisaron académica y logísticamente las diferentes etapas de mi trabajo de tesis, además por su apoyo en los muestreos de campo, por alentarme a terminar y no abandonar este trabajo.

A los que formaron parte del sínodo, Dra. Evarista Arellano García, que con su intención desinteresada me apoyó con lo que necesité durante los análisis de laboratorio y por sus comentarios acertados del trabajo de tesis. A la Dra. Olivia Torres Bugarín por instruirme en la técnica de micronúcleos y apoyarme en el trabajo de tesis con su revisión. Al Dr. José Vinicio Macías Zamora por intervenir en el estudio de muestras, facilitando los reactivos y equipo de análisis. A todos ellos por complementar este trabajo con sus valiosas aportaciones académicas.

A todos los que trabajan en el laboratorio de contaminantes orgánicos del IIO, M. en C. Cristina Quezada, Biol. Roxana Ortiz, M en C. Félix Hernández y a la Dra. Nancy Ramírez, por su apoyo en el proceso de extracción, análisis e interpretación de resultados de las muestras de toxafeno.

A la Dra. Lucila Lares Reyes y a sus técnicos, Dra. Erica Gutiérrez Mejía y M. en C. Raquel Iturria Dawn, por brindarme apoyo y acceso a los equipos del laboratorio.

Al M. en C. Salvador González Guzmán y David Ceseña Gallegos, por todo su valioso apoyo en los eventos de muestreo en el área de estudio.

A los profesores que me dieron clases y me brindaron sus conocimientos: Dra. Ileana Espejel, Dra. Anamaría Escofet, Dra. Alejandra Sánchez, Dra. Evarista Arellano, Dr. Leopoldo Espinoza, Dr. Walter Daesslé y Dr. Gorgonio Ruiz.

A todos mis compañeros del doctorado en Medio Ambiente y Desarrollo Generación 2013 Marco García, Jacobo Santander y Sergio Bello.

A mí querida esposa Idalia Castañeda, por apoyarme y brindarme tiempo valioso para terminar la tesis. Finalmente a mi hija Yazmin Flores por dejarme trabajar con la condición de jugar *“cuando acabe”*.

A todos ellos de antemano:

¡MUCHAS GRACIAS!

ÍNDICE

RESUMEN.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
ÍNDICE.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Compuestos Inorgánicos	3
Compuestos orgánicos	5
Toxafeno	6
Genotoxicidad	8
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
ÁREA DE ESTUDIO.....	13
METODOLOGÍA.....	16
Identificación de las fuentes de contaminación	16
Sitios de muestreo	16
Parámetros fisicoquímicos	17
Recolecta de peces	18
Abundancia relativa de peces	19
Ensayo de micronúcleos	19
Determinación de los contaminantes orgánicos	20
Determinación de los contaminantes inorgánicos	22
Procedimientos estadísticos	22
RESULTADOS.....	24
Fuentes de contaminación	24

Parámetros fisicoquímicos	25
Abundancia relativa de peces	27
Micronúcleos	30
Metales en las muestras de agua	33
Metales en las muestras de Tejido	34
Toxafeno en las muestras de tejido de peces	35
Correlación de Compuestos inorgánicos en agua (Pb, Cr, As, Se y Hg) con EMN	39
Correlación Compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As, Se y Hg) y orgánicos (Toxafeno) en tejido con EMN	41
Correlación entre la abundancia relativa de peces y EMN	43
DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES.....	53
LITERATURA CITADA	55
ANEXO 1.....	67
Productos Obtenidos	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Canales principales en el valle de Mexicali, Baja California, México.	14
Figura 2. Sitios de muestreo para la determinación de parámetros fisicoquímicos, recolecta de peces y calidad de agua en el valle de Mexicali, Baja California, México.....	17
Figura 3. a) Trampa tipo “minnow”, con sus respectivas dimensiones, b) Red agallera tipo trasmallo y c) atarraya.	18
Figura 4. Caracterización del valle de Mexicali, Baja California, México.	24
Figura 5. Sitios de muestreo de peces en el valle de Mexicali, Baja California México. a) Laguna Xochimilco, b) Río Hardy, c) Canal Reforma, d) Río Colorado y e) Ampliación sur de la laguna de evaporación de Cerro Prieto.	27
Figura 6. Diferentes especies de peces capturados en los diferentes sitios de muestreo del valle de Mexicali, Baja California, México. a) Cachorrito del desierto (<i>Cyprinodon macularius</i>), b) Mojarra oreja azul (<i>Lepomis macrochirus</i>), c) Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>), d) Sardina maya (<i>Dorosoma petenense</i>), e) Tilapia vientre rojo (<i>Tilapia sp. cf. zillii</i>), f) Mojarra golosa (<i>Lepomis gulosus</i>), g) Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>), h) Bagre torito amarillo (<i>Ameiurus natalis</i>), i) Topote velo negro (<i>Poecilia latipinna</i>), j) Mojarra oreja roja (<i>Lepomis microlophus</i>), k) Lisa cabezona (<i>Mugil cephalus</i>), l) Carpita roja (<i>Cyprinella lutrensis</i>) y m) Carpa dorada (<i>Carassius auratus</i>).....	29
Figura 7. Presencia de micronúcleos en eritrocitos señalados con flechas para diferentes especies de peces en el valle de Mexicali, Baja California, México, (a) Mojarra oreja roja (<i>Lepomis microlophus</i>), (b) Mojarra oreja azul (<i>Lepomis macrochirus</i>), (c) Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>), (d) Sardinita roja (<i>Cyprinella lutrensis</i>), (e) Lisa cabezona (<i>Mugil cephalus</i>), (f) Tilapia vientre rojo (<i>Tilapia sp. cf. zillii</i>), (g) Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>) y (h) Cachorrito del desierto (<i>Cyprinodon macularius</i>).	32
Figura 8. Cromatogramas con los iones analizados (343, 379, 413 y 430) del minuto 25 al 54, en las cuatro especies con más Σ TOX y dos blancos, en el valle de Mexicali, Baja California, México. (a) C. macularius, (b) P. latipinna, (c) C. carpio, (d) M. salmoides, (e) muestra blanco y f) muestra blanco fortificado.	37
Figura 9. Porcentaje de los grupos homólogos del toxafeno (7-Cl, 8-Cl y 9-Cl) en peces del valle de Mexicali, Baja California, México). (a) En los organismos analizados por especie y (b) por cuerpo de agua.	38
Figura 10. Regresión lineal entre los compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As y Se) del agua y los EMN/10000 E en el valle de Mexicali, Baja California, México.	40
Figura 11. Distancia y agrupación entre las variables As, Se, Cr, Pb y EMN/10000 E, con el método de Ward y 1-Person r en el valle de Mexicali, Baja California, México.	41
Figura 12. Distancia y agrupación entre las variables As, Se, Cr, Hg, Pb, Toxafeno y EMN/10000 E, con el método de Ward y 1-Person r en el valle de Mexicali, Baja California, México.....	43
Figura 13. Correlación lineal de Pearson de las variables As, Se, Toxafeno y EMN respecto a la CPUE en el valle de Mexicali, Baja California, México.	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Parámetros fisicoquímicos en diferentes sitios del valle de Mexicali, Baja California, México.....	26
Tabla II. Especies recolectadas por sitio con el número de organismos y la captura por unidad y esfuerzo (CPUE) en el valle de Mexicali, Baja California, México.	30
Tabla III. Número de organismos y especies por sitios de muestreo para la toma de muestra de sangre en el valle de Mexicali, Baja California, México.	31
Tabla IV. Valor de EMN/10000 E/ individuo y EMN/10000 E/ Especie en los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.	33
Tabla VII. Concentración ppb de Pb, Cr, As y Se en el agua de los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.	34
Tabla V. Concentración de metales (Pb, Cr, As, Se y Hg) obtenidos de tejido (musculo e Hígado/viseras) en diferentes especies del río Hardy, río Colorado y Cerro Prieto, en el valle de Mexicali, Baja California, México.	35
Tabla VI. Concentraciones de toxafeno total y grupos homólogos (7-Cl, 8-Cl y 9-Cl) expresada en ng/g, con el promedio y la desviación estándar (DS), de los blancos y de las especies en los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.	36
Tabla VIII. Matriz de correlación entre los compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As, Se y Hg), orgánicos (Toxafeno) del tejido axial y los EMN/10000 E en el valle de Mexicali, Baja California, México.	42

INTRODUCCIÓN

En la agricultura se aplican toneladas de sustancias químicas, con la finalidad de mejorar los cultivos y eliminar las plagas (Moreno-Mena et al., 2005). En este contexto, los ecosistemas acuáticos son vulnerables a los agroquímicos como sumidero final de estos compuestos elevando sus concentraciones en el agua y sedimentos (Datta et al., 2009). Los peces que se encuentran en estos ambientes tienden a acumular las sustancias químicas y pueden representar un riesgo a la salud humana al ser consumidos (Ruiz-Ruiz, 2009).

En el valle agrícola de Mexicali, Baja California, la calidad hídrica es un aspecto crítico en la gestión y manejo del agua transfronteriza que afecta a la cuenca del río Colorado. La contaminación que enfrentan los cuerpos de agua en la región puede provenir de los efluentes de agua residual o industrial, emisiones atmosféricas, actividades agrícolas y ganadería (Romero et al., 2010).

Los canales y cuerpos de agua del valle de Mexicali son importantes para las poblaciones rurales del valle de Mexicali (Arellano-García 2010). Existe una tradición desde hace varias décadas donde la población obtiene en los canales agrícolas diversos tipos de peces como lobina, bagre, tilapia además de ranas y langostinos. Así mismo en estos cuerpos de agua se realizan actividades de acuicultura como el cultivo del bagre, camarón y acopio de crustáceos para la distribución regional (superficie cultivada de 25.5 hectáreas con producción de 37.1 toneladas; SAGARPA, 2007) y se pretende desarrollar el río Hardy con actividades de pesca deportiva (Zarain, 2003).

En el río Colorado y los canales del valle de Mexicali las especies nativas han sido extirpadas a excepción del pez cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius*), que está en peligro de extinción debido a la competencia con especies exóticas que se han introducido por causas ornamentales, pesca deportiva, acuicultura, control biológico y la liberación intencionada (Ruiz-Campos et al., 2012, 2014)

La exposición ambiental de peces a diversos contaminantes genotóxicos puede evaluarse mediante el estudio de daño al ADN, como los micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica (Medina-Garza 2012). El uso de peces y micronúcleos como biomarcadores y bioindicadores permiten obtener información única que no es posible con otros métodos, siendo ésta: (1) Una advertencia temprana al daño ambiental, (2) los efectos integrados del estrés ambiental en la salud de los organismos, poblaciones, comunidades y ecosistemas, (3) la relación entre las respuestas individuales de los organismos por exposición a contaminantes y el efecto a nivel poblacional y (4) una advertencia temprana al daño potencial a la salud humana basado en las respuestas de las poblaciones silvestres (Obiakoretal.,2012). En este sentido las actividades antrópicas causan cambios en el ambiente que en ocasiones son de importancia y repercuten en los propios seres humanos, ya que acaban con los bienes y servicios que se obtienen de la naturaleza, afectando así a futuras generaciones (Haines,2009). Por lo anterior el propósito del presente estudio es determinar la correlación de la concentración de Pb, Cr, As, Hg, Se y Toxafeno, en agua y tejido, con el daño genotóxico en peces del valle de Mexicali. Dicha información será de utilidad para el conocimiento de los factores ambientales que pueden afectar la calidad y cantidad de los recursos para fines de pesca comercial y recreativa, la piscicultura e incluso la salud pública en la región de este valle agrícola.

ANTECEDENTES

Compuestos Inorgánicos

Existen diversos estudios sobre la contaminación ambiental por compuestos orgánicos e inorgánicos en el valle de Mexicali y sus efectos. En relación con los contaminantes inorgánicos, se ha sugerido que las concentraciones de sales son mayores a 4000 ppm y de Se superiores a 6.3 ppb, las cuales se incrementan río abajo, afectando la calidad del agua de riego y los suelos agrícolas (García-Hernández, 2004).

También se ha establecido que las concentraciones de Pb Cu y Cr en el sedimento del río Hardy son potencialmente tóxicas para los organismos acuáticos (Daessle et al., 2009); en cambio, se ha reportado que en almejas y mejillones de los canales y drenes del valle de Mexicali, de entre los metales del grupo Zn, Mn, Cu, Al, Cr y Ag, solo el Al presentó niveles altos de 914.02 $\mu\text{g/g}$ (Gutiérrez-Galindo et al., 1990). Por otra parte, se detectaron concentraciones de B de alrededor de 26 ppm, en aves de la zona, niveles que según Mora et al., (1995) pueden causar anomalías reproductivas y disminución del potencial biológico.

La presencia de Hg en el agua del río Hardy (10.2 $\mu\text{g/L}$) sobrepasa ligeramente los límites permisibles establecidos en la NOM-001-ECOL-1996 de 10 $\mu\text{g/L}$ (García-Hernández, 2013), cifras que se relacionan con el trabajo de Arellano-García (2010) quien menciona que el daño genético por As, Cr, Cd y Se en los residentes de la localidad El Mayor en el río Hardy-Colorado se relaciona al consumo de pescado local.

Los metales en agua desempeñan un papel importante en el área del valle de Mexicali. Estos interactúan en la cadena trófica, acumulándose en los tejidos de las especies expuestas, causando bioacumulación y cuando estas especies expuestas son consumidas por otras especies depredadoras, se produce una biomagnificación que conduce al incremento de la concentración de metales en los organismos residentes, incluidos los humanos (Kucuksegin et al., 2006)

Fuera de Mexicali se han estudiado contaminantes inorgánicos en agua y el efecto que tienen en los organismos acuáticos como el de la ostra de mangle (*Crassostrea corteziensis*) que es una especie ampliamente utilizada para el consumo humano y que tiene valor comercial importante en Mazatlán, México. Para este organismo se reportó la acumulación de nueve metales traza (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn); durante 12 meses y se determinó que el coeficiente de correlación fue mayor para el cobalto, cromo, níquel y plomo (Páez-Osuna & Marmolejo-Rivas, 1990).

En el del atún rojo (*Thunnus thynnus*) en Messina (Sicilia, Italia), se describieron variaciones significativas ($p < 0.01$) para las concentraciones de Hg y Zn en el músculo e hígado, además de que los niveles de Hg de $3.03 \pm 0.55 \mu\text{g} / \text{g}$ en músculo, están por encima de los límites máximos residuales (LMR) de $1 \mu\text{g} / \text{g}$ donde se estableció el riesgo toxicológico para el consumidor (Licata et al., 2005). También está el estudio de metales tóxicos Cd, Pb y Hg en los tejidos de la carpa común en Pilská, Domaninský y Matějovský, en la que se encontraron concentraciones de Cd en el hígado y al igual que los otros metales monitoreados, la concentración fue baja y cumple con el límite máximo de residuos (Vicarová et al., 2016).

En peces comerciales, la investigación sobre la acumulación de metales pesados: Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr y Zn fue realizada por Javed y Usmani (2011), en tres peces *Channa punctatus*, *Clarias gariepinus* y *Labeo rohita*. Reportan la acumulación en músculos, hígado, riñones y branquias, además que para Fe y Zn las concentraciones fueron más altas, seguidas por Ni, Cu, Co, Mn y Cr en las tres especies.

Compuestos orgánicos

En cuanto a los estudios sobre compuestos orgánicos organoclorados, organofosforados, plaguicidas y bifenilos policlorados en el valle de Mexicali, García-Hernández et al., (2006) han sugerido que el DDE, DDD, DDT, lindano, heptacloro, dieldrin, diazinon, dimetoato y malatión residuales, están presentes en los huevos de la huilota (*Zenaida macroura*) y tecolote llanero (*Athene cunicularia*), sobrepasando las normas nacionales e internacionales en el sedimento, el agua y la biota acuática (García-Hernández et al., 2013).

Particularmente, en cuanto a las concentraciones de DDT en moluscos bivalvos de los canales y río Hardy, Gutiérrez-Galindo et al. (1988a) reportan que hay un incremento en dirección norte-sur, explicado este patrón como un efecto del tiempo de residencia a lo largo de su ruta de transporte de sedimentos en el cuerpo de agua. Gutiérrez-Galindo et al. (1988b y 1998) y Hinck et al. (2007) reportaron que el DDT y sus metabolitos están presentes en peces a lo largo del río Colorado y se encuentran ampliamente distribuidos en todos los componentes del ecosistema pero en bajas concentraciones, alrededor de 254 µg/g–871 µg/g. Por su parte, Lugo-Ibarra et al. (2011), establecen que los sedimentos sepultados en el río Hardy muestran un incremento de

contaminantes orgánicos en sedimentos depositados hace 30 años aproximadamente, por lo cual la alteración del sedimento, podría ocasionar la reincorporación de contaminantes en el ecosistema moderno.

Otro compuesto orgánico y de importancia es el toxafeno que se ha encontrado en suelos en cantidades de 84.2 ng/g \pm 172.8, en sedimentos en niveles de 6.6 ng/g \pm 3.3 y aire con cifras de 904.7 pg/m³ \pm 1020.9; este último con concentraciones más elevadas en primavera y verano (Sánchez-Osorio, 2014). Por otro lado, se ha comparado el valle de Mexicali con el valle del Yaqui (en el noroeste de México), donde se tomaron muestras de suelos residenciales y sedimentos de drenes agrícolas para analizar DDTs, hexaclorociclohexanos y clordanos, las medias geométricas de peso seco (ng/ g) en el suelo del valle de Mexicali fueron: Σ DDT 22, Σ HCH 0.80 y Σ CHL 0.88, respectivamente y en sedimentos: Σ DDT 5.0, Σ HCH 0.23 y Σ CHL 0.53; las medias del valle de Mexicali fueron significativamente más altas ($p < 0.05$) que en el valle del Yaqui para Σ DDT y Σ HCH, según el reporte de Sánchez-Osorio et al. (2017).

Toxafeno

El toxafeno (canfeclor), fue introducido en 1945 por la compañía Hercules Powder Inc. y es uno de los plaguicidas más ampliamente utilizados en todo el mundo (Vetter & Oehme, 2000). En los setentas en los Estados Unidos después de la prohibición del DDT, fue el plaguicida más utilizado, principalmente en la región sureste donde aproximadamente 81.7% de su uso se concentró en tan solo diez estados (Li, 2001).

En los años 1982 -1990 el toxafeno fue prohibido para la mayoría de usos (USEPA, 1999). Sin embargo, por su naturaleza lipófila, persistente y volátil su dispersión es global tanto en ambientes marinos y como de agua dulce, incluso ya están registrados rastros de toxafeno en áreas remotas como el Ártico donde nunca se usó el pesticida (Li et al., 2001). Este compuesto es absorbido por los organismos los que lo acumulan en el tejido graso además se ha demostrado que afecta el sistema nervioso central y al hígado (Leonards et al., 2011).

La concentración de taxafeno se ha medido en especies marinas como de agua dulce entre ellas invertebrados, peces y mamíferos, con lo que se ha determinado la distribución mundial (De Geus et al., 1999).

Para la producción de toxafeno se extraer α -pineno crudo, utilizando metilisobutilcetona, calor y presión, la isomerización de α -pineno produce canfeno, bornileno y α -terpineol. El canfeno es subsecuentemente clorado bajo luz ultravioleta (UV) para producir toxafeno, con contenido promedio de cloro de 67 a 69% (De Geus et al., 1999). La composición elemental promedio del toxafeno es $C_{10}H_{10}Cl_8$, comprende al menos 180 a 190 variantes, la mayoría con la fórmula $C_{10}H_{18-n}Cl_n$, $C_{10}H_{16-n}Cl_n$, donde n es entre 6 y 10. El producto comercial es relativamente estable, pero puede degradarse al perder HCl o Cl_2 con exposición prolongada a la luz solar, álcali o temperaturas superiores a 393°K, debido a la forma de su estructura de norbornano o heptano bicíclico son posibles teóricamente, más de 16640 congéneres clorinados, sin embargo, la producción como mezcla técnica consiste en su mayoría de congéneres hexa a deca clorados, conformando 10 770 compuestos (Vetter y Oemhe, 2000).

Genotoxicidad

El tipo de daño que algunos compuestos o contaminantes tienen sobre el ADN los define como genotóxicos. A nivel del ADN, un alto porcentaje de alteraciones espontáneas o inducidas se traducen en rupturas y pérdidas cromosómicas, por lo que en estudios sobre la calidad de los ambientes naturales, es importante identificar estas alteraciones, que afectan al conjunto de genes de las especies expuestas a sustancias genotóxicas (Palacio-Betancur, 2009). El importante aumento de las emisiones de sustancias químicas en los recursos hídricos ha provocado graves efectos nocivos para organismos acuáticos, además de los riesgos directos e indirectos para la salud humana (Matsumoto et al., 2006). Estos productos químicos, pueden inducir, además de la muerte de organismos expuestos, otros efectos, como trastornos genéticos y alteraciones fisiológicas.

Algunas sustancias, cuando están presentes en bajas concentraciones, pueden no causar efectos agudos detectables en los organismos, pero pueden, a la larga, reducir su duración de vida (De campos et al., 2008). Actualmente, los biomarcadores citogenéticos se están aplicando y validando para estudiar la exposición de las especies a agentes genotóxicos, con el fin de predecir alteraciones biológicas y efectos nocivos a largo plazo, en los sistemas naturales causados por los agentes genotóxicos (De Flora et al. 1993).

