

Especies de peces con potencial como bioindicadoras de genotoxicidad en el lago "La Alberca", Michoacán, México

Potential fish species as genotoxicity biomarkers at lake "La Alberca", Michoacan, Mexico

Olivia Torres-Bugarín¹, José Luis Zavala-Aguirre²,
Paulina Gómez-Rubio¹, Héctor René Buelna-Osben³,
Guillermo Zúñiga-González⁴ y Manuel García-Ulloa Gómez⁵

¹Departamento de Investigación, Programa Internacional de Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Guadalajara. Av. Acueducto esquina Montevideo. Col. Lomas del Valle. 3ra sección. CP 44100 tel (33)3648-8383, ext 3152. E-mail: oliviatrories@hotmail.com

²Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Guadalajara.

³Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Michoacán, Instituto Politécnico Nacional. Becario de COFAA-IPN.

⁴Laboratorio de Mutagénesis, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social.

⁵Departamento de Acuacultura, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guadalajara.

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

RESUMEN

Se evaluó la presencia espontánea de micronúcleos en sangre periférica de 10 especies de peces que habitan el lago "La Alberca", Michoacán (México), para proponerlas como posibles bioindicadoras de agentes genotóxicos. Se colectaron muestras de sangre periférica de 56 organismos de 10 especies diferentes las cuales se analizaron con microscopía de fluorescencia (100X) para registrar: la cantidad de eritrocitos micronucleados (EMN) espontáneos en 10,000 eritrocitos, la proporción de eritrocitos policromáticos (EPC) en 1,000 eritrocitos y la relación citoplasm-núcleo (RC/N) de los eritrocitos. Las especies muestreadas fueron: *Xenotoca melanosoma* (3.7 ± 1.6 EMN, 29.5 ± 15 EPC, $1.7:1$ RC/N), *Oreochromis aureus* (2.0 ± 1.0 EMN, 21.0 ± 14 EPC, $2.6:1$ RC/N), *Chirostoma consocium* (1.5 ± 0.7 EMN, 19.8 ± 14 EPC, $1.4:1$ RC/N), *Chirostoma lucius* (1.2 ± 1.3 EMN, 34.2 ± 19 EPC, $1.8:1$ RC/N), *Lepomis macrochirus* (1.2 ± 1.6 EMN, 10.3 ± 19 EPC, $2.2:1$ RC/N), *Alloophorus robustus* (1.0 ± 1.5 EMN, 31.1 ± 23 EPC, $1.9:1$ RC/N), *Zoogoneticus quitzeoensis* (0.8 ± 1.2 EMN, 23.8 ± 6.3 EPC, $1.6:1$ RC/N), *Chapalichthys encaustus* (0.7 ± 1.0 EMN, 44.6 ± 28 EPC, $1.9:1$ RC/N), *Poeciliopsis infans* (0.7 ± 0.8 EMN, 12.4 ± 4.4 EPC, $1.8:1$ RC/N) y *Goodea atripinnis* (0.6 ± 1.1 EMN, 11.7 ± 5.7 EPC, $1.7:1$ RC/N). Por el número de EMN espontáneos y la RC/N que se encontró en *Xenotoca melanosoma* y *Oreochromis aureus* se sugiere que estas especies son potenciales indicadoras biológicas de agentes genotóxicos.

Palabras clave: Eritrocitos micronucleados, peces, lago de Michoacán, biomonitorios, genotóxicos.

ABSTRACT

The presence of spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 10 fish species in Lake "La Alberca", Michoacan (Mexico), was evaluated as a possible biological indicator of genotoxic agents. The peripheral blood samples from each of 56 fishes were analyzed by fluorescence microscopy (100X) to determine frequency

of micronucleated erythrocytes (EMN) in 10,000 cells, and polychromatic erythrocytes in 1,000 cells (EPC). The cytoplasm-nucleus ratio in erythrocytes (RC/N) also was calculated. The sampled species and their results were: *Xenotoca melanostoma* (3.7 ± 1.6 EMN, 29.5 ± 15 EPC, 1.7:1 RC/N), *Oreochromis aureus* (2.0 ± 1.0 EMN, 21.0 ± 14 EPC, 2.6:1 RC/N), *Chirostoma consocium* (1.5 ± 0.7 EMN, 19.8 ± 14 EPC, 1.4:1 RC/N), *Chirostoma lucius* (1.2 ± 1.3 EMN, 34.2 ± 19 EPC, 1.8:1 RC/N), *Lepomis macrochirus* (1.2 ± 1.6 EMN, 10.3 ± 19 EPC, 2.2:1 RC/N), *Alloophorus robustus* (1.0 ± 1.5 EMN, 31.1 ± 23 EPC, 1.9:1 RC/N), *Zoogoneticus quitzeoensis* (0.8 ± 1.2 EMN, 23.8 ± 6.3 EPC, 1.6:1 RC/N), *Chapalichthys encaustus* (0.7 ± 1.0 EMN, 44.6 ± 28 EPC, 1.9:1 RC/N), *Poeciliopsis infans* (0.7 ± 0.8 EMN, 12.4 ± 4.4 EPC, 1.8:1 RC/N) and *Goodea atripinnis* (0.6 ± 1.1 EMN, 11.7 ± 5.7 EPC, 1.7:1 RC/N). The frequency of spontaneous EMN found in *Xenotoca melanostoma* and *Oreochromis aureus* suggests that these species can be considered as potential biological indicators of genotoxic agents.

