



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE MORELOS**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN**

**ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES
ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN BIOLOGÍA INTEGRATIVA DE
LA BIODIVERSIDAD Y LA CONSERVACIÓN**

PRESENTA:

BIÓL. MIGUEL ANGEL GALVÁN RAMÍREZ

DIRECTOR: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ



CUERNAVACA, MORELOS.

AGOSTO, 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Mor. a 18 de agosto de 2020

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada “**ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.**” Del alumno **Miguel Angel Galván Ramírez**, con número de matrícula **10012896**, aspirante al grado de Maestro en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO.**

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dr. Efraín Tovar Sánchez



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

EFRAIN TOVAR SANCHEZ | Fecha:2020-08-17 19:40:40 | Firmante

jSiRO6n39sUppbDGniyXwpq6rlpmBe97mpbgbJIsFQBgw7I4Dx+mqEz17ZFEs6JASJNWLokkK8SUVKMAAtGtp5KCKFKSkgtSikkLdwcwGx+Ugq4mxdDG8/m+5x3cS8NDXocE0N9LR+GB0toUKy0NpLfEMGB8WNf6bA6FMGZVWS5Y9moKZ5z8TbT0wTK2b5Qpb0EuklZYx16BQ2VDMcPYNzdV9yvwMLT8a5HsfGU+WD9eW5GBhjSodDploHgEAuVZm2zcA2G6EKQpCurvOT61foysh98G2lZpf/OAOUvJTLsHHGT7BRjLXoU8sXmwutdCiXsuLT2sLW936gfhz6wQw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[9DeBmv](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/gJMzuTsFciopS39P3Xtyx9A77A2Lgo3a>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



CEIB
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA

Cuernavaca, Mor. a 18 de agosto del 2020

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada “**ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.**” Del alumno **Miguel Angel Galván Ramírez**, con número de matrícula **10012896**, aspirante al grado de Maestro(a) en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

**Dra. Patricia Mussali Galante.
Responsable del Laboratorio de Investigaciones Ambientales
Centro de Investigación en Biotecnología
Profesor-Investigador T.C.**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA
Av. Universidad No. 1001 Col Chamilpa C. P. 62209 Tels: 3 29 70 57
Universidad Autónoma del Estado de Morelos





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PATRICIA MUSSALI GALANTE | Fecha:2020-08-18 13:40:54 | Firmante

ntOc958+6zqDyEiYOK2/uQt4j6GoiBZgq/P24NF2ylUAR3irH9MPGI+oPajs5sMh+Y3Z25Mv1y/Cfu9jRvUgzU1tpXoKiRj5/fe270Fc8bCNKuUlhBBL4NL9w+QfwriSoCkshBhE454sG
G7veXRuL63c5h+AgN8mKZEQEPE8ppqg8mp6QE2DL1rOgNzWdWCavPglrxlbgHW0iO2UCE5xUnOhlpNBLYoJ8J1y10Lx1izbqHzRnFQJfABNKVSlgQpz+MVPfAMoxIZJEAH
e0GBQIQPJALMWpxHwVsueYeNLJvVy96C8otOT7MoJ+33A6FbulZEH/foZa2HidETuUWRw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



B6nPhe

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/JoHHnv00rwrHRhryzlhps9wRySMhaNSmcrn>



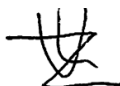
Fecha: Cuernavaca, Mor. a 18 de agosto del 2020

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada “**ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.**” Del alumno **Miguel Angel Galván Ramírez**, con número de matrícula **10012896**, aspirante al grado de Maestro(a) en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dra. Luz de María Breton Deval

Fecha: Cuernavaca, Mor. a 18 de agosto del 2020

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada “**ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.**” Del alumno **Miguel Angel Galván Ramírez**, con número de matrícula **10012896**, aspirante al grado de Maestro(a) en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dra. Patricia Trujillo Jiménez



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PATRICIA TRUJILLO JIMENEZ | Fecha:2020-08-18 08:11:25 | Firmante

gL1+GWPLVrdQLCeVWcv1EGR32Wa9VukOXpbiZfN/8V+Up479QCqh7xonaUOy5JmBHjnFFcwck9GUfEQOxJN3ELIAG89KtkWUikwcfKkhuSbLIGxxH41JULal4aPRTyTBnfmBX
Pox4IWclGXZjOqNgWQ8LQqBgvWvuGsYOAV75leYz4UmVJHeQLrOmyEYd1VFr1SxYaS1ldSLNbRzjiORT4N5tGvedPDStleM7p0ELiEaqvRDweL2DRS/eKmKISH/mzG0lipXd4
AVUQDfmHLYncOX9+R1RtlznoLOSOkEhsfgOdGBWgK4Y4SqLzSU97A5grpW+jnMOA54Bklg99EuAg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[jzZ0FW](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FIRrCGsTIVx120ygsyQCDJYUy2tF4UiY>





FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA Y RECURSOS NATURALES
LABORATORIO DE INTERACCIONES Y PROCESOS ECOLÓGICOS
Circuito exterior s/n. Ciudad Universitaria.
Alcaldía. Coyoacán, 04510 Ciudad de México
Tel. +52(55)56224835

Ciudad, Universitaria a 18 de agosto de 2020

**Comisión de Seguimiento Académico
Maestría en Biología Integrativa de la
Biodiversidad y la Conservación
Presente**

Como integrante del jurado y después de haber evaluado la tesis titulada **“ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ROEDORES SILVESTRES ASOCIADOS A JALES DE HUAUTLA, MORELOS.”** Del alumno **Miguel Angel Galván Ramírez**, con número de matrícula **10012896**, aspirante al grado de Maestro(a) en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación, considero que la tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida en el examen de grado. Por lo tanto, emito mi **VOTO APROBATORIO**.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Dr. Zenón Cano Santana



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ZENÓN CANO SANTANA | Fecha:2020-08-19 14:57:42 | Firmante

roqwJmvy2x84LeggJqRhcUHJBQnKg76KSj+A3Nr5MXJ2gSJD9+GNextboUvREAv6hvWzhdnU5JwncJyrFL8gs1YGfeOJhRy6X/mZR0mZsF2JSYi4o1fn4xqUwHB5XF5cvmBt5GzIt3n+UPkzPmsXd0iLuMs0TCxa4Cjc9wryJHkQqWernU/V8GTvmPFwqp/yYHmKD7+GirvdpvzqVMk4/XxRIcln+HiDfll1aj33Kfv7oOlgHn8vy2bbrvVW0cBEBjQkviS5XsGGAwpmrZiUoM8UAqAwHB3uVpmlYgV2wtUsDoEzo0SbgdSOy6VW2wFv2hMuq/xwhArgEGFVTkMTg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



fneYb2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ktvfQltUu7xVI83QxUpYXtpf3Inb4LZQ>



**En lo más profundo de la ciencia, todos
tenemos un núcleo de información, que
al paso de un metal se vuelve una
estela de preguntas en busca de
respuestas...**

Miguel A. Galván

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi familia:

A mis padres Elisa y Enrique, por su apoyo incondicional, gracias por siempre estar a mi lado y darme siempre el amor que me impulsa a seguir adelante.