Existe una gran diversidad de biomarcadores de genotoxicidad, pero el ensayo de micronúcleos es un procedimiento alternativo y simple para determinar el daño nuclear y cromosómico in vivo en diferentes tipos de células, detectando el efecto de agentes mutagénicos sobre los cromosomas (Schmid, 1975). Los micronúcleos aparecen cuando un fragmento de cromosoma

o un cromosoma completo, se queda rezagado durante la mitosis y al no poder migrar con uno de los dos núcleos hijos, se presentan como porciones de cromatina rodeados por membrana nuclear que se han denominado micronúcleos. Cuando el micronúcleo se formó con un fragmento de cromosoma, se interpreta como un evento clástogénico que ocurre después de una ruptura cromosómica mientras que el segundo se relaciona con un proceso aneugénico que ocurre por daño en el huso mitótico o el aparato fusiforme. Estos eventos se pueden ver en cualquier tipo de célula, tanto somática como germinal, por lo tanto, la prueba de micronúcleos puede llevarse a cabo en cualquier tejido activo (Udroiu, 2006).

La evaluación de los micronúcleos como biomarcador ha recibido poca atención por parte de los expertos en manejo ambiental y se han menospreciado los efectos letales y subletales de los compuestos genotóxicos (Obiakor et al., 2012) que los producen. En algunos peces esta prueba ha resultado ser una técnica in vivo útil para ensayos de genotoxicidad y para el monitoreo in situ de la calidad del agua (Shintio y Santis, 2010; Báez-Ramírez et al., 2004; Lasheen et al., 2012; Medina-Garza, 2012; Obiakor, 2012). Los micronúcleos son utilizados como biomarcadores puesto que estos permiten identificar cualquier respuesta biológica a un químico en el ambiente a nivel celular, indicando una alteración del estado normal que no se puede detectar en un organismo intacto, a diferencia de un bioindicador que se define como la presencia o ausencia de un organismo por la sensibilidad a cierto compuesto (Oost et al., 2003).

Este método es ampliamente utilizado y recomendado para estudios de exposición a diferentes tipos de contaminantes ambientales, siendo un indicador sensible de daño cromosómico (Medina-Garza 2012). Varios estudios se han generado aplicando esta técnica como Hughes &

Hebert (1991) que midieron las frecuencias de eritrocitos con micronúcleos (MN) de 280 *Pseudopleuronectes americanus* desde la Bahía de Chesapeake hasta el sur de Escocia, las incidencias de MN fueron distintas entre los sitios de muestreo y en los últimos meses del año se incrementó la frecuencia de MN demostrando que hay susceptibilidad y que es un excelente bioindicador para la contaminación.

En un estudio sobre *Salmo trutta*, *Anguilla anguilla* y *Phoxinus phoxinus*, los MN fueron evaluados como biomarcadores de contaminación in situ, utilizando exposición experimental, por inmersión a diferentes concentraciones de ciclofosfamida, colchicina y de cadmio, determinando que *Salmo trutta* es más sensible a los tres compuestos que los demás. En el caso in situ *S. trutta* silvestres tenía un incremento de micronúcleos causados por la contaminación, y se demostró la idoneidad de la trucha marrón para el biomonitoreo in situ de ecosistemas de agua dulce, así como para pruebas de laboratorio (Rodríguez-Cea et al., 2003). También puede utilizarse para medir el efecto genotóxico de ciertas sustancias químicas como Ozkan et al. (2011), quien describió los efectos genotóxicos de dosis subletales de cadmio en eritrocitos periféricos de *Oreochromis niloticus*, los peces estuvieron expuestos a dosis de 0,5 y 1,0 mg / L de cadmio (Cd) durante un período de tratamiento de 10 días, la exposición causó un aumento significativo ($P < 0.05$) de micronúcleos en los eritrocitos también se observó que la aplicación de una dosis de 1.0 mg / L de Cd produjo más frecuencia de MN que la aplicación de una dosis de 0.5 mg / L.

HIPÓTESIS

Las fuentes de contaminación más importantes en el valle de Mexicali son los agroquímicos y la actividad geotérmica. Los metales traza y toxafeno derivados de estas actividades en los cuerpos de agua tienen un efecto genotóxico en peces. Dicha exposición ambiental a contaminantes puede ser determinada mediante la técnica de micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica de los peces. Existe una correlación entre la concentración de contaminantes en el agua y los tejidos con el daño genético.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la genotoxicidad por exposición ambiental a Pb, Cr, As, Hg, Se y Toxafeno en peces del valle de Mexicali, Baja California, México.

Objetivos específicos

1. Identificar las fuentes de contaminación a través de un sistema de información geográfica (SIG) en el valle de Mexicali.
2. Determinar las características fisicoquímicas y la concentración de metales traza (Pb, Cr, As y Se) en agua de cinco cuerpos de agua del valle de Mexicali: río Colorado, río Hardy, canal Reforma, laguna Xochimilco y laguna de evaporación de la geotermia Cerro Prieto.
3. Determinar la concentración de metales traza (Pb, Cr, As, Hg y Se) y toxafeno en tejido axial en peces residentes en los cinco cuerpos de agua.

4. Cuantificar la frecuencia de eritrocitos micronúcleados (EMN) en sangre periférica de los peces.
5. Correlacionar el daño genético en los peces con los contaminantes detectados (agua y tejidos) y su abundancia relativa.

ÁREA DE ESTUDIO

En los valles de Mexicali y San Luis Río Colorado existe una diversidad de canales de riego primarios y secundarios que conforman el Distrito de Riego 014, el cual fue constituido en el año de 1937 (Cortez-Lara, 2011). Los canales primarios son Reforma, Independencia, Nuevo Delta o 4 de Abril, Delta II, Alimentador del Norte y Del Sur (Figura 1). La compañía norteamericana California Development Company fue quien dio inicio al proyecto para irrigar y colonizar las tierras del Desierto del Colorado. Sin embargo, las características topográficas no lo permitieron, por lo que el agua se tuvo que canalizar a través del territorio mexicano aprovechando el cauce natural del río Álamo, localizado al sur de la frontera con México. Dicha eventualidad generó la posibilidad de irrigar la porción sur del Delta del Colorado y atrajo inversiones a la construcción de un moderno sistema de irrigación para usos agrícolas y desarrollar actividades productivas en México (Anguiano, 1992).

Por su parte, el Tratado Internacional de Aguas de 1944 establece que México dispone de un volumen garantizado de 1,850.23 millones de metros cúbicos anuales (Mm^3/a) en condiciones de flujo normal, mismos que se reciben por la presa José María Morelos (Cortez-Lara, 2011). Derivado del proceso de transferencia del distrito de riego a los usuarios en estas regiones, alrededor de 239,000 Ha son aprovechadas, de las cuales operan una superficie de 207,965 hectáreas, utilizando el 86% de la disponibilidad total de agua en la región (incluyendo fuentes subterráneas) que equivalen a 1,600 Mm^3/a donde se cultiva algodón, trigo, cártamo, maíz, forrajes, hortalizas entre otros (Valdez-Salas *et al.*, 2000).

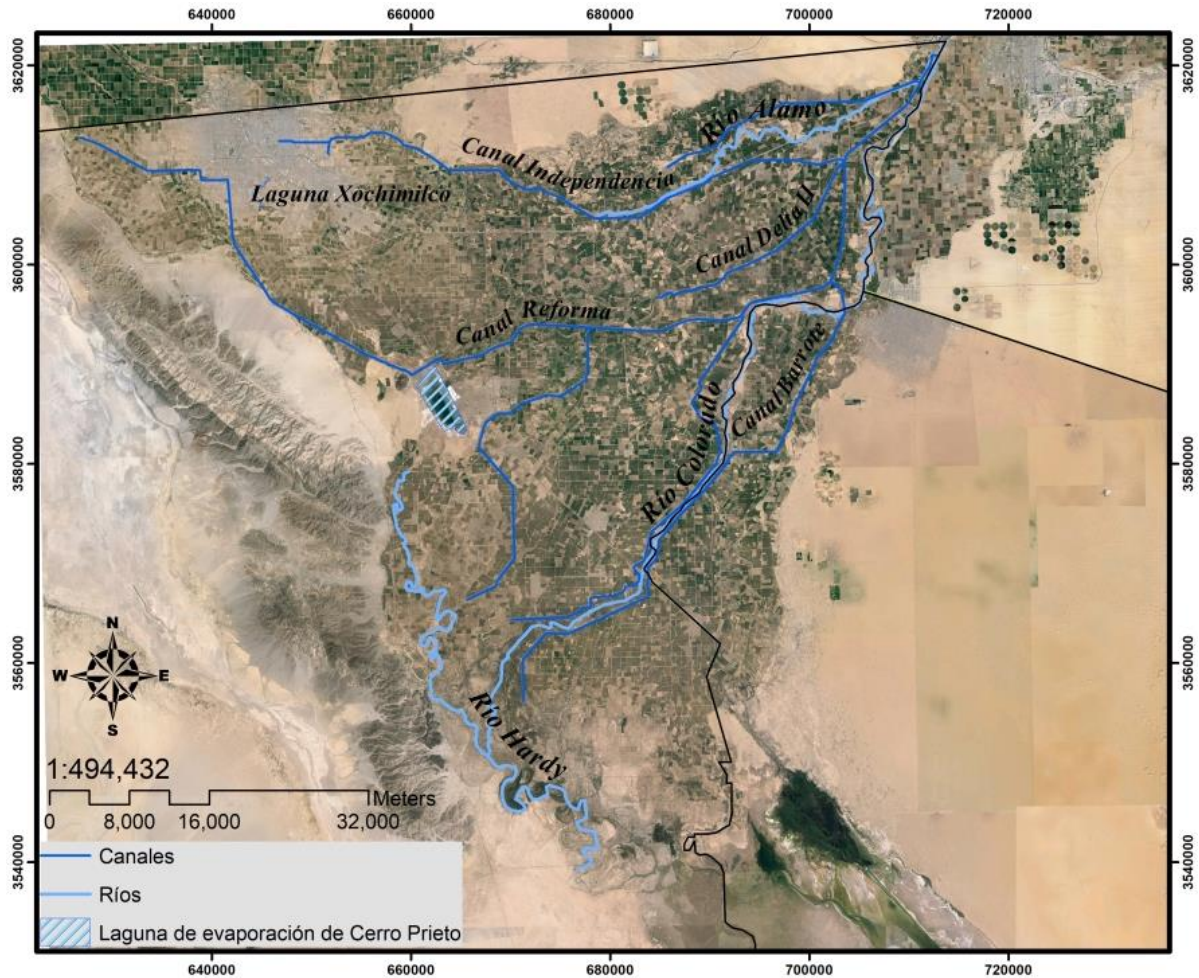


Figura 1. Canales principales en el valle de Mexicali, Baja California, México.

El clima del valle se caracteriza por ser extremadamente árido, con precipitaciones promedio que no rebasan los 100 mm/año (74-85 mm/año). Las temperaturas promedio oscilan en los 24°C, con mínimas de -5°C en invierno y máximas de 53°C en verano. Los suelos son del tipo aluvial y cambisol crómico con una alta salinidad (Escoboza-García et al., 2008).

En el Distrito de Riego 014 se distribuyen diversas especies de peces, donde las nativas han sido extirpadas a excepción del pez cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius*), que está en

peligro de extinción debido a las especies exóticas que se han introducido por causas ornamentales, pesca deportiva, acuicultura, control biológico y la liberación intencionada (Ruiz-Campos et al., 2012, 2014). Las especies exóticas presentes son: *Dorosoma petenense* (Sardina maya), *Cyprinella lutrensis* (Carpita roja), *Cyprinus carpio* (carpa común), *Carassius auratus* (Carpa dorada), *Ictalurus furcatus* (Bagre azul), *Ictalurus punctatus* (Bagre de canal), *Ameiurus natalis* (Bagre torito amarillo), *Ameiurus catus* (Bagre blanco), *Ameiurus melas* (Bagre torito negro), *Pylodictis olivaris* (Bagre Piltonte), *Gambusia affinis* (Pez mosquito), *Poecilia latipina* (Topote velo negro), *Xiphophorus variatus* (Espeda de Valles), *Morone saxatilis* (Lobina estriada), *Lepomis gulosus* (Mojarra golosa), *Lepomis macrochirus* (Mojarra oreja azul), *Lepomis microlophus* (Mojarra oreja roja), *Micropterus salmoides* (Lobina negra), *Pomoxis annularis* (Robaleta blanca), *Pomoxis nigromaculatus* (Robaleta negra), *Oreochromis aureus* (Tilapia azul), *Oreochromis mossambicus* (Tilapia mosambica) y *Tilapia* sp. cf. *zillii* (Tilapia panza roja) (Ruiz-Campos et al., 2014).

METODOLOGÍA

Identificación de las fuentes de contaminación

Para identificar las posibles fuentes de contaminación de la zona de estudio fue confeccionado un mapa del valle de Mexicali mediante un sistema de información geográfica (SIG) que utiliza el programa ArcMap 10 de ArcGIS 10. Una imagen satelital de Google Earth con resolución de 4800 X 4096 pixeles (28.8 m por pixel) fue utilizada como imagen de fondo, uniendo en forma de capas la información de áreas agrícolas, áreas urbanas, asentamientos, industrias de transformación, actividades pecuarias (aviarios, pocilgas y establos), confinamientos de residuos peligrosos, basureros y rellenos sanitarios.

Sitios de muestreo

Los sitios de muestreo para agua y peces fueron la laguna Xochimilco, el río Hardy (que reciben las descargas de agua producto de los escurrimientos agrícolas de la zona norte y sur del valle de Mexicali, respectivamente, así como de la planta de tratamiento Las Arenitas), el río Colorado, el canal Reforma (alimentador principal para irrigación agrícola) y la laguna de evaporación de la Planta Geotérmica de Cerro Prieto, este último como sitio receptor de descargas de dicha planta (Figura 2).

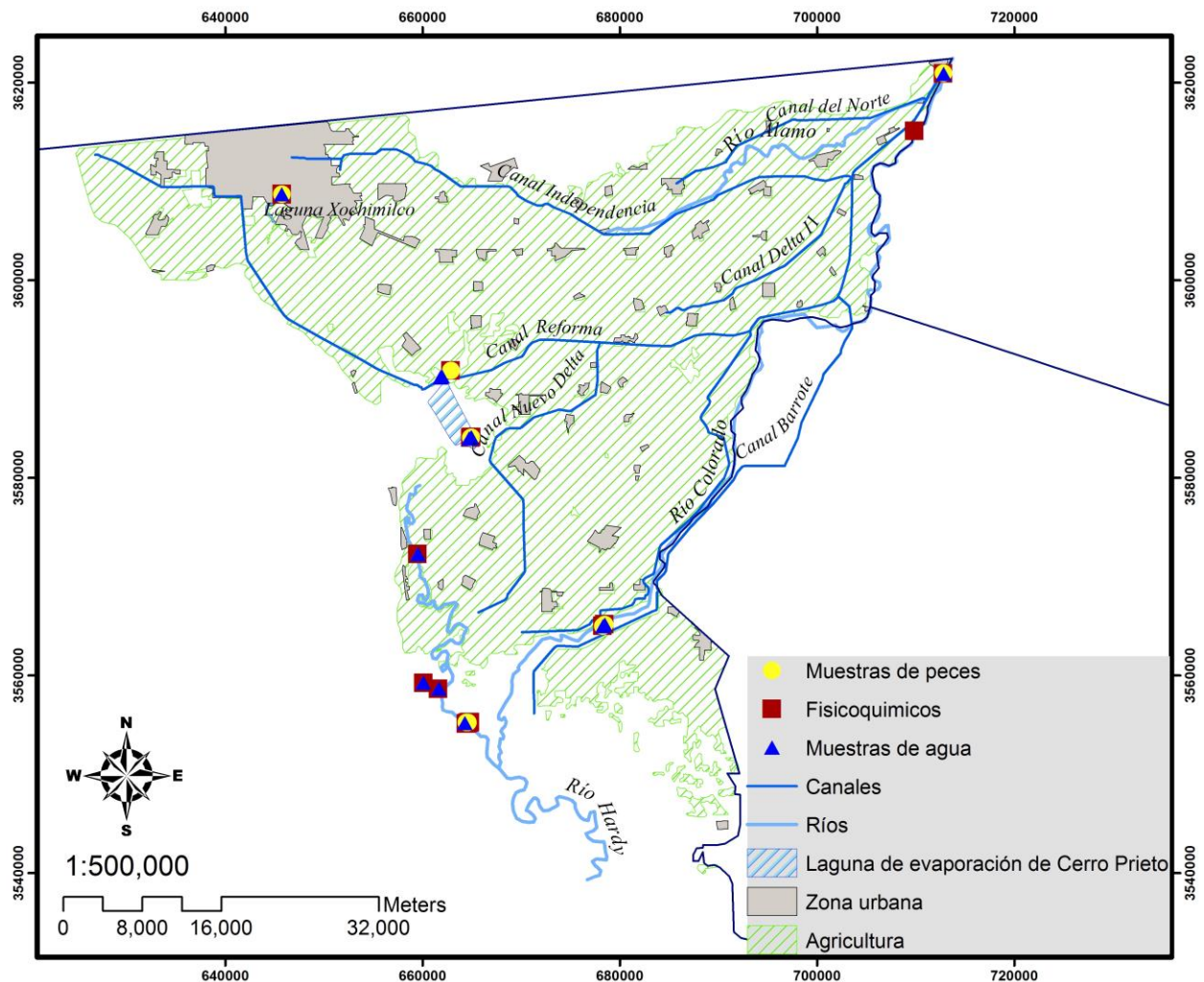


Figura 2. Sitios de muestreo para la determinación de parámetros fisicoquímicos, recolecta de peces y calidad de agua en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos del agua medidos fueron la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, conductividad (mS/cm), salinidad (ppm) y sólidos disueltos totales (g/L), fueron determinados "in situ" mediante un equipo multianalizador Hydrolab Scout 2, el oxígeno disuelto (mg/L) fue cuantificado con un oxímetro portable (modelo WTW Multi 1970i model).

Recolecta de peces

Los peces fueron recolectados utilizando trampas tipo “minnow” con malvaviscos como cebo (para atraer a los peces por el color y el sabor), atarraya y redes agalleras de tipo trasmallo (Figura 3), de acuerdo a la especie recolectada y a las características del hábitat en diferentes sitios (Figura 2). De los organismos capturados se obtuvieron muestras de sangre periférica de la artería caudal, algunos de ellos fueron envueltos en aluminio y puesto en hielo para ser transportados; una vez en el laboratorio fueron congelados para una posterior disección, donde el tejido (musculo axial e hígado/viseras) fue extraído para el análisis de metales y toxafeno, siguiendo la metodología de muestras de peces y análisis de la EPA (USEPA, 2000).

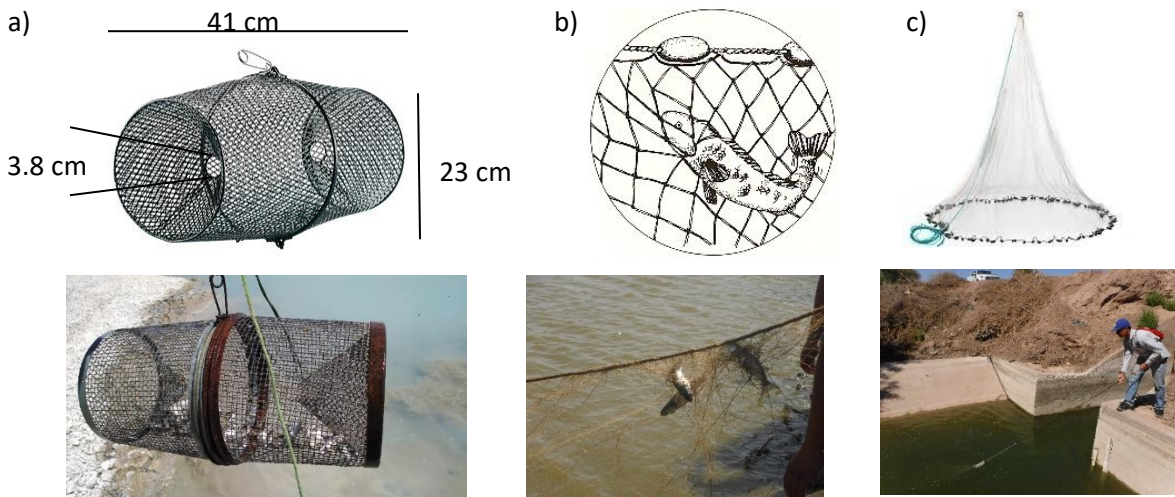


Figura 3. a) Trampa tipo “minnow”, con sus respectivas dimensiones, b) Red agallera tipo trasmallo y c) atarraya.