Key words: Micronuclei, fish, biomonitoring, genotoxic, lake of Michoacán.

INTRODUCCIÓN

El lago conocido como "La Alberca", se encuentra ubicado en la Ciénega de Chapala en la zona geotérmica de Los Negritos, en el extremo Este del rift Citala a 15 Km al Noreste de la ciudad de Jiquilpan, Michoacán (Zárate del Valle & Simoneit, 2005). Tiene balance hidrológico positivo a lo largo del ciclo anual debido a varios manantiales localizados en su parte central cuyos flujos superan al conjunto de los egresos (Buelna-Osben, 2002); este constante vertimiento de agua es usado como fuente de abasto para canales de riego de la zona; es un embalse de importancia económica y ecológica ya que se desarrollan diversas actividades en su entorno como son la agricultura, ganadería, pesca y recreación. Presenta características de interés favorables para futuros estudios representativos del Lago de Chapala ya que hasta antes de 1907 formó parte de éste, fecha en que se construyó el bordo Jamay-La Palma; ésto trajo como consecuencia la reducción del área lacustre (Sandoval, 1981), el aislamiento de la contaminación transportada por el río Lerma y la preservación de ictiofauna similar (Buelna-Osben, 2002). Además se encuentra presente en éste Lago la familia Goodeidae, endémica del territorio Mexicano y especialmente de la cuenca Lerma-Chapala (Álvarez del Villar, 1970).

La contaminación de los cuerpos de agua continentales constituye un serio problema que afecta las actividades productivas poniendo en riesgo la cantidad y calidad del agua que se destina, inclusive, para el servicio urbano. Existen muchas sustancias que diariamente son liberadas a los embalses o cauces de agua modificando las condiciones a los organismos que los habitan. Un ejemplo de lo anterior puede ilustrarse con la situación que enfrenta la cuenca Lerma-Chapala, donde los registros en varias estaciones de muestreo, presentan concentraciones de Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn que superan los niveles de tolerancia de organismos béticos y los modelos de predicción indican tendencias hacia su incremento (Hansen & van Afferden, 2001). De los cuatro primeros metales de la lista anterior, además

del As y Se, se tiene documentado el potencial efecto micronucleogénico (Al-Sabti & Metcalfe, 1995, Nepomuceno *et al.*, 1997, Báez-Ramírez *et al.*, 2004, Zhu *et al.*, 2004, Porto *et al.*, 2005). Por otra parte, se han detectado gran cantidad de otros contaminantes originados por diversas fuentes como: la producción de desechos agropecuarios, empresas de servicios como la hotelería y restaurantes, desechos de procesadoras de alimentos y bebidas alcohólicas, industrias farmacéuticas, electromecánicas, metalúrgicas, petroquímicas, producción y uso de todo tipo de plaguicidas (Hansen & van Afferden, 2001), entre ellos el 12.6 % de plaguicidas organofosforados y organoclorados están catalogados como extremadamente tóxicos o altamente tóxicos (Ramos-Espinoza & López-Hernández, 2006). Situaciones similares en todo el mundo han promovido que la investigación relacionada con la toxicología acuática se haya incrementado notablemente (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Grisolia & Stargling, 2001; Andrade *et al.*, 2004).

El monitoreo de la contaminación del agua por análisis directo de los agentes químicos requiere de gran precisión y del conocimiento del contaminante que se desea verificar; además, su evaluación está limitada por la sensibilidad y especificidad del método utilizado (Rodríguez-Ariza *et al.*, 1992). La prueba de micronúcleos (MN) detecta el efecto de agentes mutagénicos sobre los cromosomas mediante la identificación de fragmentos acéntricos y/o cromosomas rezagados que al quedar fuera del núcleo forman tales estructuras. La técnica permite detectar tanto agentes clastogénicos (que rompen cromosomas) como aneuploidogénicos (que afectan el huso mitótico) (Schmid, 1975). Originalmente, la prueba de MN fue desarrollada en eritrocitos de medula ósea de ratones pero, posteriormente se modificó para ser aplicada a diversas especies y tejidos (Torres-Bugarín *et al.*, 2003; Zúñiga-González *et al.*, 2003a; Zamora-Perez, 2004; Zamora-Perez *et al.*, 2004). La identificación de MN en eritrocitos de sangre periférica de mamíferos, aves, reptiles y anfibios depende básicamente de la eficiencia del sistema responsable de eliminar los eritrocitos anómalos y/o viejos (sistema reticu-