A mis hermanos Emanuel y Alberto, que en conjunto y de manera individual hemos logrado seguir adelante. Gracias por su apoyo para cumplir esta meta.

A mis cuñadas Ilce y Liz por sus consejos, a mis sobrinas Sofía, Vania y Romina, por darme gratos momentos de alegría.

A quienes me dieron su apoyo y grandes momentos en familia: **a mi abuelo Federico, a mi tío Beto, Alfonso, Panchito, Martín, Rafa, Toño. A mi tía Paty, Martha, Vicky, Luz. A mis prim@s Lorena, Nancy, Tania y Gerardo.**

A mis grandes amigos: **Gustavo, Eduardo, Cesar, Yakin, Diego, Oswaldo y Francisco Salazar.**

A ti: **Eli Alcántara, al maestro Edgar Gómez, Marco Lozano, Ana Ortiz, Demetrio Porcayo, a la familia Manjarrez García, Aguilar Puerta, Vega Juárez, Esquivel González, Ibarra Encinas, Pérez Martínez (Doña Lupe, Toño, Mich y Don Lalo), San Luis Briseño, Rosas-Cano y Ruiz González.**

EN MEMORIA DE:

Mis abuelitas **Francisca Guadarrama, Leonila Galván** y mi abuelo **Enrique Castro.**

Mi gran amigo **Woldember Gutierrez** a quien recuerdo con gran afecto.

Al campeón: **Dr. Jaime Bonilla.**

Toño Robledo, Luisa Guadarrama, Oscar Guadarrama, David Rodriguez Contreras, Antonia Galván Becerra, Paloma Mendoza, Marcos Elias Lozano Jacobo, Sr. Enrique Nopala, Sr. Sergio Esquivel, Sr. Ramón Vergara Maldonado y Sra. Ana Maria Allende de Vergara.

Y a la memoria de todas las víctimas de la pandemia por Covid-19.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos**, por su contribución a mi formación profesional.

A la **Maestría en Biología Integrativa de la Biodiversidad y la Conservación**, del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) por todo el apoyo brindado y la oportunidad de lograr este grado, así como las facilidades que me otorgaron para poder concluir el proyecto, gracias a toda la administración.

Al **Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgado para la realización de mis estudios (becario 890518).

A los miembros de mi comité tutorial y de examen de grado:

Dr. Efraín Tovar Sánchez (Director de tesis): Gracias por darme la oportunidad, confianza, apoyo y tiempo en la dirección de este proyecto de investigación durante la maestría, gracias por todo el conocimiento otorgado, por siempre fomentar el trabajo de calidad y en equipo. Y por siempre transmitir ese positivismo para realizar nuevas actividades, gracias por sus consejos y ser parte de mi formación profesional.

Dra. Patricia Mussali Galante: Gracias doctora por todo el apoyo brindado en el laboratorio, la confianza que me otorgo para realizar de la mejor manera el proyecto, por todas las revisiones, comentarios y consejos para el escrito y por tomarme en cuenta junto con el Dr. Efraín para realizar nuevas actividades para un bien común. Sin duda un gran grupo de trabajo se ha consolidado.

Dra. Luz de María Breton Deval: Por todas sus revisiones, observaciones, comentarios, apoyo e interés constante durante todo el proceso del proyecto. Gracias por su confianza, amabilidad y accesibilidad en todo momento y por toda su contribución en mi formación.

Dra. Patricia Trujillo Jiménez: Gracias por siempre apoyarme, por todos aquellos consejos que nunca están de más. Gracias por resolverme mis dudas e enriquecer el proyecto. Finalmente, gracias por formar parte del jurado para evaluar este proyecto y estar presente en mi formación.

Dr. Zenón Cano Santana: Por toda su amabilidad y contribución en la evaluación de este proyecto. Gracias por su comprensión.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Al **maestro Enrique Sánchez Salinas**, porque gracias a usted un día sentados en la banqueta hablando sobre la búsqueda de un director de tesis para mis estudios de posgrado supe del Dr. Efraín. Gracias por sus consejos y humildad.

Dra. Leticia Valencia por su apoyo otorgado dentro del grupo de trabajo durante la maestría, gracias por su accesibilidad, comentarios y consejos brindados.

Dra. Isela Hernández, muchas gracias por todo el apoyo brindado para el proyecto, por los nuevos conocimientos y técnicas en el trabajo con los roedores, por el apoyo en laboratorio y en campo, por aquellos consejos para la mejora en mi formación académica. Gracias por también por una gran amistad.

Biól. Alejandro Flores, por tus consejos y apoyo en campo en la revisión de la vegetación de los sitios del proyecto, así como tu amistad, accesibilidad y amabilidad que te caracteriza, muchas gracias.

Dra. María Luisa Castrejón, Dr. Alexis Rodriguez, Dr. Rolando y la Maestra Lety, por su apoyo en laboratorio y los buenos ánimos que me daban para seguir adelante.

A mis compañeros y buenos amigos del Laboratorio de Marcadores Moleculares (CIByC) y del Laboratorio de Investigaciones Ambientales (CEIB):

Ana Ríos, muchas gracias por tu apoyo en campo y en laboratorio, nada de esto hubiera sido posible sin tu valiosa participación, te admiro mucho, gracias por compartir siempre buenos momentos y tu gran amistad.

Anaid Fuentes, gracias por tu amistad y todas tus atenciones junto a tu familia que tan amablemente me han apoyaron, gracias a ti por tus consejos, tu ayuda en el laboratorio y en campo, eres una súper persona.

Carlos Vergara, amigo, muchas gracias por apoyarme en campo, por haberme apoyado a contactar con grandes personas en Huautla, por esos consejos para realizar el ensayo cometa, por todo el trabajo que en conjunto sacamos en el laboratorio y gracias también a Ana por su apoyo administrativo y moral y saludos a mi amiguito Itzae.

Carlos Quintana, gracias por estar siempre dispuesto al trabajo de campo, las manejas y los trabajos extras.

Claudia, gracias por el apoyo en campo junto con la Dra. Isela.