Abundancia relativa de peces

La abundancia relativa de las especies de peces fue expresada como captura por unidad y esfuerzo (CPUE), misma que consiste en estandarizar la abundancia absoluta en función del esfuerzo de muestreo ejercido. Este procedimiento permite realizar comparaciones entre las mismas muestras y otros eventos pasados o futuros (Nielsen, 1983). La CPUE fue calculado como número de individuos capturados/número de trampas colocadas/tiempo de operación de las trampas; por tanto, la CPUE fue expresada como número de individuos/trampa/hora. En el caso de muestreo con red agallera tipo trasmallo, la CPUE se calcula como el número de peces capturados/red agallera/hora. Finalmente, en el muestreo con atarraya, la CPUE se estima como el número promedio de peces capturados por lance.

Ensayo de micronúcleos

Para obtener la frecuencia de eritrocitos con micronúcleos fue utilizada la metodología modificada de Schmid (1975). Una muestra de sangre periférica del pez fue obtenida a través de una punción con jeringa heparinizada en la base de la aleta caudal, siendo esta muestra colocada sobre un portaobjetos previamente etiquetado, realizando un barrido y dejándola secar a temperatura ambiente para fijarla posteriormente con etanol al 70% durante 5 minutos. Para la tinción de las laminillas fue añadido 0.05 g de polvo de anaranjado de acridina en 500 ml de solución buffer de fosfatos (11.49 g. de fosfato monobásico de sodio y 2.16 g. de fosfato de sodio dibásico por litro), acomodando las laminillas a teñir en rejillas para tinción, mezclando continuamente durante 4 minutos, después fueron enjuagadas con buffer de fosfato para

eliminar exceso de colorante dejándose secar e inmediatamente fueron guardadas evitando exponerlas a la luz. Para el proceso de examinación de las laminillas en un microscopio de fluorescencia una gota de buffer de fosfato fue agregada sobre la muestra y tapada con un cubre objetos, evitando la formación de burbujas de aire, analizando a una magnificación de 1000X con aceite de inmersión. Contabilizando la frecuencia de EMN para un total de 10,000 eritrocitos por pez, siendo éstos reportados como EMN/10000/E.

Determinación de los contaminantes orgánicos

El análisis de las muestras se llevó a cabo de acuerdo a la metodología modificada de Zeng et al. (1997). Las muestras de tejido (músculo axial) fueron liofilizadas con una bomba de vacío en frío y homogeneizadas. Para la extracción del toxafeno fue utilizado un extractor acelerado por solventes (Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ 350), las celdas armadas previamente lavadas con solventes (acetona, diclorometano y metanol) consistieron en 5 g de cristales de sílica, 4 g de alúmina, 3 g de florisil, un filtro, 2 g de arena y 2 g de tierra de diatomeas mezclada con las muestras en seco. Fue agregado a todas las muestras y a los blancos 25 µL de surrogado interno (pesti 1000 ng/mL), más un blanco fortificado con 25 µL de toxafeno 1000 ng/mL y 50 µL (pesti 500 ng/mL). Posteriormente, los extractos orgánicos obtenidos fueron concentrados a aproximadamente 1 ml en roto-evaporación (Thermo Scientific Rocket Evaporator System). Los extractos fueron pasados a tubos limpios para ser resuspendidos con diclorometano y posteriormente concentrados a 0.5 mL con N₂ resuspendiéndolos con hexano. Previo al análisis por cromatografía, los extractos fueron sometidos a un proceso de limpieza a través de columna formada por un tapón de fibra de vidrio, arena 1 g, sílica 1 g, alumina 1 g, florisil 1 g,

arena 2 g, sulfato de sodio anhidrido 0.5 g y humedecida con hexano. Los extractos fueron aplicados sobre las columnas en 1 ml de hexano y eluidos en dos fracciones: la primera fracción (F1) con 10 ml de hexano y la segunda fracción (F2), conformada por una mezcla hexano: diclorometano (60/40). Después, los extractos fueron concentrados a aproximadamente 1 ml en roto-evaporación y vueltos a concentrar a 0.5 mL con N₂. Los extractos de las muestras fueron sometidos a un segundo proceso de limpieza adicionando 0.5 mL de hexano y tres gotas de iso-octano mezclando la sustancia con vortex, después fue añadida 1 gota de ácido sulfúrico agitando de nuevo, la fase orgánica fue enjuagada con agua grado HPLC por 7 veces para la eliminación del ácido. Para extraer el agua fueron realizados 5 lavados con hexano y sulfato de sodio. Finalmente, la fase orgánica fue concentrada con N₂ a 0.05 mL y aforada a 0.1 mL con iso-octano transfiriéndola a viales provistos de insertos de 150 µl para su análisis por cromatografía de gases. El toxafeno total fue cuantificado por cromatografía de gases con un detector selectivo de masas Agilent 5975C inert XL EI/CI MSD, previa adición de 10 µl de estándar interno PCB 30 y 205. Los iones monitoreados fueron 343/345 m/z para los congéneres heptaclorados (7-Cl), 379/281 m/z para los congéneres octaclorados (8-Cl), 413/ 415 m/z para los congéneres nonaclorados (9-Cl) y 430 para estándar. La cuantificación del toxafeno total (Σ TOX) en las muestras se realizó mediante el método de factor de respuesta único (SRF) (Jantunen y Bidleman, 1998). Dicho método consiste en la suma de la respuesta de los grupos homólogos 7-Cl, 8-Cl y 9-Cl obtenida a partir de un estándar técnico de toxafeno.

Determinación de los contaminantes inorgánicos

Las muestras de agua fueron obtenidas en diferentes sitios de muestreo (Figura 2), siendo filtradas (filtros pre quemados GF/F), acidificadas (HNO_3 ultra puro al 1%), mantenidas en recipientes de polietileno a 4°C hasta su análisis con ICP-MS y analizador de Hg. Los tejidos analizados (músculo axial e hígado/viseras en el caso de *C. macularius*) fueron liofilizados con bomba de vacío en frío y homogeneizados después fueron enviados a un laboratorio certificado para cuantificar los metales, donde fue utilizada la digestión por microondas previo al análisis con ICP-MS y analizador de Hg. El material de referencia utilizado fue CRM DORM-2 y DOLT-2. El porcentaje de recuperación fue superior al 93% para todos los elementos analizados y los límites de detección para cada uno se muestran en la Tabla V.

Procedimientos estadísticos

Para los análisis fue utilizado el programa STATISTICA 8 (StatSoft) y para las bases de datos Excel. Fue aplicada estadística básica (media y desviación estándar) para todos los datos. Para realizar las correlaciones fue utilizado el método de Ward para el amalgamiento y 1-Pearson r para medir la distancia. Los valores de lo EMN fueron transformados utilizando el método de Anscombe (1948), donde: “x” es el número de EMN transformados, “n” es el número de células contadas y “X” es el número de EMN por cada 1000 eritrocitos contados en la muestra. Este valor transformado fue utilizado únicamente para efectuar el proceso de correlación con los contaminantes inorgánicos y orgánicos considerados en el estudio.

$$x = \sqrt{\left(n + \frac{1}{2}\right)} \operatorname{arcsen} \sqrt{\frac{X + \frac{3}{8}}{n + \frac{3}{4}}}$$

Para el Pb, Cr, As, Se, Hg y toxafeno la transformación de los datos fue realizada con la expresión:

$$\ln(x - 1)$$

Una segunda normalización fue aplicada para realizar la correlación de la CPUE entre los EMN, utilizando el método de Weitendorf (Turskis et al., 2009):

$$b_y = \frac{a_y - \min a_y}{\max a_y - \min a_y}$$

RESULTADOS

Fuentes de contaminación

De las fuentes de contaminación encontradas en el valle de Mexicali, la actividad agrícola fue la que cubrió la mayor parte, con una extensión total estimada de 2300 km², otra fue la zona urbana que está rodeada por campos agrícolas con un área de 236 km², la industria identificada como fuente de emisiones tuvo una extensión de 24 km², otras fuentes de contaminación encontradas fueron las actividades pecuarias, confinamientos de residuos peligrosos, basureros y rellenos sanitarios (Figura 4).

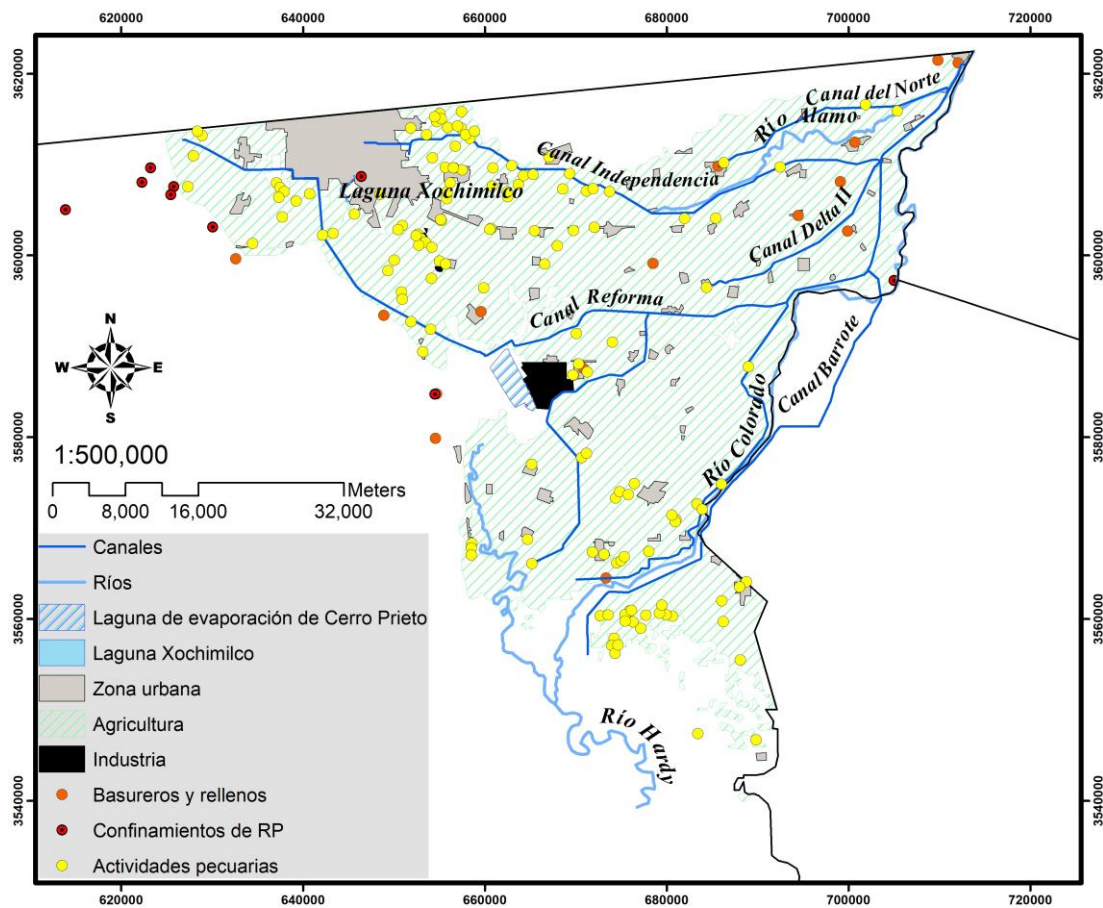


Figura 4. Caracterización del valle de Mexicali, Baja California, México.

Parámetros fisicoquímicos

Fueron tomados datos fisicoquímicos del agua en 28 lugares del Valle de Mexicali (Figura 2), dentro de estos puntos la temperatura tuvo un comportamiento similar en todos los sitios ($\bar{X}=24.7 \pm 4.3^{\circ}\text{C}$) aún con los cuatro puntos del Río Hardy que estuvieron más bajos que los demás (17.87°C a 18.2°C), el pH en la laguna de evaporación de Cerro Prieto ($\bar{X}=6.6$) es ligeramente más básico debido a que muestra niveles inferiores a la media total (8.2 ± 1.4). La conductividad muestra valores bajos en el río Colorado y el canal Reforma (0.39 mS/cm y 1.39 mS/cm , respectivamente) en contraste con los niveles encontrados en la laguna de evaporación de Cerro Prieto ($\bar{X}=48.7 \text{ mS/cm}$); por su parte, la salinidad está ligada a la conductividad por lo que ambas variables muestran una tendencia similar en cada sitio de muestreo, con valores mínimos de 0.1 ppm en el sitio de reforestación CILA del río Colorado y el mayor valor (31.9 ppm) en la laguna de evaporación de Cerro Prieto, con una media de $4.3 \pm 8.1 \text{ ppm}$ en el valle de Mexicali. En el río Colorado los niveles de oxígeno disuelto son más bajos que en el resto ($\bar{X} 3.7 \pm 2.4 \text{ mg/L}$) con valores que oscilan entre 0.2 mg/L y 3.1 mg/L , alejándose de los valores que existen en el canal Reforma ($\bar{X} 6.3 \text{ mg/L}$) que deriva de este. El valor de TDS muy por arriba de la media ($4.6 \pm 12.1 \text{ g/L}$) es el de la laguna de evaporación de Cerro Prieto con un promedio de 41.65 g/L , siendo 40 veces más alto que en el canal Reforma y el río Colorado (0.75 g/L y 0.16 g/L) (Tabla I).

Tabla I. Parámetros fisicoquímicos en diferentes sitios del valle de Mexicali, Baja California, México.

Lugar	Temperatura °C	pH	Conductividad mS/cm	Salinidad ppm	Oxígeno mg/L	TDS g/L
Laguna de evaporación Cerro Prieto ampliación sur	29.82	6.5	48.7	31.7	5.48	41.6
	29.76	6.68	48.7	31.9	5.33	41.7
Promedio	29.79	6.59	48.7	31.8	5.41	41.65
Canal Reforma (Otilio Montaño)	29.94	7.01	1.393	0.8	6.3	0.75
Rio Colorado (Presa Morelos)	23.18	9.97	1.21	0.6	2.5	0.78
Rio Colorado (Ejido Pachuca)	22.76	10.4	1.25	0.7	3.1	0.8
Rio Colorado (Sitio de reforestación CILA)	28.32	7.62	0.155	0.1	0.7	N. A.
	27.43	6.95	0.49	0.1	0.2	N. A.
	26.91	7.03	0.15	0.1	0.5	N. A.
	26.36	7.37	0.15	0.1	0.5	N. A.
	25.74	7.41	0.14	0.1	0.4	N. A.
	30.6	7.6	0.15	0.1	0.4	N. A.
	27.83	8	0.14	0.1	2.9	N. A.
	28.24	8.1	0.14	0.1	0.4	N. A.
Promedio	26.74	8.05	0.4	0.21	1.16	0.16
Rio Hardy (Campo Mosqueda)	24.63	9.76	4.36	2.4	2.3	2.81
Rio Hardy (Campo Sonora)	23.59	10.18	4.42	2.4	1.3	2.84
Rio Hardy (Ejido Cucapá Indígena)	23.03	10.06	2.13	1.1	4	1.37
Rio Hardy (Campo Mil)	17.87	9.44	1.9	1	6.2	1.23
	18.06	10.02	1.93	1	7.3	1.23
	18.2	10.12	2	1.1	6.9	1.28
	17.96	10.23	2.95	1.6	7	1.89
	23	7	8.08	6	5.8	4.4
	22.2	7	8.62	6	5.4	4.3
	21.4	7	8.35	6	3.6	4.17
	21.3	7	8.17	6	4	2.57
	23.2	7	8.88	6	4	4.43
	22.5	7	7.35	6	4.1	3.64
Promedio	21.3	8.6	5.3	3.58	4.76	2.78
Laguna Xochimilco	22.6	10.11	5.81	3.2	4.7	3.71
	34.55	6.75	6.61	3.7	7.8	4.24
Promedio	28.58	8.43	6.21	3.45	6.25	3.98
Total	24.7 ±4.3	8.2 ±1.4	6.6 ±12.3	4.3 ±8.1	3.7 ±2.4	4.6 ±12.1

N. A.= No analizado.

TDS= Total de solidos disueltos.

Abundancia relativa de peces

Los sitios de muestro fueron la Laguna Xochimilco (Figura 5a) que recibe las descargas de la zona norte del valle, el río Hardy (Figura 5b) que recibe el agua residual de los campos agrícolas de la zona sur, el canal Reforma (Figura 5c) que es el alimentador principal de agua para riego, el río Colorado (Figura 5d) como área no contaminada y la ampliación sur de la laguna de evaporación de Cerro Prieto (Figura 5e) como sitio contaminado por descargas industriales.



Figura 5. Sitios de muestro de peces en el valle de Mexicali, Baja California México. a) Laguna Xochimilco, b) Río Hardy, c) Canal Reforma, d) Río Colorado y e) Ampliación sur de la laguna de evaporación de Cerro Prieto.

Se colectaron 13 especies en los muestreos de los diferentes sitios del valle de Mexicali (Figura 6) y un total de 521 organismos. El río Hardy y el Colorado tuvieron el mismo número de especies pero diferente número de organismos, teniendo el primero una captura por unidad y esfuerzo (CPUE) de 4.13 y el segundo de 0.31. La laguna Xochimilco y la laguna de evaporación de Cerro Prieto tuvieron un comportamiento similar, pero con una CPUE de 4.09 y 0.37, mientras que en el canal Reforma se recolectaron pocos organismos y la CPUE más baja con 0.14 (Tabla II).



Figura 6. Diferentes especies de peces capturados en los diferentes sitios de muestreo del valle de Mexicali, Baja California, México. a) Cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius*), b) Mojarra oreja azul (*Lepomis macrochirus*), c) Lobina negra (*Micropterus salmoides*), d) Sardina maya (*Dorosoma petenense*), e) Tilapia vientre rojo (*Tilapia sp. cf. zillii*), f) Mojarra golosa (*Lepomis gulosus*), g) Carpa común (*Cyprinus carpio*), h) Bagre torito amarillo (*Ameiurus natalis*), i) Topote velo negro (*Poecilia latipinna*), j) Mojarra oreja roja (*Lepomis microlophus*), k) Lisa cabezona (*Mugil cephalus*), l) Carpita roja (*Cyprinella lutrensis*) y m) Carpa dorada (*Carassius auratus*).

Tabla II. Especies recolectadas por sitio con el número de organismos y la captura por unidad y esfuerzo (CPUE) en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Especie	Organismos	CPUE
Rio Hardy	<i>Mugil cephalus</i>	74	3.29
	<i>Cyprinus carpio</i>	8	0.36
	<i>Carassius auratus</i>	1	0.04
	<i>Tilapia</i> sp. cf. <i>zillii</i>	2	0.09
	<i>Micropterus salmoides</i>	1	0.04
	<i>Lepomis gulosus</i>	4	0.18
	<i>Cyprinella lutrensis</i>	3	1.00
	Total	93	4.13
Laguna de evaporación Cerro Prieto	<i>Cyprinodon macularius</i>	332	4.09
Rio Colorado	<i>Lepomis macrochirus</i>	17	0.11
	<i>Micropterus salmoides</i>	5	0.10
	<i>Dorosoma petenense</i>	11	0.21
	<i>Cyprinus carpio</i>	9	0.17
	<i>Ameiurus natalis</i>	2	0.04
	<i>Lepomis microlophus</i>	1	0.02
	<i>Tilapia</i> sp. cf. <i>zillii</i>	1	0.02
	<i>Poecilia latipinna</i>	37	0.97
	Total	83	0.31
Laguna Xochimilco	<i>Tilapia</i> sp. cf. <i>zillii</i>	13	0.37
Canal Reforma	<i>Micropterus salmoides</i>	1	0.03
	<i>Lepomis macrochirus</i>	4	0.11
	Total	5	0.14

Micronúcleos

Del total de organismos recolectados, 52 fueron utilizados para la extracción de sangre con el objetivo de revisar el número de EMN por organismo y especie. El número de organismos y especies analizados para micronúcleos por localidad se presentan en la tabla III.

Tabla III. Número de organismos y especies por sitios de muestreo para la toma de muestra de sangre en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Organismos Especies	
Laguna de evaporación Cerro Prieto	14	1
Laguna Xochimilco	5	1
Río Hardy	15	6
Río Colorado	13	7
Canal Reforma	5	2
Total	52	12

Las especies en las que fue detectada presencia de micronúcleos son: Mojarra oreja roja (*Lepomis microlophus*), Mojarra oreja azul (*Lepomis macrochirus*), Carpa común (*Cyprinus carpio*), Topote velo negro (*Poecilia latipinna*), Sardinita roja (*Cyprinella lutrensis*), Lisa cabezona (*Mugil cephalus*), Tilapia vientre rojo (*Tilapia* sp. cf. *zillii*), Lobina negra (*Micropterus salmoides*) y Cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius*) (Figura 7). Las especies con más EMN fueron Tilapia vientre rojo con 7.4 (± 5.77) EMN/10000 junto con el pez Cachorrillo del desierto que se encuentra en la laguna de evaporación de Cerro Prieto con 4.21 (± 3.98) EMN/10000. Los valores de EMN para todas las 12 especies analizadas se describen en la tabla IV.