loendotelial): a mayor eficiencia menor posibilidad de observar EMN independientemente de si el organismo está expuesto a agentes genotóxicos o no; esto ha sido ampliamente documentado con el objetivo de seleccionar las especies con mayor sensibilidad, que posteriormente, puedan ser utilizadas como indicadores o monitores biológicos en presencia de agentes tóxicos al genoma o genotóxicos (Zúñiga-González *et al.*, 2000; Zúñiga-González *et al.*, 2003b).

Hooftman & de Raat (1982) adaptaron la técnica de MN a peces para evaluar los efectos de la exposición a sustancias carcinogénicas y/o mutagénicas (Zhu *et al.*, 2004, Porto *et al.*, 2005). Los peces son considerados como organismos bioindicadores idóneos porque cubren muchos eslabones de la cadena alimenticia, son capaces de acumular sustancias tóxicas y reaccionan fácilmente a bajas concentraciones de agentes mutagénicos (Minissi *et al.*, 1996; Gustavino *et al.*, 2001). Además, los peces de agua dulce tienen mayor cantidad de sangre que los de agua salada, haciéndolos muy útiles en experimentos de toxicología cuando se trabaja con células sanguíneas con fines de monitoreo (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue el de evaluar el posible potencial de algunas especies de peces que habitan en el lago "La Alberca", para ser utilizados como monitores biológicos, mediante la prueba de MN.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico. Los muestreos se realizaron a mediados de febrero de 2005 en el lago "La Alberca", ubicado en el municipio de Villamar, Michoacán, con un chinchorro playero de 20 m de largo X 3.5 m de ancho y una luz de malla de 0.5 cm. Las especies colectadas pertenecen a 5 familias diferentes: 1) Goodeidae: *Goodea atripinnis* (Jordan), *Alloophorus robustus* (Bean), *Chapalichthys encaustus* (Jordan y Snyder), *Zoogoneticus quitzeoensis* (Bean) y *Xenotoca variata* (Bean); 2) Atherinidae: *Chiostoma lucius* (Boulenger) y *Chiostoma consocium* (Jordan y Hubs); 3) Poeciliidae: *Poeciliopsis infans* (Woolman); 4) Ciclidae: *Oreochromis aureus* (Steindachner) (introducida) y 5) Centrarchidae *Lepomis macrochirus* (Rafinesque) (introducida). Las especies fueron identificadas de acuerdo con Álvarez del Villar (1970) y Trewavas (1983). Las edades de los organismos muestreados se estimaron mediante las tallas y su respectiva ubicación en tablas de frecuencia de longitud, para cada especie (Buelna-Osben, 2002).

La obtención de las muestras se efectuó siguiendo las consideraciones bioéticas para peces, de acuerdo con los requerimientos institucionales y gubernamentales de México e instituciones de salud de los Estados Unidos de Norte América (Poole & Robinson, 1994, SAGARPA, 2001).

Las muestras de sangre se tomaron en campo mediante un corte en la base de la aleta caudal (Hooftman & de Raat, 1982), se realizó el frotis sobre portaobjetos limpios y desengrasados (previamente codificados) y se dejaron secar al aire para posteriormente fijarlas con etanol al 80% durante 10 minutos. La tinción de las laminillas se realizó en el Laboratorio de Mutagénesis del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO), usando el colorante naranja de acridina, específico para ácidos nucleicos (Zamora-Perez, 2004; Zamora-Perez *et al.*, 2004). La tinción de naranja de acridina permite la identificación de los MN ya que se colorean de amarillo brillante al igual que el núcleo, contrastándose del resto del citoplasma; por su parte los contenidos de RNA toman color rojo lo cual facilita diferenciación entre los eritrocitos inmaduros (policromáticos EPC) y los maduros (normocromáticos ENC) (Hayashi *et al.*, 1998). Las laminillas fueron analizadas con microscopía de fluorescencia con objetivo 100X (Marca Carl Zeiss AxioStar® con lámpara de fluorescencia HBO 50 y fuente de poder mbq, con el objetivo A-Plan®) en el Laboratorio de Hidrobiología y Acuicultura de la Escuela de Biología, de la Universidad Autónoma de Guadalajara (UAG).