Miguel Santoyo, mi estimado amigo y tocayo, me faltaran gracias para recompensar tu apoyo desde el primer día en que pise el laboratorio, te convertiste en un buen amigo, agradezco, tus consejos, disposición, amabilidad y humildad.

Gracias por la confianza y todos esos gratos momentos, siempre resolviendo los problemas que luego nos aquejaban. Nunca cambies.

Natalia de la Cruz, por todo tu apoyo en laboratorio, campo, por los consejos y tu sinceridad, muchas gracias.

Xavier Torres, mi estimado amigo, gracias por el apoyo en campo, en el laboratorio, por las lavadas de trampa y tu buen ánimo en las primeras salidas de campo.

Joel Castañeda, te agradezco todo tus consejos y apoyo en laboratorio como en campo, por los largos recorridos manejando y tu gran disposición. Gracias por las pláticas en la busca de soluciones o mejoras a nuestros proyectos y por las horas que pasábamos lavando laminillas.

Juan Ramírez, mi estimado amigo, poco es el tiempo en conocernos, pero sin duda te agradezco todo tu apoyo y esa gran disposición, eres una muestra de humildad y trabajo. Gracias por acompañarme en campo. Nunca cambies.

Gracias compañeros y amigos por su apoyo en laboratorio y campo, por pasar buenos momentos: **Dalia, Miriam, Yaquelin, Mariana, Dania, Alan, Marcos, Alexis Sofia, Damaris, Karen, Janeth, Elgar, Isaac y a todos los compañeros del servicio social.**

Al personal de la Estación Biológica de Quilamula, por sus atenciones brindadas y gestos de bondad: **Don Goyo, Don Amado y Don Lucas.** A la señora **Mary** por su amabilidad y hospedarnos durante el tiempo de trabajo. Muchas gracias por todo.

A la localidad de Huautla, por brindarme la oportunidad de poder desarrollar el proyecto. Muchas gracias a tan grandes personas que estuvieron apoyándome y que sin ustedes este proyecto no hubiera sido posible: **David**, amigo, de verdad muchas gracias eres una magnífica persona, gracias por tu disponibilidad, por abrirme las puertas de tu casa y conocer a tu linda familia. Gracias **Eduardo, Santos, Andrés y Julio** por todo su apoyo y atenciones.

Don Martín y Vicente, “polis” gracias por su apoyo en las instalaciones del CIByC, siempre dando el extra en su trabajo.

Gracias **Fer**, por estar siempre apoyándome, por todos los buenos momentos juntos en los que incluso te toco lavar trampas y más, te amo. Una meta más cumplida caminando de tu mano.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Minería en México y problemática ambiental asociada a residuos mineros	1
Peligrosidad de los jales mineros	2
Mecanismos de toxicidad de los metales pesados	3
Biodisponibilidad	5
Biomarcadores en estudios ecotoxicológicos	5
Biomarcadores de moléculas-individuos	6
Biomarcadores a nivel de población	6
Biomarcadores a nivel de comunidad y ecosistema	7
Efecto de la contaminación ambiental por metales pesados en los distintos niveles de organización biológica	7
Efecto de la contaminación ambiental por metales pesados en roedores silvestres	8
Importancia de los roedores en estudios ecotoxicológicos	12
Caso de estudio: Huautla, Morelos	12
JUSTIFICACIÓN	13
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO GENERAL	14
Objetivos Particulares	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Sitios de estudio	15
Especies de estudio	16
<i>Baimoys musculus</i> (Merriam, 1892)	16
<i>Liomys irroratus</i> (Gray, 1868)	17
<i>Peromyscus melanhopryst</i> (Coues, 1874)	17
Muestreo de roedores	18
Identificación de especies de roedores	18
Estructura de las comunidades de roedores	19
Densidad de las especies de roedores	21
Análisis macro-morfológico de especies de roedores	21
Medición de metales pesados en hígado	22
Colecta de muestras sanguíneas	23
Evaluación del daño genético (rompimiento de cadena sencilla) por medio de la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa (pH 13)	23
Modelo sigmoidal: Categorías de impacto entre de la concentración de metales pesados y el nivel del daño al ADN.	24
RESULTADOS	26
Composición de las comunidades	26

Bioacumulación de metales por sitio de estudio.....	26
Composición de las comunidades de roedores silvestres	27
Densidad de roedores	29
Diversidad de comunidades de roedores.....	30
Similitud entre comunidades de roedores.....	31
Macro-morfología de especies de roedores entre sitios	31
<i>Baiomys musculus</i>	31
<i>Liomys irroratus</i>	32
<i>Peromyscus melanophrys</i>	32
Bioacumulación de metales pesados y su relación con el daño genético en roedores.....	38
Modelo sigmoideal: Categorías de impacto entre la concentración de metales pesados y el nivel del daño genético	42
<i>Baiomys musculus</i>	43
<i>Liomys irroratus</i>	43
<i>Peromyscus melanophrys</i>	43
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES.....	66
Literatura citada.....	68

Galván-Ramírez, M. (2020). Estructura de la comunidad de roedores silvestres asociados a jales de Huautla, Morelos. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

RESUMEN

México es un país localizado en una región rica en minerales, propiciando así una de las actividades económicas más importantes que es la minería. A pesar de lo anterior, la actividad minera impacta negativamente al ambiente, ya que genera el 65 % de los residuos industriales que se producen en el país. En particular, dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, se encuentra la localidad de Huautla, Morelos, reconocida por haber sido una zona minera por excelencia, y como consecuencia de esta actividad se produjeron grandes cantidades de residuos (jales, relaves o colas) generados durante los procesos de recuperación de los metales. Se ha documentado que los jales contienen 780,000 toneladas de desechos, a la intemperie y sin ningún manejo, los cuales son fuente de elementos potencialmente tóxicos, como metales pesados (MP), que pueden inducir efectos adversos en los diferentes niveles de organización biológica, promoviendo cambios en la distribución y abundancia de poblaciones, en la estructura y funcionamiento de comunidades y en la dinámica de los ecosistemas.

Los principales MP en los jales de Huautla son el plomo y el arsénico, además de otra cantidad de material no procesado rico en Pb, Cd y Mn. En los jales se encuentran establecidas especies de mamíferos pequeños (P. ej., roedores), que juegan un papel ecológico clave en la estructura y funcionamientos de las comunidades y por su historia de vida varias de estas especies han sido consideradas un buen modelo biológico y como organismo centinela.

La presente investigación se realizó en la localidad de Huautla, en tres sitios expuestos a MP (jales) y un sitio control, con un enfoque de multibiomarcador. En particular, se evaluó el efecto de la contaminación por MP sobre los niveles de daño genético (DG) y cambios en la estructura de las comunidades de roedores silvestres de Huautla, Morelos. Además, por medio del modelo sigmoidal se determinó la relación e influencia entre la bioacumulación de MP en hígado y los niveles de DG en individuos hembras de las tres especies de roedores dominantes.