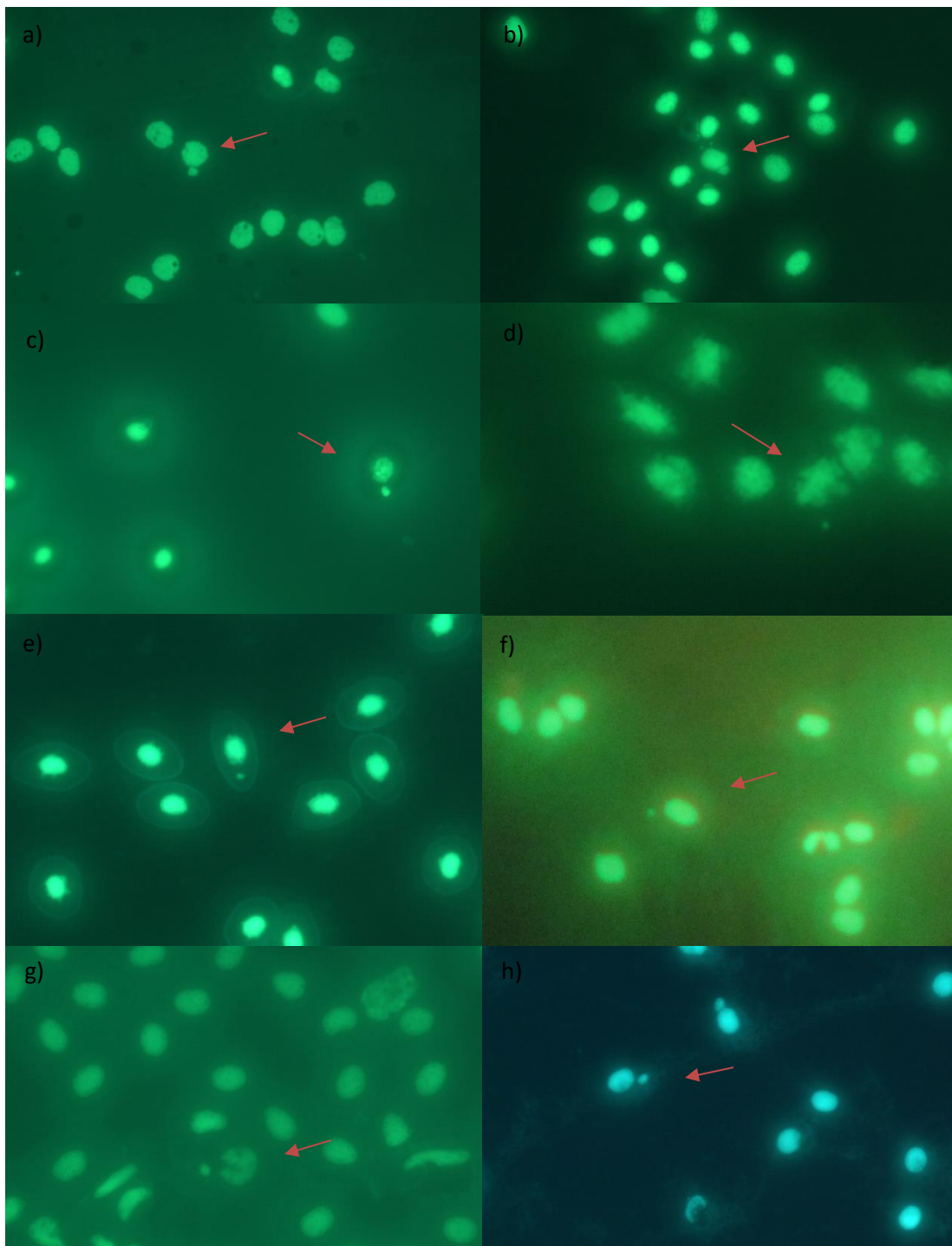


Figura 7. Presencia de micronúcleos en eritrocitos señalados con flechas para diferentes especies de peces en el valle de Mexicali, Baja California, México, (a) Mojarra oreja roja (*Lepomis microlophus*), (b) Mojarra oreja azul (*Lepomis macrochirus*), (c) Carpa común (*Cyprinus carpio*), (d) Sardinita roja (*Cyprinella lutrensis*), (e) Lisa cabezona (*Mugil cephalus*), (f) Tilapia vientre rojo (*Tilapia sp. cf. zillii*), (g) Lobina negra (*Micropterus salmoides*) y (h) Cachorrito del desierto (*Cyprinodon macularius*).

Tabla IV. Valor de EMN/10000 E/ individuo y EMN/10000 E/ Especie en los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Especie	EMN/10000 E/ Individuo	EMN/10000 E/Especie
Río Colorado	<i>Lepomis microlophus</i>	1, 0	0.5 (± 0.71)
	<i>Lepomis macrochirus</i>	0, 1, 0	0.33 (± 0.58)
	<i>Dorosoma petenense</i>	0	0
	<i>Micropterus salmoides</i>	0	0
	<i>Cyprinus carpio</i>	2, 0	1 (± 1.41)
	<i>Ameiurus natalis</i>	0, 0	0
	<i>Poecilia latipinna</i>	1, 1	1
Río Hardy	<i>Cyprinella lutrensis</i>	0, 0, 1	0.33 (± 0.58)
	<i>Cyprinus carpio</i>	0, 0, 0	0
	<i>Mugil cephalus</i>	0, 2, 0	0.67 (± 1.15)
	<i>Lepomis gulosus</i>	0, 0, 0	0
	<i>Caraciuss auratus</i>	0	0
	<i>Tilapia sp. cf. zillii</i>	3, 1	2 (± 1.41)
Canal Reforma	<i>Micropterus salmoides</i>	1	1
	<i>Lepomis macrochirus</i>	0, 1, 1, 0	0.5 (± 0.58)
Laguna Xochimilco	<i>Tilapia sp. cf. zillii</i>	14, 4, 13, 1, 5	7.4 (± 5.77)
Laguna de evaporación Cerro Prieto	<i>Cyprinodon macularius</i>	3, 2, 1, 3, 3, 4, 1, 14, 6, 6, 11, 4, 0, 1	4.21 (± 3.98)

Metales en las muestras de agua

Se analizó la concentración de metales en 12 muestras de agua de los cinco sitios propuestos en el valle de Mexicali. En el río Hardy Pb fue encontrado en mayor concentración (1.26 ppb) en el campo Mil y la menor concentración (0.12 ppb) en el campo Mosqueda; en el resto de los sitios la concentración estuvo por debajo de los 0.23 ppb. Por su parte los niveles de Cr en Cerro Prieto y el río Colorado (sitio de reforestación CILA) obtuvieron la misma cantidad (0.43), siendo las más altas en comparación con el resto de los sitios. El As y el Se presentes en la laguna de evaporación de Cerro Prieto, alcanzaron concentraciones 226 y 17 veces más altas que los otros sitios muestreados (Tabla VII).

Tabla V. Concentración ppb de Pb, Cr, As y Se en el agua de los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Pb (ppb)	Cr (ppb)	As (ppb)	Se (ppb)
Cerro Prieto	0.20	0.43	628.23	22.53
(Laguna de evaporación)	0.19	0.34	635.76	24.35
	0.20	0.33	655.62	23.91
Canal Reforma	0.23	0.29	1.27	0.70
(Otilio Montaño)	0.21	0.31	1.24	0.60
Río Colorado	0.18	0.31	1.64	0.09
(Sitio de reforestación CILA)	0.46	0.43	1.91	0.57
Presa Morelos	<0.02	<1	1.82	0.4
Río Hardy				
(Campo Mosqueda)	0.12	0.17	2.44	1.03
Campo Sonora	0.13	0.21	1.77	0.98
Ejido Cucapá Indígena	0.23	0.27	2.90	0.92
Campo Mil	1.26	0.31	2.18	0.76
Laguna Xochimilco	0.23	0.41	2.40	1.41

Metales en las muestras de Tejido

Se analizó la concentración de metales en siete especies (Tabla V) de tres sitios muestreados (río Hardy, río Colorado y Cerro Prieto). El pez Cachorrillo (*C. macularius*) de Cerro Prieto tuvo la mayor concentración de los metales analizados (Cr, As, Se y Hg), a excepción del Pb donde el Bagre torito amarillo (*A. natalis*) del río Colorado fue mayor. En el mismo pez, los niveles de Hg fueron 34 veces mayores que la menor concentración obtenida por la Lisa cabezona (*M. cephalus*) del río Hardy. Por su parte, la Carpa común (*C. carpio*) fue analizada en los dos ríos (Hardy y Colorado), obteniendo una mayor concentración de As, Se y Hg en el río Colorado (Tabla V).

Tabla VI. Concentración de metales (Pb, Cr, As, Se y Hg) obtenidos de tejido (músculo e Hígado/viseras) en diferentes especies del río Hardy, río Colorado y Cerro Prieto, en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Especie	Tejido	Pb (ppm)	Cr (ppm)	As (ppm)	Se (ppm)	Hg (ppb)
	Límite de detección		0.01	1.0	1.0	0.1	0.006
Río Hardy	<i>M. cephalus</i>	Músculo	0.08	< 1	1.7	2.5	53
	<i>T. sp. cf. zillii</i>	Músculo	< 0.01	< 1	1.5	3.2	72
	<i>C. carpio</i>	Músculo	0.04	< 1	0.2	3.2	173
Río Colorado	<i>L. microlophus</i>	Músculo	0.06	< 2	0.3	5.3	61
	<i>L. macrochirus</i>	Músculo	0.09	< 3	0.3	6.3	98
	<i>A. natalis</i>	Músculo	0.58	< 2	< 0.2	3.4	229
	<i>C. carpio</i>	Músculo	0.04	< 1	0.9	8.3	356
Cerro Prieto	<i>C. macularius</i>	Hígado/visceras	0.77	< 10	12.2	26.1	2400
		Músculo	0.49	< 10	8.3	13.4	1800

Toxafeno en las muestras de tejido de peces

El análisis de toxafeno en tejido (Músculo axial) se llevó a cabo en 10 especies de 12 organismos en 4 sitios de muestreo. El promedio de la concentración del toxafeno total (Σ TOX) en peces del valle de Mexicali fue de 765.5 ng/g (\pm 296.6). En los peces de la laguna de Cerro Prieto se obtuvo una concentración 4 veces más elevada en comparación con los otros sitios. En los peces del río Hardy se obtuvo un promedio parecido al del canal Reforma, mientras que para los del río Colorado se obtuvo un promedio de 221.7 ng/g (\pm 272.3). Las especies con mayor concentración de Σ TOX fueron el *C. macularius* (787 ng/g), *P. latipinna* (690.3 ng/g) y *C. carpio* (505.4 ng/g), esta última especie en el río Hardy obtuvo la menor concentración (45.2 ng/g) (Tabla VI). En la figura 8, se muestra el cromatograma de las cuatro especies con mayor concentración de toxafeno total (Σ TOX) calculado por la suma de los iones analizados (343, 379, 413 y 430) entre los minutos 25 a 51. La composición de los grupos homólogos del Σ TOX en el valle de Mexicali,

fue de 22.58 % (57.6 (±50.1)) para el grupo homólogo 7-Cl, 8.5 % (21.7 (±26.6)) para 8-Cl y 68.9 % (175.8 (±213.5)) para el grupo 9-Cl. En la composición de grupos por especies y sitios de muestreo se observó una tendencia parecida al del Σ TOX donde el grupo 8-Cl tiene el menor porcentaje y el grupo 9-Cl predomina en los valores ocupando la mayor parte del porcentaje (49.48% - 81.44%) (Figura 9).

Tabla VII. Concentraciones de toxafeno total y grupos homólogos (7-Cl, 8-Cl y 9-Cl) expresada en ng/g, con el promedio y la desviación estándar (DS), de los blancos y de las especies en los diferentes sitios de muestreo en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Sitio	Especie	Tipo de Alimentación	TOX 7-Cl	TOX 8-Cl	TOX 9-Cl	Σ TOX
Río Hardy	<i>C. carpio</i>	Omnívoro	25	9.9	23.4	58.3
	<i>M. cephalus</i>	Detritívoros	24.8	11.5	101.2	137.6
	<i>T. sp. cf. zillii</i>	Omnívoro	31.1	13.3	37	81.4
	<i>C. carpio</i>	Omnívoro	177.3	102.4	225.7	505.4
	Promedio (±DS)		64.6(±75.2)	34.3(±45.4)	96.8(±92.4)	195.7 (±209.2)
Canal Reforma	<i>M. salmoides</i>	Piscívoro	28.3	5.7	215.6	249.6
	<i>L. macrochirus</i>	Omnívoro	63.5	22.7	48	134.3
	Promedio (±DS)		45.9(±24.9)	14.2(±12)	131.8(±118.5)	192 (±81.5)
Cerro Prieto	<i>C. macularius</i>	Omnívoro	122.1	23.9	641	787
Río Colorado	<i>D. petenense</i>	Partículas y filtrador	19.5	7.3	18.9	45.7
	<i>P. latipinna</i>	Herbívoro	95.7	30.1	564.4	690.3
	<i>L. microlophus</i>	Malacófago	51.1	13.5	35.5	100.1
	<i>A. natalis</i>	Omnívoro	41.2	16.6	169.2	227.0
	<i>C. carpio</i>	Omnívoro	11.8	3.6	29.7	45.2
	Promedio (±DS)		43.9(±33)	14.2(±10.2)	163.5(±232.4)	221.7 (±272.3)
Blancos	1		B.L.D	B.L.D	B.L.D	B.L.D
	2		B.L.D	B.L.D	B.L.D	B.L.D
	Fortificado		44.61	22.31	132.84	199.8
	Σ TOX		57.6(±50.1)	21.7(±26.6)	175.8(±213.5)	765.5 (±296.6)

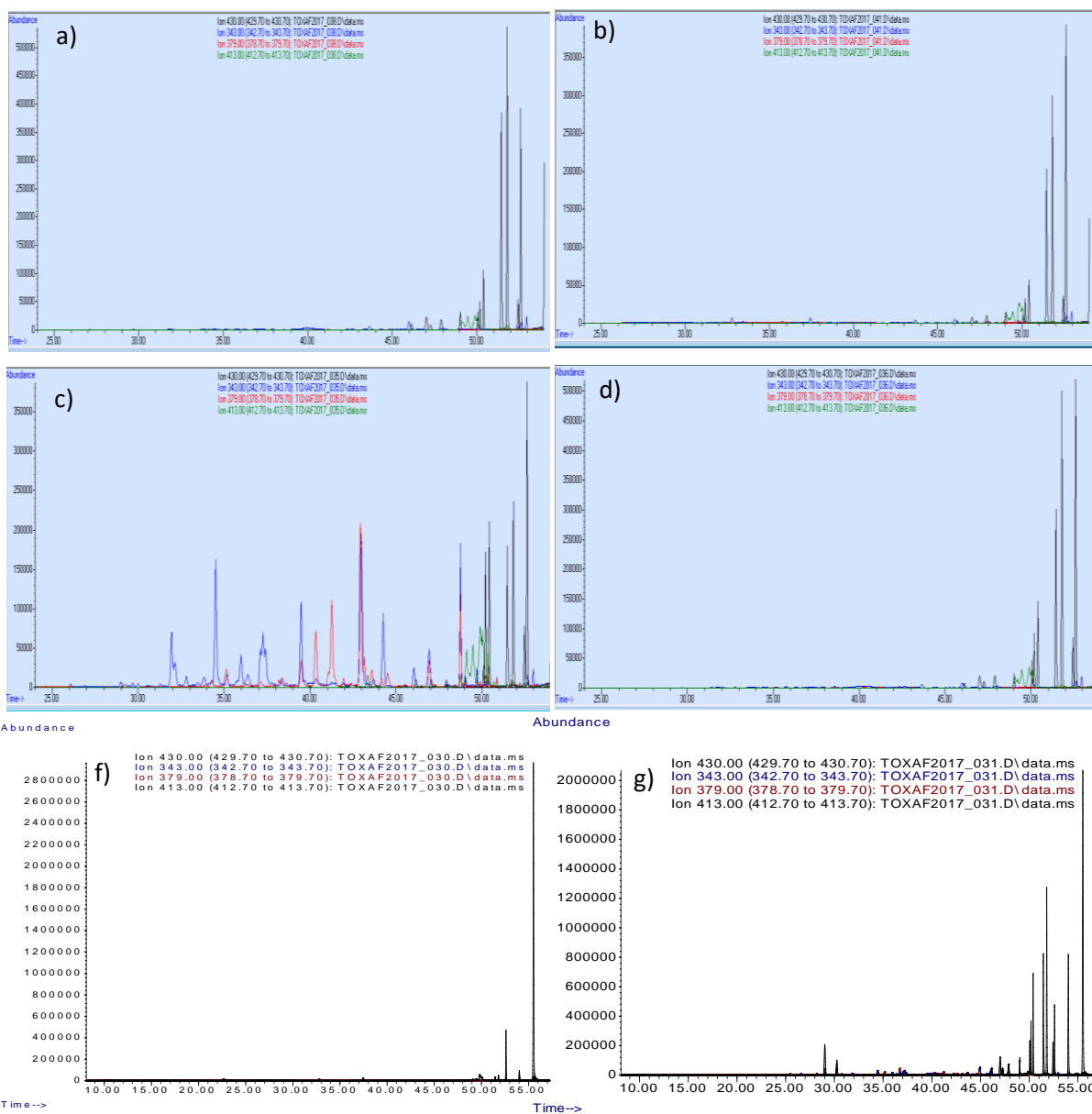
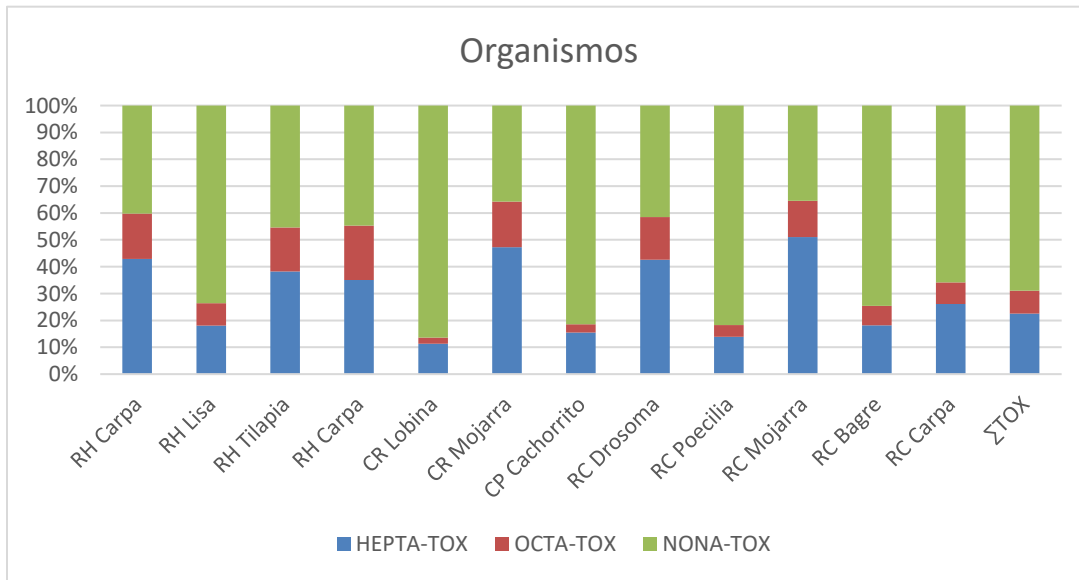


Figura 8. Cromatogramas con los iones analizados (343, 379, 413 y 430) del minuto 25 al 54, en las cuatro especies con más Σ TOX y dos blancos, en el valle de Mexicali, Baja California, México. (a) *C. macularius*, (b) *P. latipinna*, (c) *C. carpio*, (d) *M. salmoides*, (e) muestra blanco y (f) muestra blanco fortificado.

a)



b)

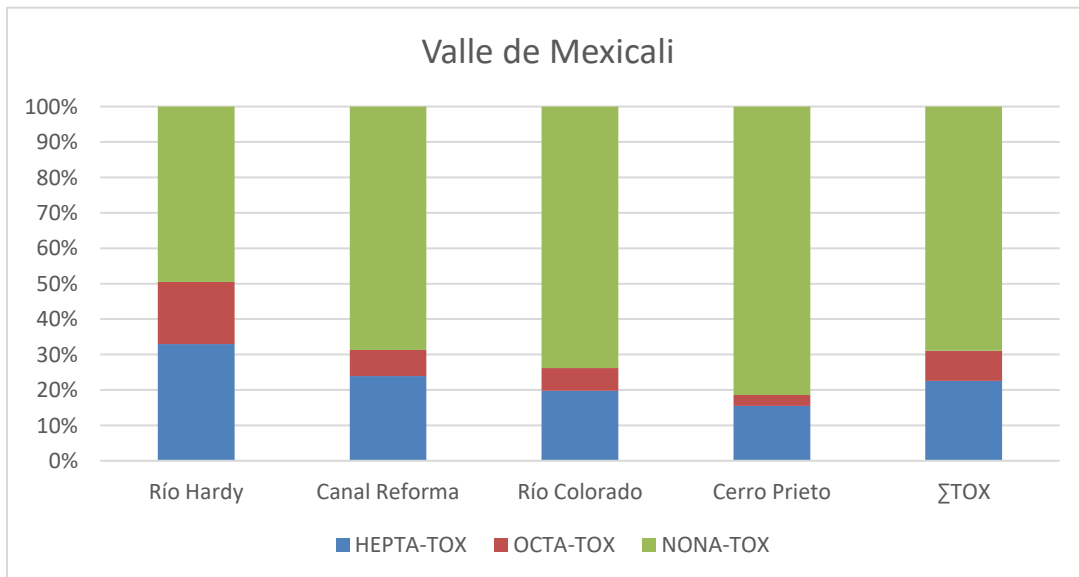


Figura 9. Porcentaje de los grupos homólogos del toxafeno (7-Cl, 8-Cl y 9-Cl) en peces del valle de Mexicali, Baja California, México. (a) En los organismos analizados por especie y (b) por cuerpo de agua.