De cada especie, se determinó la frecuencia de eritrocitos micronucleados (EMN) espontáneos en 10,000 eritrocitos, la proporción de eritrocitos policromáticos (EPC) en 1,000 eritrocitos y la relación citoplasma-núcleo (RC/N) de los eritrocitos (Zúñiga-González *et al.*, 1996; Zúñiga-González *et al.*, 2000; Zúñiga-González *et al.*, 2001). Para la evaluación de los EMN se consideraron los criterios propuestos por Grisolia (2002): los MN deben ser alrededor de un tercio más pequeños que el núcleo, no deben tocar al núcleo, no ser refractarios y presentar el mismo color e intensidad que el núcleo.

Análisis estadísticos. Se verificaron supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los datos de EMN, EPC y RC/N entre las especies colectadas. En el caso de los datos correspondientes a los EMN fueron transformados [$\ln(\text{dato} + 1)$] para poder ser analizados mediante la prueba de ANOVA. No fue posible la normalización de los datos de EPC y RC/N, de ahí que se aplicó prueba de Kruskal-Wallis y las diferencias entre medianas se establecieron con el procedimiento de Conover (1980) para la identificación de grupos homogéneos. Se utilizó el programa computacional Statgraphics™ Plus, ver. 5.0 (Statistical Graphics Corp., USA) para realizar el análisis de los datos, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

RESULTADOS

En la tabla 1 se observa que se colectaron 56 organismos de 10 especies diferentes y se describe el tamaño de muestra de cada una de las especies, la longitud patrón de los organismos muestreados, así como valores individuales y promedios

(\pm desviación estándar) de EMN espontáneos en 10,000 eritrocitos totales, la cantidad de EPC en 1,000 eritrocitos y la RC/N.

Los valores de EMN fluctuaron significativamente ($p = 0.01$) desde 0.6 ± 1.1 para *Goodea atripinnis*, hasta 3.7 ± 1.6 obtenido para *Xenotoca melanosoma*. Las frecuencias de EMN del resto de las especies fueron relativamente bajas, de tal forma que en cinco de ellas se obtuvo un valor promedio de 1.4 y en las últimas tres de 0.7.

En los valores de EPC de los peces muestreados también se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.01$), siendo *Chapalychthys encaustus* la especie que mostró el mayor número (44.6 ± 28), sin embargo mediante las comparaciones múltiples se evidenció que *Xenotoca melanosoma* (29.5 ± 15) y *Oreochromis aurus* (21 ± 14) pertenecen al grupo donde se presentó la mayor cantidad de EPC.

Con respecto a RC/N la diferencia significativa fue de $p = 0.02$; la especie *Oreochromis aureus* registró la mayor proporción (2.6:1) y *Xenotoca melanosoma* (1.7:1) se localizó dentro de grupo con RC/N intermedia.

En relación a la edad de los organismos, se infirió mediante la longitud de los peces, que todos eran adultos (Buelna-Osben, 2002). No fue posible la identificación del sexo.

DISCUSIÓN

La presente investigación fue de carácter exploratorio porque el tamaño de muestra por especie fue dependiente de

la abundancia natural de los organismos. Trabajos descriptivos similares al presente (Zúñiga *et al.*, 1996; Zúñiga *et al.*, 2000) utilizan tamaños de muestra que oscilan entre 1 y 15 organismos para las especies estudiadas. Rodríguez-Cea *et al.*, (2003) emplearon de 5 a 8 organismos por tratamiento para la inducción de MN en peces y para el análisis estadístico emplearon la prueba de Kruskal Wallis. Lo anterior sustenta que los procedimientos estadísticos y tamaños de muestra usados en el presente estudio son válidos.

Los resultados individuales de EMN espontáneos mostraron gran variabilidad dentro de cada especie (Tabla 1), fenómeno que ha sido observado en la mayoría de las especies tanto en mamíferos (Zúñiga-González *et al.*, 2001), aves, reptiles (Zúñiga-González *et al.*, 2000) e incluso también en peces (Hayashi *et al.*, 1998); por tal motivo, la obtención de valores de desviación estándar con magnitudes incluso superiores a los de la media conducen al uso de procedimientos estadísticos no paramétricos (Minissi *et al.*, 1996; Grisolía, 2002; Andrade *et al.*, 2004; Porto *et al.*, 2005).