La comunidad de roedores está compuesta por *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus*, *Peromyscus melanophrys* y *Reithrodontomys fulvescens*. La composición de roedores varía significativamente entre sitios de estudio. La densidad de roedores fue significativamente mayor en el sitio testigo en relación con los sitios contaminados por MP. En contraste, los índices de diversidad de Shannon-Wiener y de Simpson no difirieron significativamente entre los sitios de estudio. Por su parte, el índice de Jaccard registró que la similitud de especies de roedores entre

comunidades oscila entre el 75 % al 100 %, por su parte, el índice de Czekanowski muestra una variación en la similitud del 63 % al 88 %.

En general, las concentraciones de MP (Al, Pb, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) y metaloides (As) en el hígado de las hembras fueron significativamente mayores en los sitios expuestos a MP en relación con los individuos colectados en el sitio testigo. La mezcla de MP bioacumulados en el hígado varía significativamente entre sitios de estudio.

Los mayores niveles de DG fueron detectados en los individuos establecidos en los jales en comparación con los individuos del sitio testigo, independientemente de la especie de estudio. En general, el Cu tuvo un efecto significativo sobre los niveles de DG en hembras de las tres especies. En particular, en individuos de *B. musculus* se detectó un efecto significativo del Cu, Mn y Zn, en *L. irroratus* de Al, Cu y Pb, y en *P. melanophrys* de Zn y Cu, sobre los niveles de DG en hembras. El modelo sigmoidal mostró que la especie *B. musculus* es una de las mejores especies para estudiar ambientes contaminados, principalmente por Cu seguido del Zn y Mn, para *L. irroratus* Al seguido de Pb y Cu, en tanto que para *P. melanophrys* Cu seguido del Zn.

Este estudio expone que el estrés ambiental causado por metales pesados es uno de los factores principales que influye en los niveles de DG, densidad y composición de la comunidad de roedores que habitan en los jales de Huautla, Morelos. Asimismo, el modelo sigmoidal es una buena herramienta para seleccionar la especie de roedor a elegir como modelo de estudio, y que ésta depende del tipo de MP a estudiar. Se sugiere usar a la composición de las comunidades en escalas espaciales finas como un biomarcador a nivel de comunidad.

INTRODUCCIÓN

Minería en México y problemática ambiental asociada a residuos mineros

México es un país localizado en una región volcánica, la cual es rica en minerales, lo que ha propiciado el desarrollo de la minería desde épocas prehispánicas con yacimientos mineros ubicados principalmente en las regiones de Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Querétaro y Morelos (Volke *et al.*, 2005). En México, la minería es una actividad económica muy importante y actualmente se lleva a cabo en todos los estados (INEGI, 2015). Durante el año 2016, nuestro país ocupó el tercer lugar en Latinoamérica y sexto lugar a nivel mundial en inversión de exploración minera (SE, 2017). De acuerdo con el Anuario del Servicio Geológico Mexicano publicado en 20019, durante el 2018 el país ocupó el primer lugar en producción de plata, quinto en plomo, sexto en zinc, séptimo en oro y noveno en cobre, de tal forma que el sector minero representó alrededor de 2.4 % del Producto Interno Bruto (PIB).

A pesar de lo anterior, la actividad minera impacta negativamente al ambiente, puesto que produce gran cantidad de residuos y México no es la excepción, ya que esta actividad genera 65% de los residuos industriales que se producen en el país (Mejía *et al.*, 1999), creando un riesgo significativo para el ambiente (Noriega *et al.*, 2016).

Uno de los impactos de la minería al medio natural es la disposición de los residuos como son los jales, relaves, colas o “tailings”, éstos se generan en los procesos de recuperación de los metales a partir de minerales metalíferos, después de triturar las rocas que los contienen y mezclar las partículas que se forman con agua y sustancias químicas que facilitan la liberación de los metales. Los jales se caracterizan por ser de granulometría fina ($\leq 50 \mu\text{m}$), los cuales generalmente contienen sulfuros metálicos residuales como pirita (FeS_2), pirrotita (Fe_{1-x}S), galena (PbS), esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS_2) y arsenopirita (FeAsS), que son la fuente de elementos potencialmente tóxicos (EPT's), principalmente metaloides como el arsénico y metales pesados (MP) como el cadmio, plomo, cobre, zinc, hierro, entre otros (Romero *et al.*, 2008; Mussali-Galante *et al.*, 2013b).

Los EPT's tienden a ser dispersados por el aire y el agua debido a que se encuentran asociados a partículas muy finas, propiciando que se acumulen en la capa más superficial del suelo y quedando susceptibles a ser absorbidos por los productores primarios y de esta manera, incorporarse a las redes tróficas (Mussali-Galante *et al.*, 2013a).

Los impactos asociados a la actividad minera dependen también de otros factores, como: a) proceso de extracción, si este es a cielo abierto o subterráneo; b) mineral a extraer; c) productos químicos usados en el proceso de extracción, y d) etapa del ciclo de vida de la mina. En México la actividad minera se realiza en la modalidad a cielo abierto, subterráneo, en yacimientos metálicos y no metálicos (De la Fuente *et al.*, 2017).

Cuando los jales son abandonados sin implementar controles ambientales, la acción eólica e hídrica pueden dispersarlos al ambiente, lo que conlleva a la contaminación de los recursos naturales por EPT's produciendo afectaciones en suelo, sedimentos, cuerpos de agua, pérdida de nutrientes, destrucción de procesos ecológicos y la disminución de la diversidad biológica. Los EPT's comúnmente reportados en jales mineros son hierro (Fe), zinc (Zn) y cobre (Cu), los cuales son esenciales en la composición y/o funcionamiento de los organismos vivos, pero en concentraciones altas pueden causar efectos adversos. Por otro lado, arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb), junto al mercurio (Hg), son elementos tóxicos en la naturaleza, y no se les conoce alguna función biológica, además en concentraciones bajas pueden contaminar los ecosistemas con el consecuente efecto nocivo para los organismos vivos (Mejía *et al.* 1999; Gutiérrez-Ruiz *et al.* 2007; Noriega *et al.*, 2016).

Peligrosidad de los jales mineros

La peligrosidad de los residuos mineros debe ser atendida por las industrias involucradas con intervención del gobierno para poder fomentar y promover el manejo adecuado de los residuos, principalmente los denominados jales (Corrales y Martín, 2018).