Correlación de Compuestos inorgánicos en agua (Pb, Cr, As, Se y Hg) con EMN

Para el análisis de correlación se excluyeron las muestras de la laguna de evaporación de Cerro Prieto para evitar un sesgo al sobreponderar este sitio, por sus características artificiales, ya que los valores de los compuestos analizados son mayores a las demás ubicaciones muestreadas (Anexo 1). Los resultados obtenidos de la regresión lineal señalan que el Se tiene un valor de $r = 0.59$ y está significativamente ($p = 0.00007$) correlacionado a los eritrocito micronucleados (EMN) como se muestra en la figura 10. También para el As se observa una correlación significativa ($r = 0.32$ y $P = 0.049$) con los EMN, aunque es menor al Se. Los valores obtenidos para Cr y Pb no denotan correlación ya que no son significativos ($P = 0.29$ y $P = 0.06$, respectivamente). En el dendrograma de agrupamiento y distancia (Figura 11), la variable del Se es corta entre el número de EMN agrupándose entre sí a 0.4 unidades, evidenciando la relación en ambos. En el segundo grupo a 0.48 unidades de distancia se encuentran el Pb y el As, finalizando con el Cr que se une a estos dos grupos a 1.38 unidades, observándose que no tiene correlación con los EMN/10000 E y el resto de los metales.

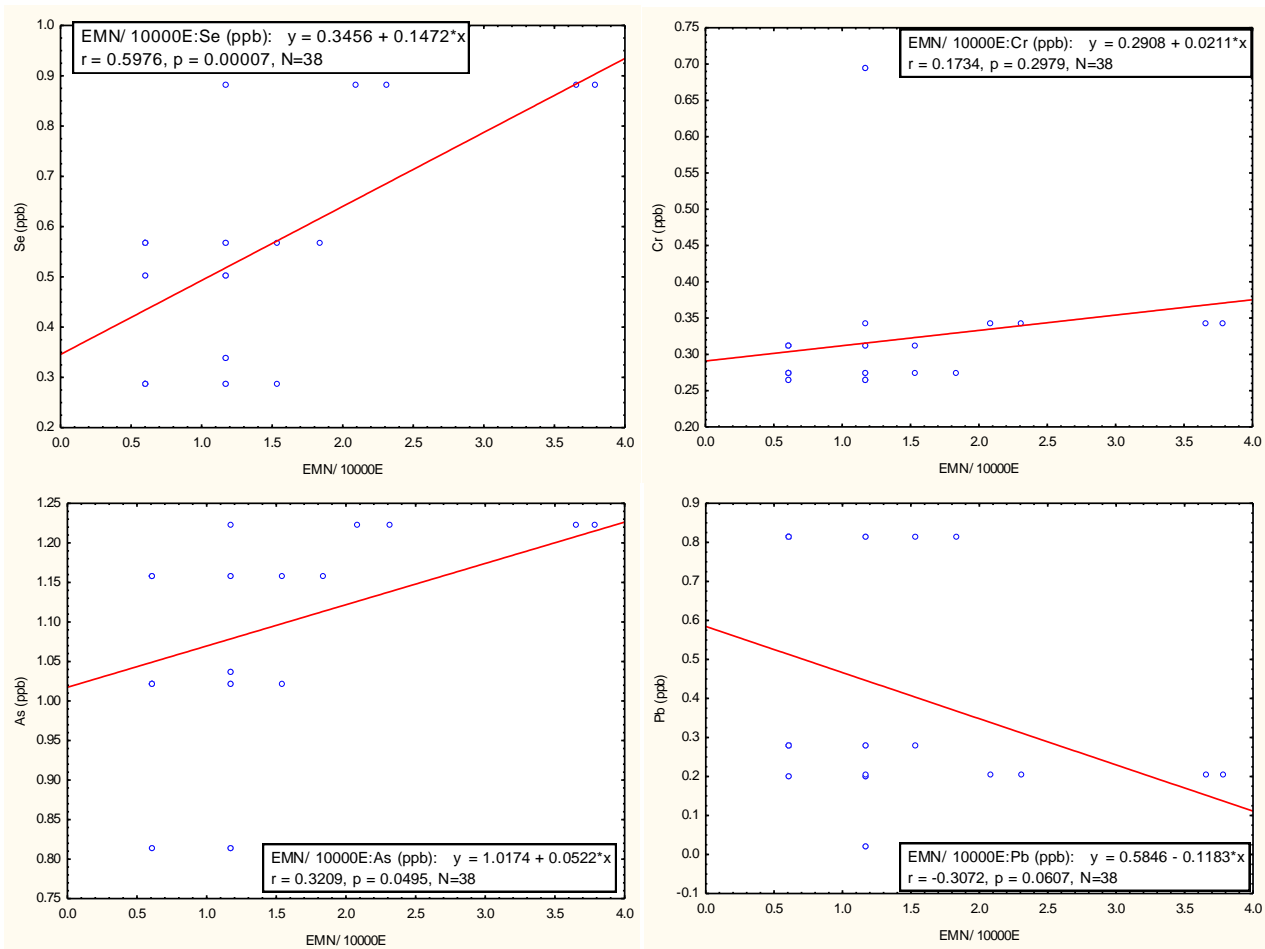


Figura 10. Regresión lineal entre los compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As y Se) del agua y los EMN/10000 E en el valle de Mexicali, Baja California, México.

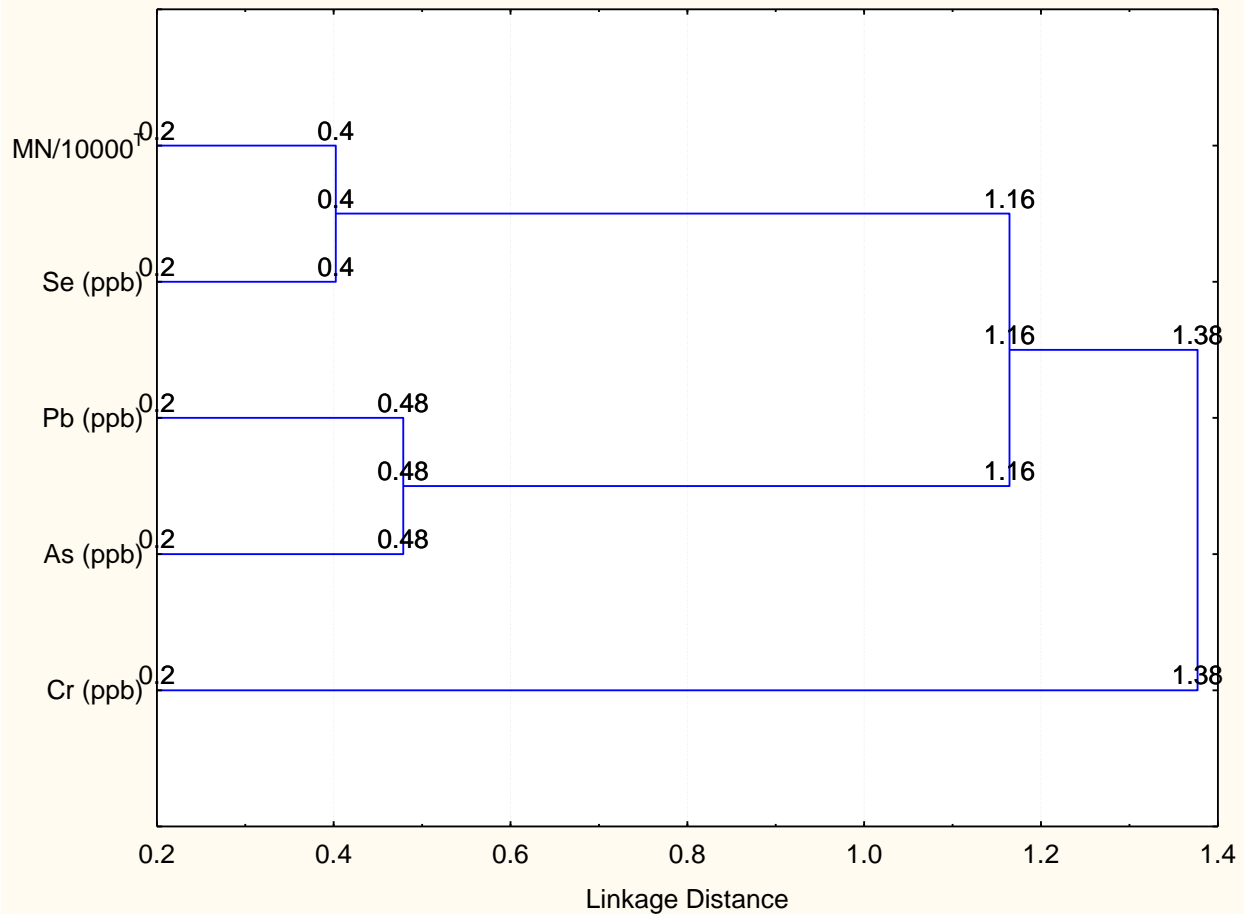


Figura 11. Distancia y agrupación entre las variables As, Se, Cr, Pb y EMN/10000 E, con el método de Ward y 1-Person r en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Correlación Compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As, Se y Hg) y orgánicos (Toxafeno) en tejido con EMN

Dentro de la correlación de los contaminantes en el tejido y el daño genético (Tabla VIII) los resultados señalan que los EMN/10000 E están significativamente correlacionados con el As de 0.9073, seguida por él Se con 0.6838, los demás compuestos tienen valores de Pearson alejados a 1, lo que indica que no tienen correlación y no son significativos, como el Pb que no se

correlaciona con los EMN con un valor de Person de 0.3469 y no es significativo ($p=0.400$). Para facilitar la exploración de la relación entre las variables se preparó un dendrograma (Figura 12) con base en la distancia euclidiana. Se obtuvieron tres grupos: el primero está unido a una distancia de 0.09 conformado por las variables EMN/10000 E y As, denotando la relación de esta última con el daño genético. En el segundo grupo formado a una distancia de 0.15 se encuentran las variables de Se y Hg que junto al tercer grupo, formado a una distancia de 0.16 por el Toxafeno, Cr y Pb se unen al primer grupo hasta una distancia de 0.71, indicando una menor correlación grupal al daño genético.

Tabla VIII. Matriz de correlación entre los compuestos inorgánicos (Pb, Cr, As, Se y Hg), orgánicos (Toxafeno) del tejido axial y los EMN/10000 E en el valle de Mexicali, Baja California, México.

Variables	EMN/10000	TOX	Pb	Cr	As	Se	Hg
EMN/10000	1.0000						
TOX	.5957 $p=.119$	1.0000					
Pb	.3469 $p=.400$.9007 $p=.002$	1.0000				
Cr	.6827 $p=.062$.9191 $p=.001$.8200 $p=.013$	1.0000			
As	.9073 $p=.002$.7667 $p=.026$.5317 $p=.175$.8088 $p=.015$	1.0000		
Se	.6838 $p=.061$.5440 $p=.163$.5122 $p=.194$.8001 $p=.017$.6969 $p=.055$	1.0000	
Hg	.5535 $p=.155$.6624 $p=.073$.7424 $p=.035$.8181 $p=.013$.6846 $p=.061$.8549 $p=.007$	1.0000

Resaltados en negritas las correlaciones significativas a un valor de $p < .05$

N=8

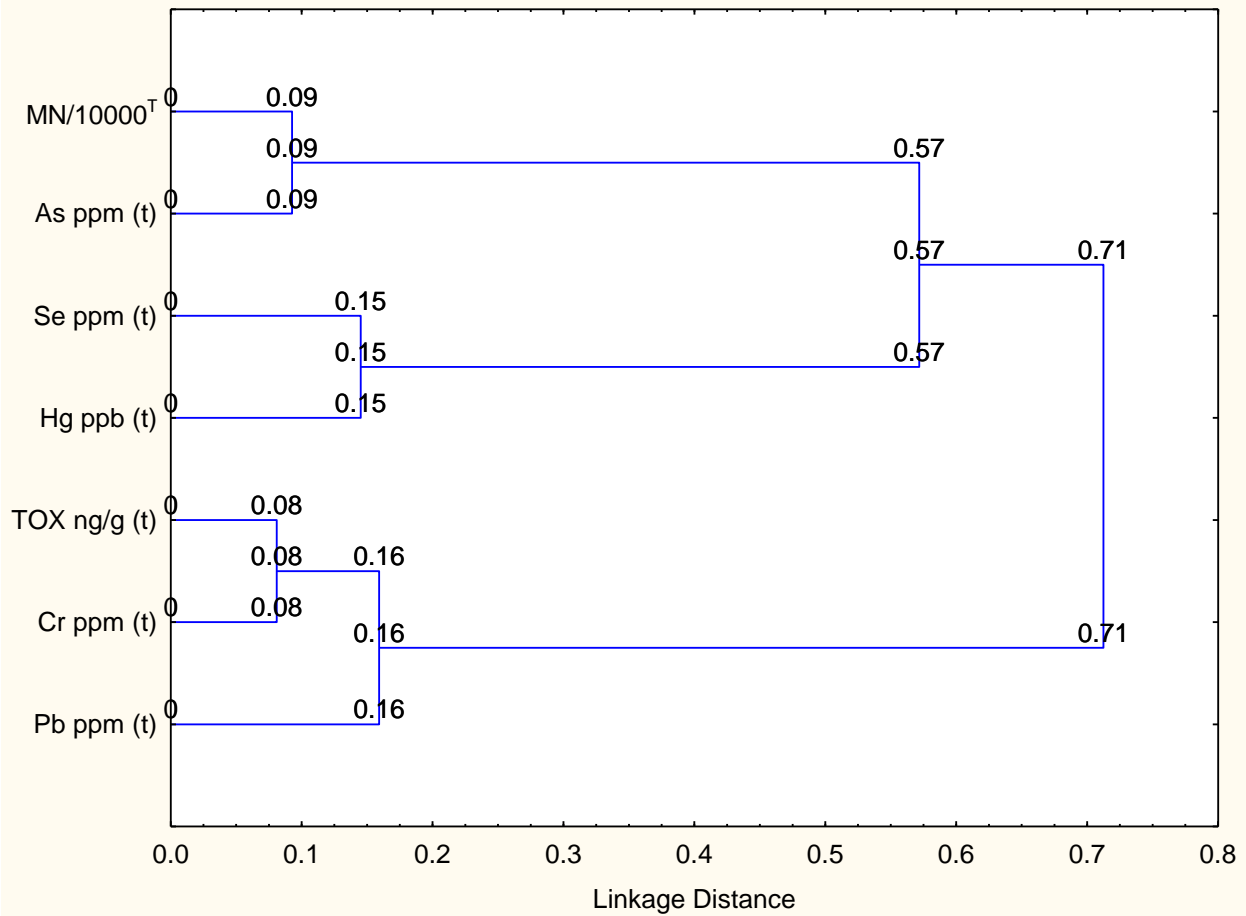


Figura 12. Distancia y agrupación entre las variables As, Se, Cr, Hg, Pb, Toxafeno y EMN/10000 E, con el método de Ward y 1-Person r en el valle de Mexicali, Baja california, México.

Correlación entre la abundancia relativa de peces y EMN

En la figura 13 se muestran los resultados de la correlación lineal entre las variables EMN con respecto a la CPUE. La correlación no es significativa debido a que el valor de $P= 0.885$, además se observa poca relación en el valor de $r (0.0243)$ ya que está muy alejado de 1, indicando que no existe una dependencia entre las variables.

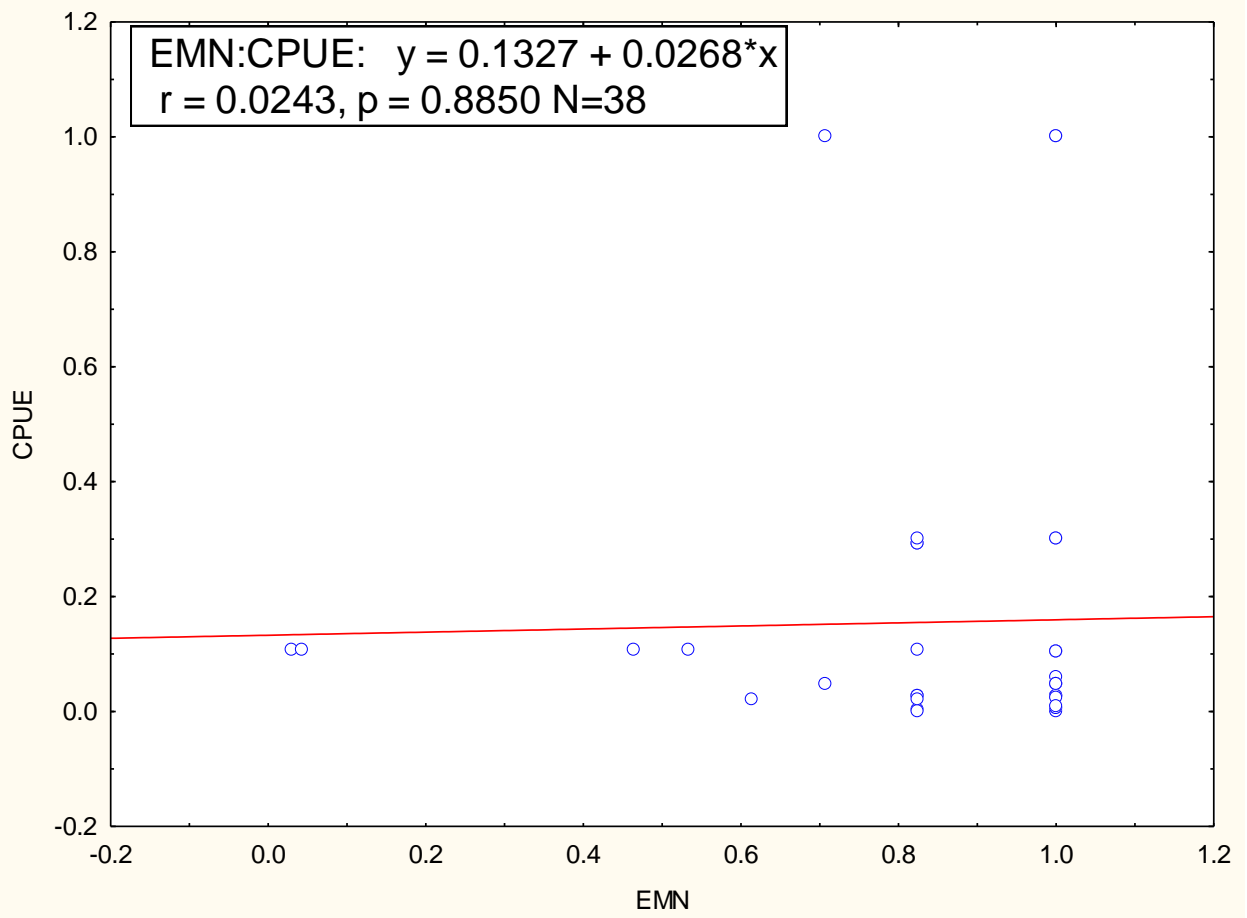


Figura 13. Correlación lineal de Pearson de las variables As, Se, Toxafeno y EMN respecto a la CPUE en el valle de Mexicali, Baja california, México.

DISCUSIÓN

De las fuentes de contaminación identificadas en el valle de Mexicali, Baja California, la agricultura fue identificada como la actividad que aporta el mayor número de compuestos contaminantes al ambiente. Esto se atribuye a las descargas que se generan sin que se conozca el sitio preciso de donde éstas surgen, quién o quiénes son los directamente responsables de la contaminación, ni cuánto contribuyen a ésta. Es notorio que las actividades agrícolas no están reguladas apropiadamente y que en la actualidad las prácticas productivas en este sector son las principales responsables de la contaminación de los cuerpos agua y los acuíferos (Shortle et al., 2001). Al respecto, Aguilar & Pérez (2008) mencionan que un alto porcentaje de la contaminación de los cuerpos de agua en México se origina por las actividades agropecuarias; donde un tercio corresponde a desechos animales y otro tanto a la escorrentía de agroquímicos procedente de los cultivos, implicando que aquellos sitios con mayor superficie de agricultura y ganadería tienen mayor riesgo de generar cuerpos de agua contaminados.

En el contexto del valle de Mexicali, especialmente en los cultivos tradicionales, se sigue utilizando una gran cantidad de plaguicidas prohibidos o eliminados en los Estados Unidos por su nivel de toxicidad y daño para la salud humana (Moreno-Mena & López-Limón 2005). El toxafeno que se encontró en el presente estudio en el tejido de peces, corrobora que el pasivo ambiental de aplicaciones de compuestos orgánicos data de hace aproximadamente 30 años.