De acuerdo con Das & Nanda (1986) y Zúñiga-González *et al.* (2000), las características que deben ser consideradas para elegir un organismo biomonitor, incluyen que el animal sea de fácil manejo, manutención y extracción de sangre para poder realizar los frotis, presencia de al menos 3.5 EMN por cada 10,000 eritrocitos y una RC/N que permita observar con claridad los MN y el núcleo regular. Un criterio más que se debe tomar en cuenta para trabajar con organismos de la fauna silvestre es la abundancia de la especie y facilidad de colecta. En este estudio las especies *Xenotoca melanosoma* y *Oreochromis*

Tabla 1. Valores promedio de la longitud patrón, frecuencia de eritrocitos micronucleados y eritrocitos policromáticos y relación citoplasma:núcleo de las especies de peces estudiadas.

Especie	n	LP (cm)	EMN/10,000	EMN	EPC/1000	RC/N
<i>Xenotoca melanosoma</i>	6	$5.2 (\pm 0.3)$	2/5/2/6/3/4	$3.7 (\pm 1.6)c$	$29.5 (\pm 15)c$	1.7:1ab
<i>Oreochromis aureus</i>	5	$15.1 (\pm 1.2)$	1/1/2/3/3	$2.0 (\pm 1.0)bc$	$21.0 (\pm 14)abc$	2.6:1d
<i>Chiostoma consocium</i>	2	$6.8 (\pm 1.1)$	1/2	$1.5 (\pm 0.7)abc$	$19.8 (\pm 14)abc$	1.4:1bcd
<i>Chiostoma lucius</i>	5	$8.7 (\pm 1.7)$	3/0/2/0/1	$1.2 (\pm 1.3)ab$	$34.2 (\pm 19)c$	1.8:1bcd
<i>Lepomis macrochirus</i>	6	$9.9 (\pm 1.0)$	1/0/4/0/2/0	$1.2 (\pm 1.6)ab$	$10.3 (\pm 19)a$	2.2:1cd
<i>Alloophorus robustus</i>	6	$7.9 (\pm 1.8)$	0/3/0/3/0/0	$1.0 (\pm 1.5)ab$	$31.1 (\pm 23)bc$	1.9:1ab
<i>Zoogoneticus quitzeoensis</i>	6	$3.7 (\pm 0.3)$	0/0/0/3/1/1	$0.8 (\pm 1.2)ab$	$23.8 (\pm 6.3)bc$	1.6:1a
<i>Chapalychthys encaustus</i>	6	$6.1 (\pm 0.7)$	2/2/0/0/0/0	$0.7 (\pm 1.0)a$	$44.6 (\pm 28)c$	1.9:1abc
<i>Poeciliopsis infans</i>	7	$3.8 (\pm 0.3)$	0/2/1/0/0/1/1	$0.7 (\pm 0.8)a$	$12.4 (\pm 4.4)ab$	1.8:1ab
<i>Goodea atripinnis</i>	7	$5.1 (\pm 0.6)$	0/0/0/1/0/3/0	$0.6 (\pm 1.1)a$	$11.7 (\pm 5.7)a$	1.7:1ab

n = tamaño de muestra, LP = longitud patrón, cm = centímetros, *EMN = eritrocitos micronucleados, EMN/10,000 = valores individuales observados en 10,000 eritrocitos totales, EPC= eritrocitos policromáticos, *EPC/1000 = Proporción de policromáticos en 1000 eritrocitos, * = Valores promedio \pm desviación estándar, RC/N = relación citoplasma:núcleo. Grupos homogéneos para EMN a partir de LSD con $p=0.05$; Grupos homogéneos para EPC y RC/N a partir de procedimiento de Conover (1980) con $p=0.05$. La igualdad de los superíndices con letras minúsculas indica pertenencia a grupos homogéneos.

aureus presentaron dichos criterios, sugiriendo que estos peces pudieran ser utilizados en estudios con agentes genotóxicos. Específicamente, *Xenotoca melanostoma* obtuvo la mayor cantidad de EMN (3.7 ± 1.6), frecuencia relativamente alta de EPC comparado con el resto de las especies (29.5 ± 15) y una proporción RC/N de 1.7:1, la cual es considerada como aceptable para la diferenciación visual de MN en el citoplasma (Zúñiga-González *et al.*, 1996); Buelna-Osben (2002) menciona que es una de las especies mas abundantes en el lago y de longitud media de 5.2 cm, ventajas que favorecen su captura y manutención en el laboratorio. Además, la familia Goodeidae está constituidas por especies vivíparas exclusivamente mexicanas y para el caso de *Xenotoca melanostoma*, su distribución natural corresponde a la Cuenca Lerma-Chapala-Santiago y altos afluentes del Pánuco (Álvarez del Villar, 1970).