El impacto ambiental de los jales está determinado por la peligrosidad de los EPT's que contienen. Un problema asociado a los jales se relaciona con la

dispersión de éstos hacia su entorno. En las zonas lluviosas, esta problemática ambiental está relacionada con la generación de drenaje ácido y su dispersión a través de los escurrimientos superficiales (dispersión hídrica), mientras que en las zonas áridas se relaciona con la dispersión provocada por el viento (dispersión eólica) (Medel *et al.*, 2008; Romero *et al.*, 2008).

El grado de peligrosidad de los jales, depende de la naturaleza tóxica del residuo, determinada por la geología del yacimiento, las concentraciones de metales y metaloides, y por la acción de los factores biológicos y geoquímicos sobre los residuos. Por consiguiente, los contaminantes que finalmente sean liberados de los jales, y transportados, son los que potencialmente pueden generar daños a los ecosistemas (Corrales y Martín, 2013).

La fracción soluble (iones y coloides) es la que representa mayor peligro ya que podría ser movilizada y contaminar los cuerpos de aguas (superficiales y subterráneos). También se considera a esta fracción soluble (fracciones disponibles que pueden ser absorbidas por un organismo) como la más peligrosa, debido a que puede estar biodisponible para ser absorbida por la flora y fauna asociada (Romero *et al.*, 2008; Esparza-Claudio, 2011; Santoyo- Martínez, 2016).

Mecanismos de toxicidad de los metales pesados

La toxicología ambiental permite analizar las diferentes formas de contaminación, evaluando la naturaleza de los contaminantes y las dosis que producen efectos tóxicos o nocivos en los seres vivos (Capó, 2002). Los resultados de los estudios ecotoxicológicos son una valiosa herramienta de predicción para definir los umbrales que pueden soportar determinados ecosistemas ante una contaminación específica (Posada y Arrovaye, 2006). Así, grandes cantidades de contaminantes, como los metales son vertidos a la atmósfera, suelo y agua, los cuales finalmente son absorbidos por los organismos (Prieto *et al.*, 2009). Por definición los metales son elementos que presentan una densidad mayor de 5 g/cm³ en su forma elemental, son buenos conductores de calor y electricidad, químicamente tienden a perder electrones para formar iones positivos (Barceló y Poschenrieder, 1992; Jaishankar *et al.*, 2014).

Si bien los metales están presentes de manera natural en la corteza terrestre por las variaciones geológica del área a lo largo de la historia, la presencia de estos metales en el ambiente ha ido incrementando por las actividades del ser humano a través del tiempo (Jaishankar *et al.*, 2014).

La contaminación metálica supone un desafío medio ambiental importante para los organismos, ya que diversos metales que son micronutrientes esenciales, como Cu y Zn, resultan tóxicos en concentraciones elevadas, mientras que otros, como Cd, Pb y Hg, son tóxicos a dosis mínimas (Volke y Velasco, 2004). Se han realizado distintos estudios sobre la toxicidad de los metales, donde se ha reconocido que la relación entre la exposición y los subsecuentes efectos sobre la salud son un proceso de varias etapas en las que se incluyen: la exposición externa, la dosis interna, los efectos biológicos tempranos, alteraciones en la estructura y funcionamiento celular, y cambios fisiológicos hasta la aparición de la enfermedad (Link *et al.*, 1995; Vanden-Heuvel y Davis 1999; Mussali-Galante, 2013).

Por lo anterior, cuando los MP se han movilizados y están biodisponibles estos pueden ser peligrosos para los organismos puesto que no pueden ser asimilados metabólicamente, de manera que estos al ingresar a los organismos los bioacumulan (aumento de la concentración del contaminante en un organismo en determinado tiempo), de tal forma que su concentración es mayor en el organismo respecto al medio, propiciando a la vez un proceso de biomagnificación, el cual se define como el aumento en las concentraciones de un tóxico (MP) sucesivamente a través de la cadena trófica, observándose un incremento de las concentraciones en los organismos ubicados en los niveles tróficos superiores, por lo tanto, se pueden observar afectaciones en los niveles de organización biológica, desde las moléculas hasta los ecosistemas (Mussali-Galante *et al.*, 2013a; Kim *et al.*, 2015; Crettaz *et al.*, 2017).

La toxicidad de los MP reside en la capacidad que tienen de evadir las barreras naturales del organismo y modificar el funcionamiento normal a través de la activación e inactivación de blancos moleculares importantes (Waalkers *et al.*, 2000; Armienta *et al.*, 2005; Mussali-Galante, 2013).

En general, los mecanismos de toxicidad de los metales dependen de cuatro factores: 1) la especie química del compuesto metálico, 2) duración y tipo de

exposición (laboral o ambiental), 3) concentración del o los compuestos, y 4) recipiente biológico o tipo de organismo que se encuentra expuesto. Aunado a lo anterior, existen dos mecanismos generales por los cuales los metales pueden causar daño celular: 1) la unión del metal con distintas macromoléculas, lo que puede generar un cambio conformacional o bien, remplazar a metales que son esenciales de sus sitios activos o sitios de unión alterando así la homeostasis celular, estos efectos se deben a la similitud química de los metales con cationes divalentes esenciales (P. ej., Ca, Fe, Mg, Zn); 2) involucra su actividad como centro catalítico en reacciones tipo redox, las cuales producen especies reactivas de oxígeno (ERO's), que son intermediarios formados durante procesos de oxidación metabólica. Las concentraciones de ERO's a altas cantidades pueden causar daño oxidante a diversas proteínas, lípidos y principalmente al ADN. Los dos mecanismos antes mencionados pueden alterar la señalización celular, obteniendo como resultado distintas alteraciones, por ejemplo, en el ciclo celular (Qian *et al.*, 2003; Leonard *et al.*, 2004; Valko *et al.*, 2006; Mussali-Galante, 2013).

Biodisponibilidad

En los procesos de explotación de los minerales, los EPT's como los MP quedan depositados en jales, los cuales tienden a ser depositados en zonas aledañas y posteriormente ser absorbidos por los organismos asociados.

Los MP asociados a jales sufren cambios físicos y químicos en el ambiente, y pueden así lixiviarse, transportarse y dispersarse en el entorno. Los MP se distribuyen en el suelo en fracciones sólidas con distinto grado de estabilidad intercambiable, ligados a materia orgánica, a la oxidación de hierro y manganeso y a estructuras minerales. El equilibrio dinámico que se establece entre estas fracciones determina su movilidad y biodisponibilidad (Mussali-Galante, 2013).