En el sector de la transformación, la industria con mayor presencia y fuente de contaminación es la Planta Geotérmica de Cerro Prieto, ya que actualmente se tiene una capacidad instalada de 720 MW y se extraen aproximadamente 5800 toneladas por hora (t/h) de vapor, para

cumplir las demandas de producción (Dumas, 2009); García-Hernández (2013) a partir de la línea base de emisiones de 1973, calcula que la planta puede ser potencialmente liberadora de 364 kg de mercurio/ año, del cual 90% termina en los cuerpos de agua. Además, García-Hernández (2013) en su trabajo de identificación de sustancias químicas de prioridad potencial en el río Colorado, señaló que el incremento de metales como Hg y As se debe a las emisiones de la planta geotérmica de Cerro Prieto. Respecto a otras fuentes de contaminación, los basureros y el mal manejo de la basura junto con las descargas agrícolas ocasionan 70% de la contaminación de los cuerpos de agua en nuestro país (Aguilar & Pérez, 2008). Por otra parte, los confinamientos no son suficientes para los residuos tóxicos, por lo que actualmente se estima que existen cerca de 3,000 m³ de desechos tóxicos almacenados en plantas o en basureros clandestinos y sin regulación alguna (Valdez-Salas et al., 2000).

En los muestreos de las características fisicoquímicas del agua en el área de estudio, la laguna de evaporación de Cerro Prieto registró los niveles de pH más bajos, que en el resto de los sitios analizados, ya que los fluidos geotérmicos comúnmente tienen un pH neutro o más bajo que puede llegar a ser corrosivos por ser ácido (Nogara & Zarrouk, 2017). La salinidad y la conductividad en el río Hardy, la laguna Xochimilco y laguna de evaporación de Cerro Prieto, están por arriba del río Colorado y el canal Reforma. El río Hardy y la laguna Xochimilco se forman por recibir descargas de los campos de cultivo, motivo por el cual probablemente se incrementan la cantidad de cationes aportado por el lavado de los suelos.

Las especies identificadas en el valle de Mexicali fueron previamente descritas por Ruiz-Campos et al. (2012) para la parte baja de la cuenca mexicana del río Colorado, donde con excepción del

pez cachorrito del desierto (*Cyprinodon macularius*), todas son de origen exótico. Esta última especie se encuentra catalogada como en peligro de extinción en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Ruiz-Campos et al., 2014). Las capturas por unidad y esfuerzo dentro de las especies *Poecilia latipinna* (0.97), *Cyprinella lutrensis* (1), *Micropterus salmoides* (0.17) y *Tilapia sp. cf. zillii* (0.11) definidas en este trabajo, varían con las mencionadas en Varela-Romero et al. (2002), 18.82, 3.22, 0.1 y 9.66 (en el orden anteriormente mencionadas), con un incremento de la CPUE. Estos valores pueden variar dependiendo del arte de pesca, el número de eventos y el tiempo (Jiao et al., 2006). El hecho de que *Cyprinodon macularius* tenga la CPUE mayor, es debido a la gran capacidad eurihalina de esta especie, ya que la alta salinidad que prevalece en la laguna de evaporación de Cerro Prieto favorece su presencia. En este sentido, la alta salinidad en este sistema geotérmico constituye una fuerte barrera química que impide la invasión de especies exóticas de mediana a baja tolerancia a la salinidad (Varela-Romero et al., 2002).

En el río Colorado la presencia de un flujo continuo de agua dulce, de sedimentos y nutrientes favorece la creación de humedales que ofrecen alimento y crianza para muchos peces, razón por la cual hay un mayor número de especies que en los otros sitios (Valdés-Casillas et al., 1998). El río Hardy cuenta con una conectividad al río Colorado supeditada a la temporalidad y el régimen hidrológico (Calvo-Fonseca, 2010), por lo que sus especies ícticas son similares. En los sitios restantes la disminución de las especies es por la diferencia de arte de captura. Por ejemplo, en el canal Reforma las trampas y la red experimental fueron ineficientes por la corriente que las arrastró o las llenó de basura. En la laguna Xochimilco, la especie *Tilapia sp. cf. zillii* es la dominante debido a que es uno de los peces exóticos más invasivos de la Península de

Baja California y en la cuenca baja del río Colorado ha causado el declive poblacional del pez cachorrito del desierto (Ruiz-Campos et al., 2012, 2014).

En lo que respecta a la genotoxicidad, evaluada con el número de eritrocitos micronucleados (EMN) en peces, en el valle de Mexicali la mayoría de los organismos analizados estuvieron por debajo de los valores de micronúcleos espontáneos comparados con organismos en condiciones óptimas que se reportan en la literatura. Ayllon y Garcia-Vazquez (2000) al evaluar ocho organismos de *P. latipina* obtuvieron un promedio de 0.187 ± 0.403 EMN. En la carpa común (*C. Carpio*) el promedio obtenido fue bajo 1 ± 1.41 en comparación con los 6.2 ± 1.2 de lo que encontró Al-sabati (1986). *C. auratus* que es ampliamente utilizado para medir genotoxicidad debe tener alrededor de 2.26 ± 0.36 EMN (Cavas, 2008). En la especie *Tilapia sp. cf. zillii* la media de EMN obtenida fue siete veces mayor que la obtenida por Ahmed et al. (2011) que fue de 0.8. Para el caso de *C. macularius*, una de las dos especies con más EMN sobrepasa los EMN espontáneos de 0.44 ± 0.52 (Flores-Galvan et al., 2017). Del resto de las especies que tuvieron EMN, los valores estuvieron por debajo de los EMN espontáneos descritos por otros autores para *M. cephalus* 1.26 ± 0.40 (Ergene et al., 2007), *L. macrochirus* 1.2 ± 1.6 (Torres-Bugarín et al., 2007) y *M. salmoides* 0.113 ± 0.038 (Braham et al., 2017).

Los niveles de As en agua (1.77-2.9 ppb) y Se (0.92-1.03 ppb) descritos en este estudio para el río Hardy, están por debajo de los niveles observados por García-Hernández et al (2013) para el mismo sitio (As 63.7-1869 ppb y Se 0.8-7.5 ppb). Por otra parte, las concentraciones obtenidas comparadas con los límites permisibles en descargas de agua señalados en la norma mexicana NOM-001-ECOL-1996, el As en la laguna de evaporación de Cerro Prieto se encuentra tres veces

más elevado (639.87 ppb) que el límite que marca la norma con 200 ppb, los demás metales están por debajo de lo señalado por la esta norma.

Las concentración de Se registrada en este estudio para *M. cephalus* (2.5 mg/kg) es más alta que aquella reportada por Gutiérrez-Hernández et al. (2013) de 1.3 mg/kg. Para Hg en el presente trabajo (0.053 mg/kg) para la misma especie, es menor que el descrito (0.09 mg/kg) por Gutiérrez-Hernández et al. (2013). El mismo autor también determinó niveles de As, Hg y Se en *T. Zillii* (6.8 mg/kg y 0.13 mg/kg y 0.5 mg/kg respectivamente), que son más altos que los determinados en este estudio para la misma especie a excepción del Se que es menor. La concentración de Hg en *C. carpio* y *A. natalis* (0.356 mg/kg y 0.229 mg/kg) varía entre los ríos (Colorado y Hardy), siendo más alta en el Colorado, a diferencia de los datos obtenidos en *T. mossambica* por Gutiérrez-Galindo et al. (1988a), que señalan que los peces del río Hardy tienen mayor concentración de Hg (0.02 a 0.13 mg/kg) en comparación con peces de sitios alejados de este. Esto pudiera indicar que tras 30 años en el río Colorado se han incorporado nuevas fuentes de contaminación que probablemente han incrementado el nivel de Hg acumulado en el tejido muscular de los peces.

La concentración elevada de Pb, Cr, As, Se y Hg en el pez cachorrillo del desierto se debe al origen del agua, ya que durante la circulación en el proceso geotérmico la composición del agua se altera a través de la interacción con la roca circundante y puede recibir componentes químicos de la desgasificación del magma. Esto tiene como consecuencia fluidos geotérmicos con químicos con concentraciones que tienen efectos adversos en la fauna, flora, atmósfera y suelo (Nyongesa, 2004). Los niveles encontrados en el tejido de los peces *A. natalis* y *el C.*

macularius en relación a la norma mexicana NOM-242-SSA1-2009 (que señala los límites permisibles de metales en tejido de peces comestibles) están por arriba de los niveles de Pb (0.5 ppm) con concentraciones de 0.58 ppm y 0.77 ppm, respectivamente. Comparados con los límites internacionales señalados por Bosch et al. (2016), sobre los niveles permitidos de metales en tejido de peces para consumo, el *C. macularius* supera los límites de As (2-3 ppm) y Hg (500-1000 ppm) con concentraciones de 12.2 ppm para el As y 2400 ppm para el Hg. Todas las especies analizadas en este estudio superan el nivel de Se (03ppm) permitido, con concentraciones mínimas de 2.5 ppm y máximas de 26.1 ppm.

El toxafeno total encontrado en los peces del valle de Mexicali indica que el toxafeno que determinó Sánchez-Osorio (2014) de Σ TOX en sedimentos (6.6 ng/g (\pm 3.3)), suelo (84.2 ng/g (\pm 172.8)) y aire (904.7 ng/g (\pm 1020.8)) en el mismo sitio, probablemente se esté acumulando en el tejido de los peces como sugiere Stapleton et al. (2001). Existen dos rutas de exposición, la primera es por el fitoplancton, zooplancton y el material de algas que están asimilando toxafeno en los procesos de intercambio (aire-agua), exponiendo la cadena alimenticia pelágica a través de la transferencia trófica y la segunda por la sedimentación rápida del material orgánico y refractario en la columna de agua afectando a los organismos bentónicos. Por lo mencionado anteriormente, las tres especies con mayor concentración de toxafeno pueden derivarlo de su dieta y del ambiente. Por ejemplo *P. latipinna* tiene una dieta herbívora y está expuesto a una de las rutas mencionadas. Por otro lado, *C. macularius* es omnívoro y está en un ambiente cerrado por lo que puede comer lo disponible, exponiéndose a ambas rutas de exposición. Sin embargo, las especies que son depredadoras como *M. salmoides* y *L. microlophus* no tienen concentraciones altas de Σ TOX (249 ng/g y 100.1 ng/g,

respectivamente), aunque existe evidencia de que las especies depredadoras tienen niveles altos de toxafeno pero este se encuentra acumulado en el tejido adiposo, el cual no fue analizado. Además, los peces depredadores contaminados son fuente importante de toxafeno al ser consumidos por depredadores mayores como aves o mamíferos (Maruya & Lee, 1998). La composición de los grupos homólogos para la mezcla técnica del toxafeno de acuerdo a Korytár et al. (2003), está formada por 9.6% de homólogos con 5-Cl y 6-Cl, 33% de homólogos 7-Cl, 42% de homólogos 8-Cl, 14% de homólogos 9-Cl y 1.4 de homólogos 10-Cl y 11-Cl, diferencia notoria en los diferentes sitios del valle de Mexicali y el Σ TOX, los cuales obtuvieron una dominancia del grupo 9-Cl, después 7-Cl y por último 8-Cl indicando que hay degradación por la pérdida de Cl en el grupo 8-Cl en comparación con el toxafeno técnico (Vetter & Oehme, 2000). Por otro lado, el toxafeno puede llegar a ser cancerígeno y mutagénico (USEPA, 1999), por eso indica que en tejido húmedo no debe de sobrepasar los 180 ng/g. En los resultados obtenidos el *C. carpio* (505.4 ng/g), *M. salmoides* (24.96 ng/g) y *A. natalis* (227 ng/g) están por arriba de lo señalado y pueden interferir en la salud pública (Leonards et al., 2011). En *C. macularius* y *P. latipinna* también están por arriba del límite; no son especies consumibles pero sí de importancia ecológica (Ruiz-Campos et al., 2014).

La correlación entre los eritrocitos micronucleados (EMN) de peces y los metales en agua establece que hay evidencia estadística para decir Se y As ($P=0.00007$ y 0.0495 , respectivamente) están causando algún tipo de daño genético. Así lo señaló Al-Sabti (1994) cuando encontró que la exposición a Se (250 ng/5 mL) evidencia completamente una elevada frecuencia relativa de micronúcleos. Ahmed et al. (2011) mencionan que el potencial

genotóxico de las concentraciones agudas de As (3 ppm) sugiere una seria preocupación por sus posibles peligros para los organismos acuáticos.

La concentración de compuestos inorgánicos y toxafeno en el tejido axial de los peces en relación con los EMN, también indica que el As y Se están correlacionados a los micronúcleos. Una concentración de Se entre 8-16 mg/kg puede provocar problemas reproductivos, teratogénesis, mortalidad y mutagénesis a causa de la acumulación (USFWS 1987). Por lo contrario el Pb no tiene correlación con los micronúcleos y no es causante en este estudio de ningún aumento significativo en las frecuencias de MN. En altas concentraciones pudiera ser un agente aneuógeno, como un veneno de huso causando pérdida cromosómica debido a la falla del huso (Cavas, 2008). En cambio, la mezcla técnica de toxafeno es genotóxica, sin embargo, puesto que el toxafeno es una mezcla química tan compleja, la estructura química de la genotoxina de acción directa permanece desconocida (Carpenter 2013), por lo que la correlación entre los EMN no es significativa. Estadísticamente no existe una correlación entre el número de EMN y la abundancia relativa de peces.

CONCLUSIONES

El presente estudio es un aporte al conocimiento de los contaminantes orgánicos e inorgánicos en el valle de Mexicali y sus implicaciones para el medio ambiente, la comunidad de peces y las actividades económicas de la región. En especial lo que respecta al uso de los cuerpos de agua, que son importantes no solo por el uso agrícola, sino para otras actividades como el turismo, la generación de la energía geotérmica, la extracción minera, la pesca de subsistencia y la deportiva. Se puede concluir que:

1. Las fuentes identificadas que probablemente contribuyen más a la contaminación en el valle de Mexicali son la actividad agrícola, seguida por la industria de la transformación.
2. La contaminación de fuentes agrícolas e industriales en el agua pueden variar los niveles de salinidad, pH, conductividad y oxígeno disuelto en los cuerpos de agua del valle de Mexicali.
3. La mayoría de las especies encontradas en el valle de Mexicali son exóticas a excepción del pez cachorrito del desierto (*C. macularius*), además es la especie más abundante pero está restringida a la laguna de evaporación de Cerro Prieto.
4. *T. sp. cf. zillii* y *C. macularius* tuvieron el mayor número en la media de EMN, el resto de las especies está por debajo de los MN espontáneos reportados en otros trabajos.
5. Las especies del río Colorado analizadas contienen concentraciones más elevadas de Se y Hg en comparación con las del río Hardy.

6. La alta concentración de As, Se y Hg en el tejido de *C. macularius* en la laguna de evaporación de Cerro Prieto, se asocia al proceso geotérmico y la concentración elevada de estos en el agua.
7. La concentración de Pb en el tejido consumible de *C. macularius* y *A. natalis* está por arriba de los límites permisibles de metales señalados en la NOM-242.
8. El As y Hg en el tejido axial de *C. macularius* supera los límites de las normas internacionales que señala los niveles permitidos de metales en tejido de peces para consumo. En las demás especies analizadas, la concentración de Se supera los límites internacionales.
9. El nivel de As en la laguna de evaporación de Cerro Prieto supera los límites señalados en la NOM-001-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales.
10. El toxafeno que se encuentra en el aire, suelo y sedimento del valle de Mexicali es probablemente la principal fuente que hay en el tejido de los peces.
11. Se identificó una posible degradación del toxafeno por la pérdida de Cl en el grupo 8-Cl en comparación con el toxafeno técnico.
12. El As y Se en el agua se correlacionan con el número de EMN.
13. El As y Se en el tejido axial se correlacionan con el daño genético.
14. No existe una correlación significativa entre la abundancia relativa con la cantidad de EMN

LITERATURA CITADA

Aguilar-Ibarra, A., Pérez-Espejo, R. H. (2008). La contaminación agrícola del agua en México: retos y perspectivas. *Problemas del desarrollo, Revista latinoamericana de economía* 39(153): 205-215.

Ahmed, K, Habibullah-Al-Mamun, Anwar H., Mohammad A., Parvin, E., Akter M. S., Khan, M. S., e Islam, M. (2011). Assessing the genotoxic potentials of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) using alkaline comet assay and micronucleus test. *Chemosphere* 84: 143–149.

Al-Sabti, K. (1986). Clastogenic effects of five carcinogenic/mutagenic chemicals on the cells of the common carp (*Cyprinus carpio L*). *Comp. Biochem. Physiol.* 85C (1): 5-9.

Al-Sabti, K. (1994). Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. *Mutation Research.* 320: 157-163.

Al-Sabti, K. y Metcalfe, C. D. (1995). Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water, *Mutation Res.* 343: 121–135.

Anguiano, M. E. (1992). Irrigación y capital para transformar el desierto. La formación social del valle de Mexicali a principios del siglo XX. *Frontera Norte*. 4(8): 125-147.

Anscombe, F. J. (1948). The transformation of Poisson, binomial, and negative binomial data. *Biometrika* 35:246-254.

Arellano-García, M. E. (2010). Genotoxicidad por exposición a mezclas de contaminantes en residentes próximos al río Hardy-Colorado, Baja California. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de investigaciones oceanológicas, Facultad de ciencias Marinas, Facultad de ciencias. 179 p.

Ayllon, F. y Garcia-Vazquez, E. (2000). Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. *Mutation Research*. 467: 177–186.

Báez-Ramírez, O. A., Prieto-García, F. y Galán-Vidal, C. A. (2004). Bioacumulación y daños genotóxicos en Pez Cebra (*Danio rerio*) por arsénico en aguas de Zimapán, Hidalgo (México). *Ensayos en cortos plazos. Revista AquaTIC*. 21: 62-70.

Braham, R. P., Blazer, V. S., Shaw, C. H. and Mazik, P. M. (2017). Micronuclei and other erythrocyte nuclear abnormalities in fishes from the Great Lakes Basin USA. *Environ. Mol. Mutagen.* doi:10.1002/em.22123.

Bosch A. C., O'Neill, B., Sigge G. O., Kerwath S.E. y Hoffman, L.C. (2016). Heavy metals in marine fish meat and human health: a review. *J Sci Food Agric* 96:32–48.

Calvo-Fonseca, A. (2010). Comparación de las comunidades ícticas del Río Hardy y estuario del Río Colorado durante el período 2008. Tesis de Maestría. Instituto de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California. 107 p.

Carpenter, D. O. (2013). *Effects of Persistent and Bioactive Organic Pollutants on Human Health*. John Wiley & Sons, 608 p.

Cavas, T. (2008). In vivo genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: Micronucleus test on acridine orange stained fish cells. *Food and Chemical Toxicology* 46: 352–358.

Cortez-Lara, A. (2011). Gestión y manejo del agua: El papel de los usuarios agrícolas del valle de Mexicali. *Revista Problemas del Desarrollo*. 167(42): 71-95.

Daesslé, L. W., Lugo-Ibarra, K. C., Tobschall, H. J., Melo, M., Gutiérrez-Galindo, E. A., García-Hernández, J. y Álvarez, L. G. (2009). Accumulation of As, Pb, and Cu Associated with the Recent Sedimentary Processes in the Colorado Delta, South of the United States-Mexico Boundary. *Arch Environ Contam Toxicol* 56: 680-692.

Datta, S., Debabrata, G., Dhira, R. S., Shelley, B. y Shibnath, M. (2009). Chronic exposure to low concentration of arsenic is immunotoxic to fish: Role of head kidney macrophages as biomarkers of arsenic toxicity to *Clarias batrachus*. *Aquatic Toxicology* 92: 86-94.

De Campos, B. V., Fransceschi D. A., Marin-Morales M. A. (2008). Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 90: 42–51.

De Flora, S., Vigano, L., D'Agostini, F., Camoirano, A., Bagnasco, M., Bennicelli, C., Melodia F. y Arillo, A. (1993). Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. *Mutation Research*. 319: 167-177.

De Geus, H. J., Besselink, H., Brouwer, A., Klungsoyr, J., McHugh y B., Nixon, E. (1999). Environmental Occurrence, Analysis, and Toxicology of Toxaphene Compounds. *Environmental Health Perspectives*. 7(1): 115-144.

Dumas, A. Á. (2009). Áreas para exploración en los alrededores del campo geotérmico de Cerro Prieto, BC. *Geotermia*. 22(2), 2-9.

Ergene, S., Cavas, T., Celik, A., Köleli, N., Kaya, F. y Karahan, A. (2007). Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Göksu Delta (Turkey): genotoxic damage in relation to water pollution. *Ecotoxicology*. 16: 385–391.

Escoboza-García, L. F., Niebla-Aguilar, A., Soto-Ortíz, R., Viramontes-Olivas, O. A., Román-Calleros, J. A., Araiza-Zúñiga, D., Pérez-Márquez, A., Avilés-Marín, S. M., López-López, A., Cárdenas-Salazar, V. A. y Escoboza-García, I. M. (2008). Evaluación del rendimiento del algodón (*Gossypium hirsutum* L) con cuatro niveles de humedad aprovechable en suelo franco en el valle de Mexicali. *Tecnociencia Chihuahua*. 2(3): 147 – 155.

Flores-Galván, M., Arellano-García, E., Ruiz-Campos, G. y Daesslé, L. W. (2017). Genotoxic Assessment of Some Inorganic Compounds in Desert Pupfish (*Cyprinodon macularius*) in the Evaporation Pond from a Geothermal Plant. *Bull Environ Contam Toxicol*. 99 (2): 218–223.