En este trabajo el promedio de EMN espontáneos de *Oreochromis aureus* fue de 2.0 ± 1.0 , en 10,000, igual al descrito en *Oreochromis niloticus*, especie que al ser expuesta a genotóxicos la frecuencia de EMN se incremento hasta 38 EMN en 10,000 células (Palhares & Grisolia, 2002); si bien es cierto que son especies diferentes, es posible obtener híbridos de ambas (Schlechtriem *et al.*, 2004), por lo que se infiere pudieran mostrar respuesta similar a genotóxicos. Por tanto, esta información sustenta que *Oreochromis aureus* también pueda ser considerada como indicador de agentes genotóxicos, no obstante lo que Al-Sabati & Metcalfe (1995) refieren: que aunque sea posible utilizar especies con registros de EMN menores a los recomendados, su respuesta al efecto de genotóxicos puede verse reducida dificultando su evaluación. Por esto es muy importante verificar la respuesta de *Oreochromis aureus* a genotóxicos ya que es una especie de amplia distribución a nivel mundial.

Los EPC, son considerados como herramientas muy útiles en la evaluación de EMN ya que un EPC es un eritrocito joven que contiene RNA y que en aproximadamente 24 horas alcanza su madurez volviéndose normocromático; la observación de EPCMNs (eritrocitos policromáticos micronucleados) se deberá a que previo al momento del estudio hubieron alteraciones ya sea en el huso mitótico o en cromosomas debido a causas naturales o a la exposición a genotóxicos (Zúñiga-González *et al.*, 1996), cabe señalar que en los organismos muestreados no se contaron.

Aunque la mayor cantidad de EPC la presentó *Chapalichthys encaustus* (44.6 ± 28.0), la frecuencia de EPC en las dos especies propuestas (21 ± 14 y 29.5 ± 15 , para *Xenotoca melanostoma* y *Oreochromis aureus*, respectivamente) es adecuada para estudios con genotóxicos de acuerdo con lo descrito por Zúñiga-González *et al.*, (1996).

Las proporciones medias observadas de RC/N en todas las especies permiten la diferenciación del núcleo y MN dentro del citoplasma celular (Grisolia, 2002), sin embargo, en *Oreochromis*

aureus y *Lepomis macrochirus* los valores fueron mayores a 2:1 lo que facilita la identificación de MN.

Buelna-Osben (2002) después de analizar y caracterizar la fisicoquímica del lago La Alberca con base en criterios limnológicos (Wetzel, 1981) apunta que éstas aguas no sufren de contaminación orgánica; lo anterior se explica debido a que no se vierten aguas negras ni escurrimientos agrícolas; también sugiere que el lago pudiera ser declarado como una zona de reserva ya que el inventario de ictiofauna coincide con el de Chapala. La presencia de otro tipo de contaminantes como metales pesados, pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc requieren de métodos analíticos y equipos especializados por lo que señalar que el lago se encuentra libre de contaminantes requiere del complemento de un enfoque analítico químico y pruebas con bioindicadores. El presente estudio aporta una evidencia más de la ausente o baja contaminación del lago ya que en las 10 especies analizadas se obtuvieron bajas cuentas de EMN. De haber existido concentraciones altas de agentes genotóxicos micronucleogénicos, se esperaría haber encontrado valores de EMN mayores a las observadas, en al menos una especie. Lo anterior, *per se*, también es evidencia de que los valores de MN descritos para las especies podría tratarse de los valores basales, lo que deberá verificarse mediante evaluación de MN después de mantenimiento en cuarentena. El conocimiento del valor basal de las especies muestreadas es sumamente importante para realizar futuros estudios de evaluación de agentes genotóxicos en la cuenca Lerma-Chapala, ya que éstos son la referencia que permitiría categorizar zonas con diferente grado de contaminación.

Se concluye que la especie *Xenotoca melanostoma* es candidata a ser evaluada como posible biomonitor de agentes genotóxicos por ser una especie endémica, de fácil captura ya que presentó el valor más alto de EMN espontáneos (3.7 ± 1.6), buena RC/N (1.7:1) y cantidad excelente de EPC (29.5 ± 15); una segunda opción es la especie introducida *Oreochromis aureus* de distribución mundial y de fácil captura. Se recomienda la realización de experimentos con estas especies en presencia de agentes genotóxicos conocidos para corroborar la posibilidad de ser usados como indicadores biológicos.

AGRADECIMIENTOS

Dr. Francisco Martínez Sandoval, Director de Programa Internacional de la Facultad de Medicina UAG y al Dr. Tetsuya Ogura Fujii del Departamento de Química del Instituto de Ciencias Exactas y Terrestres de la UAG por el apoyo general y financiero.

David Ortiz Mendoza, Director de la Escuela de Biología de la UAG por las facilidades para el uso del equipo de microscopía y gestión en uso de vehículos.