Biomarcadores en estudios ecotoxicológicos

El uso de biomarcadores en estudios ecotoxicológicos se han derivado de una constatación exposición ambiental crónica a MP, lo que resulta en un continuo de respuestas biológicas que se da en todos los niveles de organización biológica, de las moléculas a los ecosistemas. Por lo que se han promovido investigaciones

enfocadas en instaurar “señales tempranas de alerta” mediante el uso de “biomarcadores”, los cuales reflejen los efectos biológicos adversos producidos por los contaminantes ambientales (Mussali-Galante *et al.*, 2013c). En este sentido, un biomarcador es la “identificación de cambios específicos moleculares, bioquímicos, fisiológicos y etológicos en poblaciones expuestas a contaminantes” (Handy *et al.*, 2003) y de acuerdo a The National Research Council (NRC, 1987), los biomarcadores son definidos como “indicadores de eventos en sistemas biológicos o muestras” y los clasifica en tres categorías: biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad.

Biomarcadores de moléculas-individuos

Los biomarcadores de exposición nos brindan información acerca de la dosis actual de una sustancia dentro de un organismo, también son conocidos como “dosímetros biológicos” o “biomarcadores de dosis interna”, el cual puede ser medido en varios tipos celulares, órganos o fluidos del organismo (P. ej., la cantidad acumulada [bioacumulación] en uñas, pelo, sangre y órganos). Sin embargo, cuando es medible el producto temprano de la interacción de la célula y la sustancia química son denominados “biomarcadores de dosis efectiva biológica”, un ejemplo de estos son los aductos en el ADN (NRC, 1987; Handy *et al.*, 2003; Mussali-Galante *et al.*, 2013c).

Biomarcadores a nivel de población

A este nivel, los parámetros de diversidad genética son importantes, puesto que generan información sobre la dinámica de las frecuencias alélicas, a través del tiempo, que se han dado dentro y entre poblaciones (Bickham *et al.*, 2000; Medina *et al.*, 2007). El monitoreo de patrones genéticos de poblaciones silvestres permiten la evaluación de impactos ambientales en un sistema natural, a estos patrones se les conoce como marcadores biológicos neutros, al ser secuencias de ADN polimórficas dentro de una población o especie que no se encuentran bajo selección; este tipo de marcadores se utilizan en estudios ecotoxicológicos. Por ejemplo: ADN nuclear (ADNn), ADN mitocondrial (ADNmt), microsatélites o

secuencia simple repetitiva (SSR, por sus siglas en inglés), entre otros más (Hoffman y Dabron, 2007; Arif y Khan, 2009).

Cuando la variabilidad genética se pierde, la población no puede regresar a su estado inicial, lo que, se vuelve un cambio permanente. Por lo que, los cambios tanto del reservorio genético como de los patrones de distribución de la diversidad genética de las poblaciones expuestas, pueden ser un biomarcador predictivo también llamado como “biomarcador de efecto permanente”, entendido como la “medición de cambio o alteración en procesos biológicos y/o químicos que una vez alterados no vuelven a la forma original” (Mussali- Galante *et al.*, 2014)

Biomarcadores a nivel de comunidad y ecosistema

A este nivel, realizar estudios se vuelve muy complejo, debido a que se dificulta relacionar los efectos de la exposición de un contaminante con los cambios que se puedan observar en estos niveles, además de que estas alteraciones pueden derivar en efectos evolutivos (Medina *et al.*, 2007).

Como parte de los indicadores de alteración en una comunidad podemos señalar los cambios en la composición, riqueza y diversidad de especies (Mussali- Galante *et al.*, 2013c); y a nivel de ecosistema, producir cambios en su dinámica lo que genera una señal de alteración, que se puede ver reflejada en la pérdida de una especie clave, ocasionando un desequilibrio en los niveles inferiores y superiores de la cadena trófica llegando a afectar todo el ecosistema (Medina *et al.*, 2007).

Efecto de la contaminación ambiental por metales pesados en los distintos niveles de organización biológica

Los efectos adversos producidos por los MP son muy distintos, ya sea que se produzcan sobre los organismos de forma aislada (efectos tóxicos) o sobre las poblaciones, comunidades y ecosistemas (efectos ecotóxicos). Se han reportado que los contaminantes ambientales como los MP puede ejercer sus efectos en todos los niveles de la organización biológica. A nivel molecular y celular: rompimiento de cadena sencilla y doble (RCS, RCD) de ADN, micronúcleos, aberraciones cromosómicas, alteraciones en las enzimas de reparación del ADN. A nivel individuo: polimorfismos de un sólo nucleótido, inducción enzimática del

metabolismo, capacidad diferente de reparación de ADN, riesgo de enfermedad, cáncer, envejecimiento, enfermedades crónicas, disminución de la longevidad, disminución de la fertilidad y la fecundidad. A nivel población: alteraciones en la proporción sexual, alteraciones en la estructura de edad, bajo éxito reproductivo, endogamia, alteraciones en la diversidad genética, baja aptitud, un decline de la población. A nivel comunidad: cambios en la riqueza y diversidad, cambio en la dominancia de especies, pérdida de biodiversidad. Por último, a nivel ecosistema: alteraciones en los ciclos de energía y nutrientes y alteraciones en la red alimentaria (Mussali-Galante *et al.*, 2013c).

Efecto de la contaminación ambiental por metales pesados en roedores silvestres

Se han reportado diferentes tipos de daños en mamíferos causados por la absorción y acumulación de MP, entre ellos podemos mencionar los cambios morfológicos (Esteves-Aguilar, 2018) anatómicos y genéticos (Mussali-Galante *et al.*, 2013b). La importancia del estudio de mamíferos pequeños en toxicología ambiental radica en que, al ser un eslabón intermedio de las redes tróficas, en lugar de que los metales se dispersen, tienden a concentrarse sucesivamente en toda la cadena (Sumbera *et al.*, 2003), incrementando dramáticamente sus concentraciones en los grandes depredadores (Carrizales *et al.*, 2005).

Asimismo, se ha comprobado que la exposición a MP tiene efectos sobre la salud de los roedores, como daño en el ADN e inducción de micronúcleos en células, pérdida de peso, deterioro óseo, alteraciones renales y hepáticas, encefalopatías, afectaciones del sistema nervioso, cáncer e inclusive la muerte (ASTDR, 2005). Particularmente, durante la etapa reproductiva de los roedores esta clase de agentes químicos pueden causar daños reproductivos que van desde la alteración del lívido hasta la esterilidad irreversible, pasando por problemas de desarrollo fetal como son: malformaciones, disfunciones diversas y muerte (Del Razo *et al.*, 2004; Martínez y Chamorro, 2004).

En particular los tres MP más recurrentes en los residuos mineros son el As, Pb y Cd, los cuales pueden tener efectos nocivos en roedores machos afectando: a) el número de espermias, b) movilidad, c) malformación, d) alta mortalidad espermática, y e) inducir atrofia testicular (Martínez y Chamorro, 2004).