García-Hernández, J. (2004). Water Quality in the Colorado River Delta. *Southwest Hydrology*. 18-19.

García-Hernández, J., Sapozhnikova, Y. V., Schlenk, D., Mason, A. Z., Hinojosa-Huerta, O., Rivera-Díaz, J. J., Ramos-Delgado, N. A. y Sánchez-Bon, G. (2006). Concentration of contaminants in breeding birds eggs from the Colorado River Delta. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(6): 1640-1647.

García-Hernández, J., Glenn, E. P. y Flessac, K. (2013). Identification of chemicals of potential concern (COPECs) in anthropogenic wet lands of the Colorado River delta. *Ecological Engineering*. 59: 52-60.

Gutiérrez-Galindo, E. A., Flores-Muñoz, G., Aguilar-Flores, A. (1988a). Mercury in fresh-water fish and clams from the Cerro Prieto geothermal field of Baja California, México. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 41,201–207.

Gutiérrez-Galindo, E. A., Flores-Muñoz, G. y Celaya-Villaescusa, J. (1988b). Hidrocarburos clorados en moluscos del Valle de Mexicali y Alto Golfo de California. *Ciencias Marinas* 14(3): 91-113.

Gutiérrez-Galindo, E. A., G. Muñoz Flores, Espinoza, G. O. y Celaya J. A. V. (1990). Biodisponibilidad de metales traza en almejas y mejillón del valle agrícola de Mexicali y alto golfo de California. *Ciencias Marinas* 16(4): 1-28.

Gutiérrez-Galindo, E. A., Flores-Muñoz, G., Villa-Andrade, M. y Villaescusa-Celaya, J. A. (1998). Insecticidas organoclorados en peces del Valle de Mexicali, Baja California, México. *Ciencias Marinas* 14(4): 1-22.

Haimes, Y. Y. (2009). Risk modeling, assessment, and management. 3 rd. Edited by Andrew P. Sage. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.

Hinck, J. E., Blazer, V. S., Denslow, N. D., Echols, K. R., Gross, T. S., May, T. W., Anderson, P. J., Coyle, J. J. y Tillitt, D. E. (2007). Chemical contaminants, health indicators, and reproductive biomarker responses in fish from the Colorado River and its tributaries. *Science of the Total Environment*. 378: 376-402.

Hughes, J. B. y Hebert, A. T. (1991). Erythrocyte Micronuclei in Winter Flounder (*Pseudopleuronectes americanus*): Results of Field Surveys during 1980-1988 from Virginia to Nova Scotia and in Long Island Sound. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 474-479.

Jantunen, L. M. y Bidleman, T. F. (1998). Organochlorine pesticides and enantiomers of chiral pesticides in Arctic ocean water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 35: 218-228.

Javed, M. y Usmani, N. (2011). Accumulation of heavy metals in fishes: A human health concern. *International Journal of Environmental Sciences*. 2 (2): 659-670.

Jiao, Y., Reid, K. y Nudds, T. (2006). Variation in the catchability of yellow perch (*Perca flavescens*) in the fisheries of Lake Erie using a Bayesian error-in-variable approach. ICES Journal of Marine Science. 63:1695-1704.

Korytár, P., Van Stee, P. L. L., Leonards, P. E., De Boer, J. y Brinkman, U. A. (2003). Attempt to unravel the composition of toxaphene by comprehensive two-dimensional gas chromatography with selective detection. Journal of Chromatography A. 994(1-2): 179 –189.

Kucuksezgin, F.A., Kontas, O., Altay, E. y Uluturhan, D. E. (2006). Assessment of marine pollution in Izmir Bay; Nutrient heavy metal and total hydrocarbon concentrations. Environ. Int. 32: 41-51.

Lasheen, M. R., Abdel-Gawad, F. K., Alaneny, A. A. y Abd El bary, H. M. H. (2012). Fish as Bio Indicators in Aquatic Environmental Pollution Assessment: A Case Study in Abu-Rawash Area, Egypt. World Applied Sciences Journal. 19(2): 265-275.

Leonards, E. G. P., Besselink H., Klungsøyr, J., McHugh, B., Nixon, E., Rimkus, G. G., Brouwer, A. y De Boer, J. (2011). Toxicological risks to humans of toxaphene residues in fish. Integrated Environmental Assessment and Management. 8(3): 523–529.

Li, Y. F. (2001). Toxaphene in the United States: 1. Usage gridding. Journal of Geophysical Research. 106 (16): 17919 – 17927.

Li, Y. F., Bidleman, T. F. y Barrie, L. A. (2001). Toxaphene in the United States: 2 Emissions and Residues. Journal of Geophysical Research. 106 (16): 17929–17938.

Licata, P., Tromberra, D., Cristani, M., Naccari, C., Martino, D., Calo, M. (2005). Heavy metals in liver and muscle of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught in the straits of Messina (Sicily, Italy). Environ Monit Assess. 107:239–248.

Lugo-Ibarra, K. C., Daesslé, L. W., Macías-Zamora, J. V. y Ramírez-Álvarez, N. (2011). Persistent organic pollutants associated to water fluxes and sedimentary processes in the Colorado River delta, Baja California, México. *Chemosphere*. 85: 210-217.

Maruya, K. y. Lee, R. F. (1998). Aroclor 1268 and Toxaphene in Fish from a Southeastern U.S. Estuary. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 1069-1075.

Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Días, A. L., Fonseca, I., C. y Marín-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology* 29: 148–158.

Medina-Garza, H. (2012). Uso de biomarcadores en peces como herramienta para evaluarla exposición y efecto de contaminantes en cuerpos de agua." Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina, Programas Multidisciplinarios en Ciencias Ambientales. 78.

Mora, M. A. y Anderson, D. W. (1995). Selenium, Boron, and Heavy Metals in Birds from the Mexicali Valley, Baja California, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54: 198-206.

Moreno-Mena, J. A. y López-Limón, M. G. (2005). Desarrollo agrícola y uso de agroquímicos en el valle de Mexicali. *Estudios Fronterizos*. 6(12): 119-153.

Nielsen, L. (1983). Variation in the catchability of yellow perch in a Otter trawl. *Transactions of the American Fisheries Society*. 112: 53-59.

NOM 001 (1997). Norma Oficial Mexicana, NOM-001-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4863829&fecha=06/01/1997.

NOM 242 (2011). Norma Oficial Mexicana, NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados.

http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011.

Nogara, J. y Zarrouk, S. J. (2017). Corrosion in geothermal environment: Part 1: Fluids and their impact. Renewable and Sustainable Energy Reviews, in press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.098>.

Nyongesa, G. W. (2004). Assessment of geothermal wastewater disposal effects case studies: nesjavellir (iceland) and Olkaria (kenya) fields. Tesis de Maestría. Faculty of Science, Department of Biology, University of Iceland. 76.

Obiakor, M. O., Okonkwo, J. C., Nnabude, P. C. y Ezeonyejiaku, C. D. (2012). Ecogenotoxicology: Micronucleus Assay in Fish Erythrocytes as In situ Aquatic Pollution Biomarker: a Review. J Anim Sci Adv 2(1): 123-133.

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

Ozkan, F., Gunduz, S. G., Berkoz, M. y Ozluer A. H. (2011). Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, following exposure to sublethal cadmium doses. Turk J Zool. 35(4): 585-592.

Páez-Osuna, F., y Marmolejo-Rivas, C. (1990). Trace Metals in Tropical Coastal Lagoon Bivalves, *Crassostrea corteziensis*. Environ. Contam. Toxicol. 45: 538-544.

Palacio-Betancur, I., Palacio-Baena, J. A. y Camargo-Guerrero, M. (2009). Micronuclei test application to wild tropical ichthyic species commmmon in two lentic environments of the low zones in Colombia. Actual Biol. 31 (90): 67-77.

Rodríguez-Cea, A., Ayllon, F. y Garcia-Vazquez, E. (2003). Micronucleus test in freshwater fish species: an evaluation of its sensitivity for application in field surveys. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56: 442–448

Romero, S., García, J. Valdez, B. y Vega, M. (2010). Calidad del Agua para Actividades Recreativas del Río Hardy en la Región Fronteriza México-Estados Unidos. *Información Tecnológica*. 21(5): 69-78.

Ruiz-Ruiz, B. (2009). Factores que inciden en el daño genotóxico en los poblados cucapá "El Mayor" y ejido Vicente Guerrero en el valle de Mexicali. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias, Maestría en Manejo de Ecosistemas en Zonas Áridas. 72.

Ruiz-Campos, G., Contreras-Balderas, S., Andreu-Soler, A. Varela-Romero, A. y Campos, E. (2012). An annotated distributional checklist of exotic freshwater fishes from the Baja California Peninsula, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 83: 216-234.

Ruiz-Campos, G, Camarena-Rosales, F., González-Acosta, A. F., Maeda-Martínez, A. M., García de León, F. J., Varela-Romero, A y Andreu-Soler, A. (2014). Estatus actual de conservación de seis especies de peces dulceacuícolas de la Península de Baja California, México. *Rev Mex Biodivers*. 85:1235–1248

SAGARPA. (2007). Programa Estatal de Pesca y Acuacultura 2003-2007. CECYTECBC, SEPESCABC, SAGARPA. 72.

Sánchez-Osorio, J. L. (2014). Plaguicidas organoclorados en suelos rurales, sedimentos y aire de zonas agrícolas del noroeste de México: fuentes y enantioselectividad. Tesis de Doctorado (Facultad de Ciencias Marinas, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California). 118 p.

Sánchez-Osorio, J. L., Macías-Zamora J. V., Ramírez-Álvarez, N. y Bidleman, T. F. (2017). Organochlorine pesticides in residential soils and sediments within two main agricultural areas of northwest México: Concentrations, enantiomer compositions and potential sources. *Chemosphere*. 173: 275-287.

Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutat Res* 31:9–15.

Shintio, L. K., y De Braga, E. S. (2010). Cytogenetic disruption in fishes as bioindicator of the environmental quality in two estuarine systems under different exposition to anthropogenic influences. *Safety, Health and Environment World Congress*. 93-96.

Shortle, J. S., Abler, D. G. y Ribaudó, M. (2001). Agriculture and water quality: the issues, en Shortle, J. S. y Abler, D. G. (ed.). *Environmental Policies for Agricultural Pollution Control*, Wallingford y Nueva York, CABI Publishing. 1-18.

Stapleton, H. M., Masterson, C., Skubinna, J., Ostrom, P., Ostrom, E. y Baker, J. E. (2001). Accumulation of Atmospheric and Sedimentary PCBs and Toxaphene in a Lake Michigan Food Web. *Environ. Sci. Technol.* 35: 3287-3293.

Torres-Bugarín, O., Zavala-Aguirre, J. L., Gómez-Rubio, P., Buelna-Osbe, H. R., Zúñiga-González, G y García-Ulloa Gómez, M. (2007). Especies de peces con potencial como bioindicadoras de genotoxicidad en el lago “La Alberca”, Michoacán, México. *Hidrobiológica*. 17(1): 75-81.

Turskis, Z., Kazimieras, E., y Peldschus, F. (2009). Multi-criteria Optimization System for Decision Making in Construction Design and Management. *Engineering Economics*. 1(61): 7- 17.

Udroiu, I. (2006). Review: The micronucleus test in piscine erythrocytes. *Aquatic Toxicology*. 79: 201–204.

USEPA (1999) Toxaphene Update: Impact on Fish Advisories, United States Environmental Protection Agency, Office of Water (4305), (EPA-823-F-99-018) Washington, D.C.

USEPA. (2000). Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories volume 1: fish sampling and analysis (EPA-823-B-00-007). United States Environmental Protection Agency, Office of Science and Technology-Office of Water.

USFWS (1987) Aquatic cycling of selenium: implications for fish and wildlife, fish and wildlife leaflet. United State Department of the Interior Fish and Wildlife Service 12, Washington D. C.

Valdez-Salas, B., García-Durán, E. I., Cobo-Rivera, J. M. y López-Badilla, G. (2000). Impacto de los plaguicidas en la salud de los habitantes del valle de Mexicali, México. Rev. Ecol. Lat. Am. 6(3):15-21.

Valdés-Casillas, C., Glenn, E. P., Hinojosa-Huerta, O., Carrillo-Guerrero, Y., García-Hernández, J., Zamora-Arroyo, F., Muñoz-Viveros, M., Briggs, M., Lee, C., Chavarría-Correa, E., Riley, J., Baumgartner, D. y Cogdon, C. (1998). Wetland management and Restoration in the Colorado River Delta: The first Steps. Special publication of CECARENA-ITEMS campus Guaymas and NAWCC. Guaymas, Sonora, Mexico. 32.

Varela-Romero, A., Ruiz-Campos, G., Yépiz-Velásquez, L. M. y Alanís-García, J. (1999). Evaluación de la situación actual de las poblaciones del pez cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius macularius*) en la cuenca del bajo río Colorado, Sonora-Baja California, México. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. H126.

Varela-Romero, A., Ruiz-Campos, G., Yépiz-Velásquez, L. M. y Alanís-García, J. (2002). Distribution, habitat and conservation status of desert pupfish (*Cyprinodon macularius*) in the Lower Colorado River Basin, Mexico. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 12: 157–165.

Vetter, W. y Oehme, M. (2000). Toxaphene. Analysis and environmental fate of congeners. In Paasivirta J editor. New types of persistent halogenated compounds. The handbook of environmental chemistry/anthropogenic compounds. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 237–287.

Vicarová P., Docekalová H., Ridosková A., Pelcová P. (2016). Heavy metals in the common carp (*Cyprinus carpio*) from three reservoirs in the Czech Republic. Czech J. Food Sci. 34: 422–428.

Zarain, M. H. (2003). Estrategias y acciones en materia de infraestructura y tecnología en acuicultura: el caso del cultivo del camarón. Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico (SAGARPA). 3(23): 12.

Zeng, E. Y. y Cherrie I. V. (1997). Organic pollutants in the coastal environment off San Diego, California. 1. Source identification and assessment by compositional indices of polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Toxicology and Chemistry. 16(2): 179-188.



Genotoxic Assessment of Some Inorganic Compounds in Desert Pupfish (*Cyprinodon macularius*) in the Evaporation Pond from a Geothermal Plant

Miguel Flores-Galván¹ · Evarista Arellano-García² · Gorgonio Ruiz-Campos² · Luis Walter Daesslé¹

Received: 1 February 2017 / Accepted: 16 May 2017
© Springer Science+Business Media New York 2017

Abstract The frequency of micro nucleated erythrocytes in peripheral blood of the desert pupfish (*Cyprinodon macularius*) from a geothermal effluent pond is determined and compared to organisms kept in an aquarium. The frequency of micronucleated erythrocytes found in pupfish from the geothermal pond is 2.75 (± 2.09) and only 0.44 (± 0.52) in captivity organisms. Dissolved As in the ponds doubles the 340 $\mu\text{g L}^{-1}$ US-EPA acute quality criteria for aquatic life and Hg equals the 1.77 $\mu\text{g L}^{-1}$ chronic criteria. The organisms with high MNE also have significantly high Se, As and Hg concentrations in muscle and liver. Compared to international maximum allowable limits for fish consumption, there is 81 \times enrichment for Se, 6 \times for As and 5 \times for Hg. Although Se is not significantly enriched in water, it is likely that its bioaccumulation occurs via feeding of detritus. The desert pupfish has a significant resistance to extreme metal accumulations and to recover under unpolluted conditions.

Keywords Micronuclei · Erythrocytes · Fish · Mercury · Arsenic · Selenium

Aquatic ecosystems are the final disposal sites of air and soil pollutants (Datta et al. 2009). In polluted habitats there are many inorganic and organic compounds that may produce damage and affect the endemic biota, even leading to extinction (Elvira 1995). Fish are important indicators of water pollution, and the presence and frequency of the micro nucleated erythrocytes (MNE) in them can be used to examine the effect of mutagenic compounds (Carrola et al. 2014). Micronuclei (MN) are formed by condensation of acentric chromosomal fragments or by whole chromosomes that are not included in the main nucleus (Heddle 1973). The lagging elements (fragments or whole chromosomes) are also included in the cytoplasm of daughter cells, but a proportion is transformed into one or several secondary nuclei which are 1/5 to 1/20 smaller than the main nucleus and are therefore called MN (Schmid 1975).

The desert pupfish (*Cyprinodon macularius*) is a secondary freshwater fish endemic to the lower Colorado River basin in the United States of America and Mexico, which has an opportunistic and omnivorous diet consisting of invertebrates, plants, algae, and detritus (USFWS 2010; Ruiz-Campos et al. 2014). This pupfish has a total length from 11.3 to 56.5 mm (Varela-Romero et al. 2002). It shows an extraordinary ability to survive under conditions of high water temperature (45°C), low dissolved oxygen concentration (0.1–0.4 mg L^{-1}) and high salinity (68 mg L^{-1}) (USFWS 1993). The actual distribution in Mexico occurs in Baja California (in the evaporation ponds of the Cerro Prieto geothermal power station and Pozo del Tule in Sierra Cucapá) and Sonora (Welton-Mohawk channel, El Doctor and Santa Clara wetlands). This species is categorized as endangered because of loss and modification of habitat, introduction of non-native fishes and pollution (Varela-Romero et al. 1999; Ruiz-Campos et al. 2014).

✉ Luis Walter Daesslé
walter@uabc.edu.mx

¹ Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Transpeninsular Tijuana-Ensenada No. 3917, Fraccionamiento Playitas, CP 22860 Ensenada, Baja California, Mexico

² Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Transpeninsular Tijuana-Ensenada No. 3917, Fraccionamiento Playitas, CP 22860 Ensenada, Baja California, Mexico

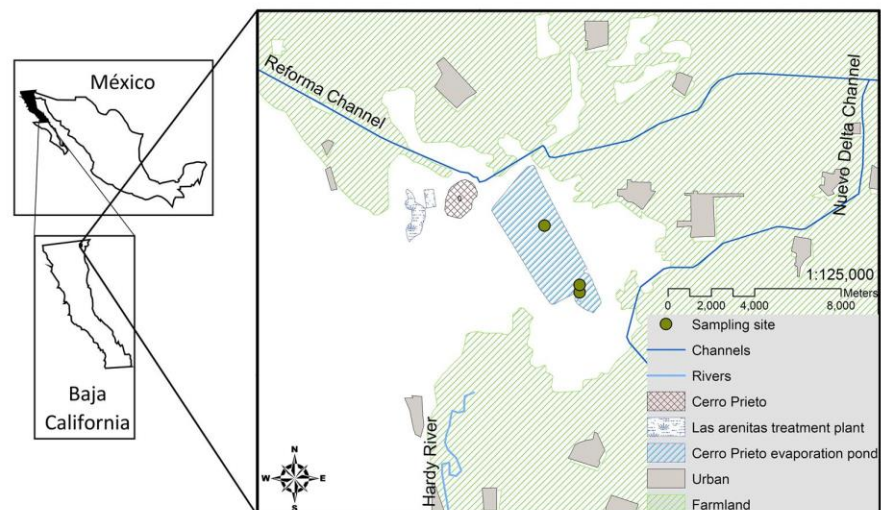
The aim of the present study is to assess the frequency (per 1000) of MNE in *C. macularius* under the extreme environmental conditions in the evaporation ponds derived from the geothermal plant effluents of Cerro Prieto, where air temperatures in summer may reach 50°C and geothermal brines are characterized by a metal-rich siliceous composition (Skinner et al. 1967; Hernández 2009). The MNE are compared with those of the same species in unpolluted water under controlled aquarium conditions in the laboratory. This information will be useful to determine the current state of *C. macularius* under the stressful situation caused by environmental pollutants, as well as to generate measures for protecting this endangered species.