REFERENCIAS

- AL-SABATI, K. & METCALFE, C.D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research* 343(2-3):121-135.
- ÁLVAREZ DEL VILLAR, J. 1970. *Peces Mexicanos (Claves)*. Comisión Nacional Consultiva de Pesca. Secretaría de Pesca, México. 132 p.
- ANDRADE, V., J. SILVA, F. SILVA, V.D. HEUSER, F.F. DIAS, M.L. YONEAMA & T.R.O. FREITAS. 2004. Fish as bioindicators to assess the effects of pollution in two southern Brazilian rivers using the comet assay and micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 44(5):459-68.
- BÁEZ-RAMÍREZ, O.A., F. PRIETO-GARCÍA & C.A. GALÁN-VIDAL. 2004. Bioacumulación y daños genotóxicos en el Pez Cebra (*Danio rerio*) por arsénico en aguas de Zimapán, Hidalgo (Méjico). Ensayos en cortos plazos. *Aquatic* 21:62-70.
- BUELNA-OSBEN, H.R. 2002. *Análisis de la estructura y dinámica de la comunidad de peces del lago "La Alberca", Municipio de Villamar, Michoacán*. CIIDIR-IPN-Michoacán. CGPI 20010359. Informe Técnico Final de Proyecto de Investigación 2001. 36 p.
- CONOVER, W.J. 1980. Some methods based on ranks. Chapter 5: 229-237. En: *Practical Nonparametric Statistics*. 2nd Edition. John Wiley & Sons. New York. 496 p.
- DAS R.K. & N.K. NANDA. 1986. Induction of micronuclei in peripheral erythrocytes of fish *Heteropneustes fossilis* by mitomycin C and paper mill effluent. *Mutation Research* 175:67-71.
- GRISOLIA, C.K. 2002. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutation Research* 518 (2):145-150.
- GRISOLIA, C.K. & F.L.R.M. STARLING. 2001. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. *Mutation Research* 491 (1):39-44.
- GUSTAVINO, B., K.A. SCORNAJENGHI, S. MINISSI & E. CICCOTTI. 2001. Micronuclei induced in erythrocytes of *Cyprinus carpio* (teleostei, pisces) by X-rays and colchicine. *Mutation Research* 494 (1):151-159.
- HANSEN, M.A. & M. VAN AFFERDEN. 2001. Toxic Substances. Cap. 4:95-124. En: M.A. Hansen & M. van Afferden (Eds.). *The Lerma-Chapala Watershed Evaluation and Management*. Kluwer Academic. Plenum Publishers. New York, USA. 385 p.
- HAYASHI, M., T. UEDA, K. UYENO, K. WADA, N. KINAE, K. SAOTOME, N. TANAKA, A. TAKAI, Y.F. SASAKI, K. ASANO, T. SOFUNI & Y. OJIMA. 1998. Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms. *Mutation Research* 399 (2):125-133.
- HOOFTMAN, R.N. & W. K. DE RAAT. 1982. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate. *Mutation Research* 104 (1-3):147-152.
- MINISSI, S., E. CICCOTTI & M. RIZZONI. 1996. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus plebeius* (Teleostei, Piscis) from two natural environments: a bioassay for the in situ detection of mutagens in freshwater. *Mutation Research* 367 (4):245-251.
- NEPOMUCENO, J.C., I. FERRARI, M.A. SPANÓ & A.J. CENTENO. 1997. Detection of micronuclei in peripheral erythrocytes of *Cyprinus carpio* exposed to metallic mercury. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30:293-297.
- PALHARES, D. & C.K. GRISOLIA. 2002. Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetics and Molecular Biology* 25 (3):281-284.
- POOLE, T.B. & R. ROBINSON. 1994. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Longman Scientific and Technical. USA. 330 p.
- PORTO, J.I.R., C.S.O. ARAUJO & E. FELDBERG. 2005. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research* 97 (3):287-292.
- RAMOS-ESPINOSA, M. G. & LÓPEZ-HERNÁNDEZ M. 2006. Algunas fuentes contaminantes en la cuenca Lerma-Chapala. *Memorias del II Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental*. Puebla, México. 24 al 28 de Abril 2006.
- RODRÍGUEZ-ARIZA, A., N. ABRIL, J.I. NAVAS, G. DORADO, J. LÓPEZ-BAREA, & C. PUEYO. 1992. Metal, mutagenicity, and biochemical studies on bivalve molluscs from Spanish coasts. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 19(2):112-24.
- SANDOVAL, F. DE P. 1981. *Obras Sucesos y Fantasías en el Lago de Chapala*. Gobierno de Jalisco. Secretaría General. Unidad Editorial. Colección Textos Jalisco. Serie: Estudios e Inversión. No. 15. 77 pp.
- SCHLECHTRIEM, C., BRESLER, V., FISHELSON, L., ROSENFELD, M., & BECKER, K. 2004. Protective effects of dietary L-carnitine on tilapia-hybrids (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) reared under intensive pond-culture conditions. *Aquaculture Nutrition* 10(1):55-63.
- Schmid, W., 1975. The micronucleus tests. *Mutation Research* 31:9-15.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL (SAGARPA). 2001. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-200-1999. "Especificaciones técnicas para la producción cuidado y uso de animales de laboratorio". *Diario Oficial de la Federación*. México, D.F. Junio 18. 1-58.
- TORRES-BUGARÍN, O., A. VENTURA AGUILAR, A. ZAMORA-PEREZ, B.C. GÓMEZ-MEDA, M.L. RAMOS-IBARRA, G. MORGAN-VILLELA, A. GUTIÉRREZ-FRANCO & G. ZÚÑIGA-GONZÁLEZ. 2003. Evaluation of cisplatin +5-FU, Carboplatin +5FU, and ifosfamida + epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the bucal mucosa. *Mutation Research* 539 (1-2):177-186.
- TREWAVAS, E., 1983. *Tilapiine fishes of the genera Sarotherodon, Oreochromis and Danakilia*. British Mus. Nat. Hist., London, UK. 583 p.