Mientras que, en hembras, puede provocar abortos espontáneos, reducción en el tiempo de gestación y una reducción en el peso de las crías (Del Razo *et al.*, 2004). Lo antes mencionado puede facilitar cambios en las comunidades de roedores en términos de abundancia relativa y diversidad (Puga *et al.*, 2006), aunado a los efectos negativos que pueden provocar los metales sobre la salud de los organismos (ASTDR, 2005).

Se ha documentado principalmente que las hembras expuestas a MP tienden a ser más susceptibles (un mayor daño al ADN) en comparación con los machos. Lo anterior, ha sido atribuido a un efecto hormonal, que probablemente se deba a los niveles de metabolismo xenobiótico, que pueden ser el resultado de los efectos de las hormonas sexuales femeninas (Mugford y Kedderis, 1998; Tovar-Sánchez *et al.*, 2012).

Tanzarella *et al.* (2001) realizaron un estudio en los jales del Parque Nacional Doñana, España. En esta investigación se evaluó el daño al ADN en células hematopoyéticas del roedor *Mus spretus* mediante la técnica de micronúcleos. Sus resultados mostraron que los individuos expuestos presentaban una frecuencia de micronúcleos significativamente mayor con respecto a un sitio testigo y que a su vez, esta frecuencia aumentaba conforme el sitio de captura se encontraba a menor distancia de los jales.

Ieradi *et al.* (2003) evaluaron el daño genotóxico en dos especies de roedores (*Clethrionomys glareolus* y *Apodemus flavicollis*) asociadas a un área contaminada por Cd, Mn, Pb, Cu y Zn, cercana al poblado de Bohemia, República Checa mediante la técnica de micronúcleos y lo correlacionaron con las concentraciones de estos metales presentes en riñón e hígado. Los resultados mostraron que los niveles de Cd, Mn, Pb, Cu y Zn presentes en los individuos capturados en el área

contaminada, fue significativamente mayor con respecto a un sitio testigo; y que a su vez esto se correlacionaba positivamente con cantidad de micronúcleos observados, los cuales presentaron una frecuencia significativamente mayor con respecto al testigo.

Festa *et al.* (2003), en el Parque Nacional Doñana, España, evaluaron en los leucocitos de sangre periférica el daño al ADN del roedor *Mus spretus* por medio del ensayo cometa. Los resultados mostraron que en 1998 todas las áreas examinadas estaban contaminadas, según lo observado en los parámetros del ensayo cometa en los individuos analizados, mientras que se observó una disminución significativa en los valores de estos parámetros en las muestras de 1999, donde concluyen finalmente un daño genético significativamente mayor en todos los individuos.

Carrizales *et al.* (2005) evaluaron a los roedores *Chaetodipus nelsoni* y *Dipodomys merriami*, en el sitio minero de Villa de La Paz, San Luis Potosí, el daño al ADN por medio del ensayo cometa, causado por la presencia de MP en suelo, donde se evaluaron las concentraciones de Pb y As. Los autores concluyeron que existen niveles de daño genético mayores en los individuos expuestos a Pb y As respecto a los individuos control en ambas especies.

León *et al.* (2007) usando la técnica del ensayo cometa investigaron el potencial genotóxico de las minas de carbón, en sangre periférica de dos especies de roedores (*Rattus rattus* y *Mus musculus*). El estudio se realizó en una zona minera carbonífera del municipio de Puerto Libertador, Colombia. Los resultados muestran evidencia de que la exposición a los compuestos carbónicos derivados de esta actividad minera causa un elevado número de lesiones al ADN en células sanguíneas de roedores.

Tovar-Sánchez *et al.* (2012) efectuaron un estudio en Huautla, Morelos, México donde analizaron las concentraciones de metales en hueso e hígado de *Baiomys musculus* y *Peromyscus melanophrys* y su efecto genotoxicidad a través del ensayo cometa. Los resultados obtenidos señalan la bioacumulación de metales (Fe, Mn, Ni, y Zn) los cuales fueron más altos en los individuos expuestos en

comparación con los individuos testigo. Además, se obtuvo un daño significativamente mayor en los individuos expuestos, principalmente en la especie *B. musculus*. Y conjuntamente los niveles de daño registrado fueron mayores en hembras respecto a los machos.

Mussali-Galante *et al.* (2013) realizó un estudio en Huautla, Morelos, México donde analizaron los efectos genéticos en tres poblaciones de *Peromyscus melanophrys* expuestas crónicamente a metales pesados por actividad minera en comparación con dos sitios no expuestos. En general se detectó Al, Pb, Cu, As y Cd en los riñones de todos los individuos muestreados sin importar el sitio, esto debido a la riqueza natural de minerales de la región. Sin embargo, se observó una menor densidad poblacional donde se evidenció que existe una fuerte correlación entre la bioacumulación de metales y los niveles de diversidad genética de las poblaciones analizadas.

Dimitrov *et al.* (2016) cuantificaron la bioacumulación de Pb y Cd en especies de roedores (*Apodemus flavicollis*, *Microtus arvalis* y *Mus macedonicus*) a lo largo del gradiente de contaminación en el área de la fábrica de fundición de Pb y Zn en Plovdiv al sur de Bulgaria. La bioacumulación de Pb fue significativamente más alta en los individuos de *A. flavicollis*, seguida de *M. macedonicus* y *M. arvalis*, este último registrando mayor concentración de Cd respecto al resto. Finalmente concluyen que la concentración de Pb y Cd hepáticos no difirió significativamente entre los géneros.

De la Cruz-Guarneros (2018) analizó el efecto de la bioacumulación de MP en *Liomys irroratus* en términos de diversidad y daño genético en poblaciones asociadas a jales en la localidad de Huautla, Morelos. De manera general se observó que los individuos de esta especie están expuestos a una mezcla de metales, ya que se encontró bioacumulación de Al, Cu, Fe, Ni y Zn en hígado, presentando los individuos expuestos mayor bioacumulación de metales y daño al ADN con respecto a los testigos; finalmente no se observó una estructuración genética entre los individuos colectados de los distintos sitios de estudio.

Esteves-Aguilar (2018) evaluó el daño genético y la inestabilidad en el desarrollo del cráneo de *Peromyscus melanophrys* crónicamente expuestos a MP en Jales de Huautla, Morelos; encontrando que los individuos expuestos presentan un incremento de mutaciones puntuales con respecto a los testigos, así como una relación de que, a mayor concentración de metales, mayor daño genético y mayor fluctuación asimétrica en el cráneo respecto a los individuos testigo.