Materials and Methods

Desert pupfish were collected by using minnow traps baited with marshmallows (to attract by color and flavor) in the evaporation ponds of the geothermal plant in Cerro Prieto Mexicali, Baja California, México in October 2014 (32°23'50"N and 115°16'05"W; Fig. 1). The geothermal power plant is located 35 km south of the USA-Mexico international border, and comprises a system of ponds (ca. 6 km²) filled with recycled residual waters from the cooling system of the Cerro Prieto Geothermal station. The fish caught were separated in two groups: (1) one group was placed in a container with aerator to oxygenate the water and keep them alive until transfer to an aquarium of 250 L with waterfall style bio-filter of 850 L h⁻¹ capacity, where they remained in captivity for 1 year prior to MNE analysis. A long acclimatization was important because the lifespan of the circulating erythrocytes in fish is longer than in mammals (example, 105 days in rainbow trout and

310 days in mirror carp) and hematopoietic tissue is subject to an annual cycle (Soldatov 2005), and (2) the second group of samples was used for immediate caudal venipuncture for MNE and frozen for later dissection of tissue for metal analyses according to EPA Fish Sampling and Analysis (USEPA 2000). The water quality parameters such as temperature, pH, total dissolved solids (TDS), conductivity and salinity were measured with a portable multianalyzer (Hydrolab Scout 2). Dissolved oxygen was measured with a portable oxymeter (WTW Multi 1970i model). For biometric data, the total length of the fish was measured (TL ± 0.01 mm) with a 15 cm dial caliper. Water samples collected from the evaporation ponds of the Cerro Prieto geothermal power station were filtered with pre-combusted GF/F filters, acidified to 1% with ultrapure HNO₃ and maintained at 4°C in polyethylene tubes until analyses with ICP-MS and Hg-analyzer. Tissue samples for metal analyses in fish from the pond consisted of muscle (2 organisms) and liver (3 organisms) and were freeze-dried prior to analyses by ICP-MS and Hg-analyzer after microwave digestion using CRM DORM-2 and DOLT-2 as reference for quality assurance. The % recovery was above 93% for all elements and the detection limits for each are given in Table 3. Blood samples of 9 specimens from the aquarium and 12 from the geothermal ponds were obtained by caudal venipuncture using heparinized syringes, keeping the organisms alive and returning them to their habitat (Ueda et al. 1992). The blood was immediately smeared on grease free slides and air-dried for 10 min before fixation in 75% ethanol. Slides were stained with 0.003% acridine orange in Sorenson's buffer at pH 6.8 for 3–5 min. The slides were then rinsed in the same buffer to reduce background staining; all slides were then air-dried and stored in the dark. Prior to viewing, the slides were wet mounted, with the Sorenson's buffer

Fig. 1 Study site and sample location at the geothermal plant in Baja California, México



and covered with a cover slip. The slides were examined with a fluorescence microscope (Axio Lab.A1 Zeiss), in $\times 1000$ magnification with oil immersion. A total of 10,000 erythrocytes were analyzed per fish (one slide), when the sample size for counting MN should be at least 2000 erythrocytes per animal to detect genotoxic activity (Udroiu 2006). A MN was positively identified if it met the criteria proposed by Al-Sabti and Metcalfe (1995). In Fig. 2, a positive MN stained with acridine orange is shown as an example. Statistical analyses were performed using the software Statistic 8 (StatSoft). For physicochemical parameters and in the biometric data basic statigraphs (mean and standard deviation) were calculated. To assess differences between frequencies of MNE, between groups of desert pupfish (captivity versus geothermal pond), Mann–Whitney and Student's *t* tests were conducted. Results were considered significant at $p < 0.05$.

Results and Discussion

The physicochemical data for the geothermal pond and controlled aquarium conditions are shown in Table 1. The average concentration of dissolved oxygen and percent saturation in both sites was within the range tolerated by this species (concentrations as low as 0.1–0.4 mg L⁻¹; USFWS 1993). The lower dissolved oxygen concentration

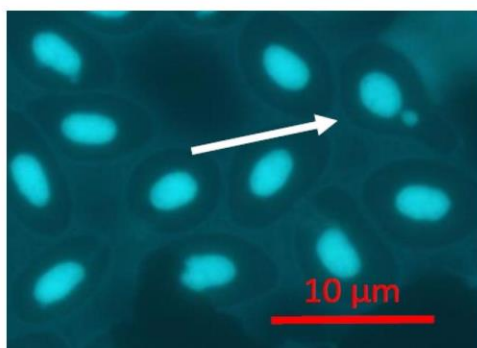


Fig. 2 Microphotography of a group of erythrocytes of a control *C. macularius* from the aquarium, stained with acridine orange and viewed under a fluorescence microscope under $\times 1000$ magnification. The arrow indicates MNE

in the aquarium can be explained by a lower algae growth which results in lower photosynthesis and a reduced exposure to air which decreases the diffusion of air into the water (Fangue et al. 2001). Furthermore, in both sites salinity is below the maximum value tolerated by this species (68 g L⁻¹, twice that of seawater). Udroiu (2006) suggested 2 weeks under controlled conditions for the acclimatization of fish and mentions that neither dissolved oxygen, salinity nor temperature are considered risk factors that promote the variation in the frequency of MNE. Thus the differences in salinity, temperature and oxygen between the aquarium and the geothermal pond are not expected to influence the observed variation in the frequency of MNE.

The concentrations of dissolved metals in the evaporation pond are given in Table 2. The water of this system has significantly high concentrations of As (628–734 $\mu\text{g L}^{-1}$), exceeding the Mexican Official Norm for contaminants in wastewater discharge and the acute EPA recommended water quality criteria for aquatic life. In addition, Hg equals the chronic EPA criteria. Other dissolved metal concentrations are not significantly different between the ponds and the aquarium and below the Mexican norm. The chemistry of the fluid discharged is largely dependent on the geochemistry of the reservoir and the operating conditions used for power generation varies from one geothermal field to another and may contain high concentrations of aluminum, boron, arsenic, cadmium, lead, mercury, and sometimes fluoride (Sabadell and Axtmann 1975). The metal concentrations in liver and muscle of *C. macularius* from the geothermal ponds are given in Table 3. All metal and metalloid concentrations are higher in liver than muscle, because organs with higher metabolic activities accumulate more trace metals than organs with lower metabolic activities (Kalay et al. 1999). The liver has an important role in contaminant storage, redistribution, detoxification or transformation (McFarlane and Franxin 1980) and can be an environmental indicator of water pollution (Licata et al. 2005). Although Se is not significantly enriched in water from the geothermal pond, this element, as well as Hg and As, are significantly accumulating in *C. macularius*. Factors such as the feeding habit (detritivorous) and regulatory ability can influence the accumulation of metals in the different organs (Cross et al. 1973). Selenium in fish presents 81-fold enrichment compared to the maximum allowable limits for consumption (Bosch et al. 2016). As a sixfold

Table 1 Mean and standard deviation of physicochemical parameters in the aquarium (spring) and geothermal pond (autumn)

Site	Dissolved oxygen (mg/L)	Oxygen saturation (%)	TDS (g/L)	Salinity (ppt)	Conductivity mS/cm	Temperature (°C)
Aquarium	4.9 (± 0.20)	53.8 (± 2.16)	0.7 (± 0.01)	0.5 (± 0.01)	1.5 (± 0.01)	20.5 (± 0.12)
Pond	6.8 (± 0.48)	79.0 (± 5.79)	33 (± 1.55)	33.9 (± 1.90)	51.5 (± 2.82)	24.0 (± 0.12)

enrichment and Hg a fivefold enrichment. High Se in fish is mostly derived from feeding (USEPA 2014). Selenium concentrations in whole fish (8–16 mg kg⁻¹) can cause reproductive problems, teratogenesis and mortality due to bioaccumulation (USFWS 1987). Selenium concentrations in fish of other polluted sites are lower than those obtained in this study. For example, in reclaimed coal mines in Alberta Canada, Se concentration of 1.25 mg kg⁻¹ were found in muscle of the hatchery rainbow trout (Miller et al. 2013). In the Ciénega de Santa Clara (in the Colorado River delta) average Se concentrations in striped mullet (*Mugil cephalus*), common carp (*Cyprinus carpio*) and largemouth bass (*Micropterus salmoides*) were 1.6 mg kg⁻¹ (García-Hernández et al. 2013). The high concentration of As in liver could be due to its constant exposure, because bio-transformed As is released from the liver to circulation and

bile, where it reenters the intestine and hepatic portal vein (Cockell and Bettger 1993). This causes that the absorbed arsenic may persist in the enterohepatic circulation for a relatively long time. The high concentration of Hg found in liver (2.4 mg kg⁻¹) and muscle (1.8 mg kg⁻¹) may be due to a high capability of bioaccumulation and biomagnification, for this reason total dissolved Hg concentration may be due lower than the tissue of the fishes (Gill and Bruland 1990).

The average of MNE in *C. macularius* from the aquarium and the geothermal ponds are summarized in Table 4. The comparative analysis between fishes from the aquarium and the geothermal pond, reveal a significant difference, with a value of $t=3.208$ (d.f. = 19, $p=0.005$) for the analysis of Mann–Whitney and $t=4.16$ (d.f. = 19, $p=0.000$) for the Student’s *t* test. The mean MNE in aquarium fishes was

Table 2 Concentrations of Si and metals (metalloids) in water from the geothermal brines at Cerro Prieto, during summer 2015, compared to the Mexican Norm for pollutants in wastewater discharges and the US-EPA National Recommended Water Quality – Aquatic Life criteria

Samples	Si	Pb	Cd	Cr	As	Hg ^a	Se	U	Mo	Cu	Zn	Fe	Mn
Pond—a	35,200	<0.1	<0.1	<5	734	<2	<2	<0.01	11.5	<2	23.6	<100	470
Pond—b	–	<0.2	–	0.43	628	0.51	–	–	9.1	2.4	9.7	69	–
Pond—c	–	<0.2	–	0.34	636	0.78	–	–	8.4	1.3	7.5	58	–
Pond—d	–	<0.2	–	0.33	656	–	–	–	8.6	5.9	14.2	45	–
Aq—a	–	<0.2	–	0.39	2.43	0.57	–	–	4.94	2.5	26.0	<3	–
Aq—b	–	<0.2	–	0.27	1.94	–	–	–	4.49	2.5	4.1	3	–
Mex-NOM001 ^b	–	400	200	1000	200	10	–	–	–	6000	20,000	–	–
EPA (acute) ^c	–	65	1.8	16 (CrVI)	340	1.4	–	–	–	–	120	–	–
EPA (chronic) ^c	–	2.5	0.72	11 (CrVI)	150	0.77	1.5 ^d	–	–	–	120	1000	–

Units in µg L⁻¹

– not analyzed or not reported

^aHg-analyzer, ^bNOM (1997), ^cEPA (2017), ^dEPA (2016)

Table 3 Concentrations of metals in muscle and liver of *C. macularius* in the geothermal ponds of Cerro Prieto compared to various international and Mexican maximum allowable levels for fish consumption. All units are in µg g⁻¹ except Fe in %

	Pb	Cd	Cr	As	Hg	Se	U	Mo	Au	Cu	Zn	Fe	Mn
Detection limit	0.01	0.01	1.0	1.0	0.006	0.1	0.1	0.01	0.5	0.01	0.1	0.01	1.0
Muscle	0.49	<0.1	<10	8.3	1.8	13.4	<1	<0.1	0.07	3.8	78.6	<0.01	23
Liver	0.77	0.72	<10	12.2	2.4	26.1	<1	1.3	1.17	124	236	<0.01	53
MALs ^a	0.2–0.5	0.05–0.1	0.1	2.0–3.0	0.5–1.0	0.3	–	–	–	5–30	30–50	–	–
Mex-NOM242 ^b	0.5	0.5	–	–	0.5	–	–	–	–	–	–	–	–

– not analyzed or not reported

^aBosch et al. (2016), ^b(NOM 2011)

Table 4 Values of MNE and total length of desert pupfish in captivity and geothermal pond

Site	N	Total length (mm)	Individual MNE/10,000 E	Mean ± SD/10,000 E
Aquarium	9	46.64 (±3.88)	0/0/1/0/1/1/0/1/0	0.44 (±0.52)
Pond	12	38.06 (±5.17)	3/2/1/3/3/7/6/0/3/3/0/2	2.75 (±2.09)

similar to those values reported for other fish species, such as rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, 0.33 ± 0.49 MNE; De Flora et al. 1993) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*, 0.14; Metcalfe 1988). The low rate of MNE in *C. macularius* in aquarium specimens and a decrease in metal concentrations compared to those from the geothermal pond, suggests that it may be used as a model for genotoxic effects of pollutants. Also the micronucleus test on peripheral blood samples is particularly suitable for conditions of chronic exposure (Udroiu 2006). Among the intraspecific factors that may affect the number of MNE are the age, sex, length, diet, health and reproductive status (Al-Sabti and Metcalfe 1995). In the early developmental stages fishes are more sensitive to genotoxic agents in comparison with adults because of blockage of pathways for DNA synthesis (Christie and Costa 1983). However, the average length of the studied fish, in both cases (46.64 and 38.06 mm), are outside the range of length of young fish (Varela-Romero et al. 1999) indicating that length does not affect the amount of MNE. It is important to study different ages to determine if the young organisms display a higher level of MNE than the adults. The high concentration of As (water), Hg and Se (probably in detritus) of the geothermal effluent ponds may cause the raise in the number of MNE. Experiments with tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in water with As concentrations of 3, 28 and 56 mg kg⁻¹ during 96 h, indicate a significant increase in MNE frequency in the exposed fish when compared to a control group (Ahmed et al. 2011), the same happens with organisms (*Carassius auratus gibelio*) exposed to Hg (0.25 and 50 ng/5 mL) and Se (250, 500 and 1000 ng/5 mL of culture medium) which had a greater number of MNE compared to controls (Al-Sabti 1994). Our findings suggest that the desert pupfish has a significant resistance to Hg, As and Se, probably to its evolutionary selection after thousands of years adapting to harsh conditions in small isolated desert ponds. In contrast to the population decline in the lower Colorado River during the last two decades, a stability in its abundance and sex proportion has been documented for 2005–2013 in the geothermal ponds (Ruiz-Campos et al. 2014).

The high number of MNE in the fishes of the geothermal pond does not seem to affect the desert pupfish population, so it is advisable to carry out laboratory studies with different contaminants (as analyzed in this work) to determine the concentrations that can cause damage to the organisms and therefore the population. This study shows the importance of comparing organisms in wild and controlled conditions in order to understand their adaptation capabilities to pollutants whose may increase the number of MNE. This is the first research on the probable value of MNE rate for the desert pupfish and its adaptability to extreme metal accumulations. It is essential to consider this species as a new model for toxicity

studies based on its ability to tolerate extreme conditions and to recover under unpolluted conditions.

Acknowledgements Funding for this project by CONACYT Grant (368374) to first author. We thank K. Juárez Moreno (Center of Nanoscience and Nanotechnology, UNAM) for her training and help with the fluorescence microscope; O. Torres Bugarín (International Program of the Faculty of Medicine, UAG) for her assistance in the micronucleus technique; L. Lares Reyes (CICESE) for access to the lyophilizer; T. Kretzschmar and E. Iniguez (CeMIE-Geo/CICESE) for part of the water analyses. The Dirección General de Vida Silvestre de Mexico for sampling permit SGPA/DGVS 09605/12. We are grateful for the helpful comments by two anonymous reviewers and the editorial board editor.

References

- Ahmed MK, Hullah AMM, Hossain MA, Arif M, Parvin E, Akter MS, Khan MS, Islam MM (2011) Assessing the genotoxic potentials of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) using alkaline comet assay and micronucleus test. *Chemosphere* 84:143–149
- Al-Sabti K (1994) Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. *Mutat Res* 320:157–163
- Al-Sabti K, Metcalfe CD (1995) Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat Res/Genet Toxicol* 343:121–135
- Bosch AC, O'Neill B, Sigge GO, Kerwath SE, Hoffman LC (2016) Heavy metals in marine fish meat and human health: a review. *J Sci Food Agric* 96:32–48
- Carrola J, Santos N, Rocha MJ, Fontainhas FA, Pardal MA, Monteiro RAF, Rocha E (2014) Frequency of micronuclei and of other nuclear abnormalities in erythrocytes of the grey mullet from the Mondego, Douro and Ave estuaries—Portugal. *Environ Sci Pollut Res* 21:6057–6068
- Christie NT, Costa M (1983) In vitro assessment of the toxicity of metal compounds: III. Effects of metals on DNA structure and function in intact cells. *Biol Trace Elem Res* 5:55–71
- Cockell KA, Bettger WJ (1993) Investigations of the gall bladder pathology associated with dietary exposure to disodium arsenate heptahydrate in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology* 77:233–248
- Cross FA, Hardy HL, Jones NY, Barber RT (1973) Relation between total body weight and concentration of Mn, Fe, Zn, Cu and Hg in the blue fish (*Pomatomus saltatrix*) and a bathy dermersal fish (*Antimora rostrata*). *Fish Res Bd Can* 30:1287–1291
- Datta S, Debabrata G, Dhira RSh, Shelley B, Shibnath M (2009) Chronic exposure to low concentration of arsenic is immunotoxic to fish: role of head kidney macrophages as biomarkers of arsenic toxicity to *Clarias batrachus*. *Aquat Toxicol* 92:86–94
- De Flora S, Vigano L, D'Agostini F, Camoirano A, Bagnasco M, Benicelli C, Melodia F, Arillo A (1993) Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. *Mutat Res* 319:167–177
- Elvira B (1995) Conservation status of endemic freshwater fish in Spain. *Biol Conserv* 72:129–13
- Fangue NA, Flaherty KE, Rummer JL, Cole G, Hansen KS, Hinote R, Noel BL, Wallman H, Bennett WA (2001) Temperature and hypoxia tolerance of selected fishes from a hyperthermal rock-pool in the Dry Tortugas, with notes on diversity and behavior. *Caribb J Sci* 37(1–2): 81–87

- García-Hernández J, Glenn EP, Flessa K (2013) Identification of chemicals of potential concern (COPECs) in anthropogenic wetlands of the Colorado River delta. *Ecol Eng* 59:52–60
- Gill GA, Bruland KW (1990) Mercury speciation in surface freshwater systems in California and other areas. *Environ Sci Technol* 24(9):1392–1399
- Heddle JA (1973) A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutat Res* 18:307–317
- Hernández JMC (2009) Zonas de alteración hidrotermal y condiciones actuales del yacimiento: un enfoque para determinar zonas productoras al oriente del campo geotérmico de Cerro Prieto, BC. *Geotermia* 22(2):35–44
- Kalay M, Ay O, Canli M (1999) Heavy metal concentrations in fish tissues from the Northeast Mediterranean Sea. *Bull Environ Contam Toxicol* 63:673–681
- Licata P, Trombetta D, Cristani M, Naccari C, Martino D, Calò M (2005) Heavy metals in liver and muscle of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught in the straits of Messina (Sicily, Italy). *Environ Monit Assess* 107:239–248
- McFarlane GA, Franxin WG (1980) An examination of Cd, Cu and Hg concentrations in livers of northern pike, *Esox lucius* and white sucker, *Catostomus commersoni*, from five lakes near a base metal smelter at Flin Flon, Manitoba. *Can J Fish Aquat Sci* 37:1573–1578
- Metcalf CD (1988) Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in the erythrocytes of mudminnows (*Umbra limi*) and brown bullheads (*Ictalurus nebulosus*). *Bull Environ Contam Toxicol* 40:489–495
- Miller LL, Rasmussen JB, Palace VP, Sterling G, Hontela A (2013) Selenium bioaccumulation in stocked fish as an indicator of fishery potential in pit lakes on reclaimed coal mines in Alberta Canada. *Environ Manag* 52(1):72–84
- NOM (1997) Norma Oficial Mexicana, NOM-001-ECOL-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4863829&fecha=06/01/1997
- NOM (2011) Norma Oficial Mexicana, NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011
- Ruiz-Campos G, Camarena-Rosales F, González-Acosta AF, Maeda-Martínez AM, García de León FJ, Varela-Romero A, Andreu-Soler A (2014) Estatus actual de conservación de seis especies de peces dulceacuicolas de la Península de Baja California, México. *Rev Mex Biodivers* 85:1235–1248
- Sabadell JE, Axtmann R (1975) Heavy metal contamination from geothermal sources. *Environ Health Perspect* 12:1–7
- Schmid W (1975) The micronucleus test. *Mutat Res* 31:9–15
- Skinner BJ, White DE, Rose HJ, Mays RE (1967) Sulfides associated with the Salton Sea geothermal brine. *Econ Geol* 62:316–333
- Soldatov AA (2005) Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *J Evol Biochem Physiol* 41:272–281
- Udroiu I (2006) The micronucleus test in piscine erythrocytes. *Aquat Toxicol* 79:201–204
- Ueda T, Hayashi M, Ohtsuka Y, Nakamura T, Kobayashi J, Sofuni T (1992) A preliminary study of the micronucleus test by acridin orange fluorescent staining compared with chromosomal aberration test using fish erythropoietic and embryonic cells. *Water Sci Technol* 25(11):235–240
- USEPA (2000) Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories volume 1: fish sampling and analysis (EPA-823-B-00-007). United States Environmental Protection Agency, Office of Science and Technology-Office of Water
- USEPA (2014) External peer review draft aquatic life ambient water quality criterion for selenium – freshwater. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology, (EPA-820-F-14-005) Washington, D.C
- USEPA (2016) Aquatic life quality criterion for Selenium—fresh water. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, (EPA-822-R-16-06) Washington, DC
- USEPA (2017) National recommended water quality criteria—aquatic life criteria table. <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>
- USFWS (1987) Aquatic cycling of selenium: implications for fish and wildlife, fish and wildlife leaflet. United State Department of the Interior Fish and Wildlife Service 12, Washington DC
- USFWS (1993) Desert Pupfish (*Cyprinodon macularius*) Recovery Plan, Unpublished report to U.S. Fish and Wildlife Service, Region 2, Albuquerque, New México, with assistance from Arizona Game and Fish Department and Tonto National Forest 129, Washington DC
- USFWS (2010) Desert pupfish (*Cyprinodon macularius*) 5-year review: summary and evaluation. Phoenix, United States Fish and Wildlife Service 42, Washington, DC
- Varela-Romero A, Ruiz-Campos G, Yépiz-Velázquez LM, Alaníz-García, J (1999) Evaluación de la situación actual de las poblaciones del pez cachorrillo del desierto (*Cyprinodon macularius*) en la Cuenca del Bajo Río Colorado, Sonora-Baja California, México. Universidad de Sonora, Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. H126, México DF
- Varela-Romero A, Ruiz-Campos G, Yépiz-Velázquez LM, Alaníz-García J (2002) Distribution, habitat and conservation status of desert pupfish (*Cyprinodon macularius*) in the Lower Colorado River Basin, Mexico. *Rev Fish Biol Fish* 12:157–165