- WETZEL, R. 1981. *Limnología*. Ediciones Omega. Barcelona. 679 p.
- ZAMORA-PEREZ, A.L. 2004. Ensayo de micronucleos en células de descamación de vagina de rata en proestro: Nueva alternativa para evaluar genotóxicos. *Tesis Doctoral*. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. 4-14.
- ZAMORA-PEREZ, A.L., G.M. ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, B.C. GÓMEZ-MEDA, M.L. RAMOS-IBARRA, C.M. BATISTA-GONZÁLEZ & O. TORRES-BUGARÍN. 2004. Induction of Micronucleated Cells in the Shed Skin of Salamanders (*Ambystoma sp.*) Treated With Colchicine or Cyclophosphamide. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 44 (5):436-40.
- ZÁRATE DEL VALLE, P. & B.R.T. SIMONEIT. 2005. La generación de petróleo hidrotermal en sedimentos del Lago Chapala y su relación con la actividad geotérmica del rift Citala en el estado de Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 22 (3):358-370.
- ZHU, Y., J. WANG, Y. BAI & R. ZHANG. 2004. Cadmium, chromium, and copper induce polychromatocyte micronuclei in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72 (1):78-86.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G., B.C. GÓMEZ-MEDA, A. ZAMORA-PEREZ, M.L. RAMOS-IBARRA, C.M. BATISTA-GONZÁLEZ, S. ESPINOZA-JIMÉNEZ, M.P. GALLEGOS-ARREOLA, C. ÁLVAREZ-MOYA & O. TORRES-BUGARÍN. 2003A. Induction of micronuclei in proestrus vaginal cells from colchicine- and cyclophosphamide-treated rats. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 42 (4):306-310.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G., O. TORRES-BUGARÍN, J. LUNA-AGUIRRE, A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A. ZAMORA-PEREZ, B.C. GÓMEZ-MEDA, A.J. VENTURA-AGUILAR, M.L. RAMOS-IBARRA, A. RAMOS-MORA, G.G. ORTIZ & M.P. GALLEGOS-ARREOLA 2000. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutation Research* 467 (1):99-103.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G., O. TORRES-BUGARÍN, M.P. RAMÍREZ-MUÑOZ, A. RAMOS, E. FANTI-RODRÍGUEZ, E. PORTILLA, D. GARCÍA-MARTÍNEZ, J.M. CANTÚ, M.P. GALLEGOS-ARREOLA & J. SÁNCHEZ-CORONA. 1996. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutation Research* 369 (1-2):123-127.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G.M., O. TORRES-BUGARÍN, A.L. ZAMORA-PEREZ, B.C. GÓMEZ-MEDA, M.L. RAMOS-IBARRA, P. GALLEGOS-ARREOLA, A. FLORES-GARCÍA & A. LÓPEZ-URIBE. 2003B. Induction of micronucleated erythrocytes in mouse peripheral blood after cutaneous application of 5-fluorouracil. *Archives of Medical Research* 34(2):141-144.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G., O. TORRES-BUGARÍN, A. ZAMORA-PEREZ, B.C. GÓMEZ-MEDA, M.L. RAMOS-IBARRA, S. MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, J. LUNA-AGUIRRE, A. RAMOS-MORA, D. ONTIVEROS-LIRA & M.P. GALLEGOS-ARREOLA. 2001. Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutation Research* 494(1):161-167.

Recibido: 25 de octubre de 2005.

Aceptado: 10 de octubre de 2006.