Importancia de los roedores en estudios ecotoxicológicos

En la actualidad conocer la diversidad de cualquier grupo faunístico es de suma importancia, ya que se genera información que permite determinar la presencia o ausencia de las especies, el estado de salud del ecosistema, así como el proporcionar información de los factores ambientales y sociales que interactúan e influyen directamente sobre cualquier grupo.

La importancia del estudio de roedores silvestres se incrementa por el papel ecológico que desempeñan, por ejemplo, son dispersores y depredadores de semillas, dispersores de esporas, insectívoros (Brewer y Rejmanek, 1999; Andresen, 2000; Dirzo *et al.*, 2007; Tzab y Macswiney, 2004), además de ser un recurso indispensable para muchos depredadores como mamíferos carnívoros, aves rapaces o serpientes (San José, 2013), y más recientemente varias especies de roedores han sido catalogadas como especie centinela (organismo animal que sirve para identificar riesgos potenciales para otros animales o humanos), los cuales se caracterizan por presentar una amplia distribución geográfica, capacidad de bioacumular contaminantes, sensibilidad a los contaminantes, poca movilidad, fácil captura, un profundo conocimiento de su biología, un ciclo de vida corto y su mantenimiento en cautiverio, con la finalidad de proveer información temprana del estado de salud ambiental causados por los contaminantes en el ambiente (NRC, 1991; Basu *et al.*, 2007; Mussali-Galante, 2013).

Caso de estudio: Huautla, Morelos

En el municipio de Tlaquiltenango, al sur del estado de Morelos, se ha documentado la presencia de una gran cantidad de minerales no metálico y la presencia de plantas transformadoras, de trituración y calcificadoras como son las cementeras,

caleras, agregados pétreos y carbonato de calcio, yeso, bancos de basalto, tezontle, mármol, entre otros, utilizados en la industria de la construcción (SE, 2014). Sin embargo, la minería metálica se ha restringido al poblado de Huautla, donde se han registrado seis minas de extracción de Pb, Ag, Au, Cu y Zn (San Francisco, Santa Ana, Plomosa, Reforma, Ánimas y San Esteban) actualmente inactivas, las cuales fueron explotadas durante los siglos XVIII y XIX de manera ininterrumpida a lo largo de 40 años y finalizando su explotación en el año de 1993 (Velasco *et al.*, 2004; Martínez-Pacheco, 2008; Mussali-Galante, 2008), para el año de 1996 la zona fue decretada como patrimonio de la humanidad por la UNESCO, la cual se ubica geográficamente en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH) (SEMARNAT, 2004). Se estima que en la región de Huautla existen 780 mil toneladas de jales ricos en Pb, As y Cd, los cuales se encuentran abandonados y sin ningún tratamiento para mitigar el impacto ambiental (Velasco *et al.*, 2004; Volke *et al.*, 2005; SEMARNAT, 2005).

JUSTIFICACIÓN

El inadecuado manejo y cierre de las minas de Huautla, Morelos, así como un mal manejo de sus residuos han generado a través del tiempo un impacto negativo en el ambiente y en la salud de los organismos. Además, existen trabajos en los que se han reportado altas concentraciones de MP biodisponibles que rebasan los límites máximos permisibles en los jales, estos residuos que contienen EPT's como los MP se dispersan vía hídrica y eólica, representando un riesgo a la salud de los organismos que ahí habitan. Asimismo, se ha documentado que estos daños pueden promover cambios en la distribución y abundancia de las poblaciones, en la estructura y funcionamiento de las comunidades y en la dinámica de los ecosistemas.

Por lo anterior, es importante evaluar el efecto de la contaminación por MP sobre la estructura de la comunidad de roedores silvestres asociados a los jales, puesto que no existen estudios que evalúen a nivel de la comunidad estos efectos en Huautla, además de evaluar la relación de la concentración de metales y los niveles de daño genético en hembras, ya que en este género se ha documentado

mayores niveles de daño, lo cual aportará información de la sensibilidad de las especies a los contaminantes como los MP.

HIPÓTESIS

- 1) Si los jales de Huautla, Morelos contienen metales pesados biodisponibles, entonces se espera que los roedores silvestres asociados a los jales incorporen metales en sus tejidos promoviendo daños al ADN, afectando la salud de los organismos, lo que promueve cambios en la abundancia relativa de las poblaciones y alteraciones en la estructura de las comunidades expuestas con respecto al testigo.
- 2) Si las especies de roedores silvestres son sensibles a los biomarcadores de exposición (concentración de MP en hígado) y efecto (rompimiento de cadena sencillas), entonces se espera determinar el mejor biomarcador de exposición-efecto para cada tipo de metal pesado que se desee evaluar.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la contaminación por metales pesados sobre los niveles de daño genético y cambios en la estructura de las comunidades de roedores silvestres de Huautla, Morelos.

Objetivos Particulares

- Caracterizar la estructura de la comunidad de roedores silvestres asociados a los jales y sitio testigo.
- Determinar las concentraciones de metales Al, As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en hígado de las tres especies de roedores silvestres más dominantes asociados a jales y sitio testigo mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.
- Medir los niveles de daño al ADN en linfocitos de sangre periférica en hembras de las tres especies de roedores silvestres más dominantes asociados a jales y sitio testigo mediante la técnica de electroforesis unicelular alcalina.

- Estimar la relación entre la bioacumulación de metales pesados en hígado y los niveles de daño genético en linfocitos de sangre periférica en hembras de roedores silvestres.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio

Se realizaron muestreos en cuatro sitios localizados en el municipio de Tlaquiltenango, Morelos. Estos sitios comprenden tres jales: Jale 1 El Portón localizado en las coordenadas UTM (2038836,1 N 496744,1 E), el Jale 2 Las Presas (2038344,2 N 497770,7 E) y Jale 3 Tlalchichilpa (2037514,6 N 496597,2 E) dentro del área que comprende la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH) en la localidad de Huautla y uno testigo, localizado en la localidad de Quilamula (2047041,8 N 498211,5 E) (Figura 1). Este último sitio fue elegido por estar a 6 Km en línea recta a la localidad de Huautla, y por no haber tenido actividad minera en la zona, además comparte las siguientes características con los sitios expuestos: a) tipo de vegetación (Selva Baja Caducifolia), b) clima (Awo"(w)(i)g, que corresponde a un clima cálido subhúmedo, con un régimen de lluvias de verano y presencia de canícula; porcentaje de lluvia invernal menor de 5% y con una oscilación de las temperaturas medias mensuales entre 7 °C y 14 °C, la temperatura más alta se presenta en mayo y ésta oscila entre 26 °C y 27 °C (Martínez-Becerril, 2009).

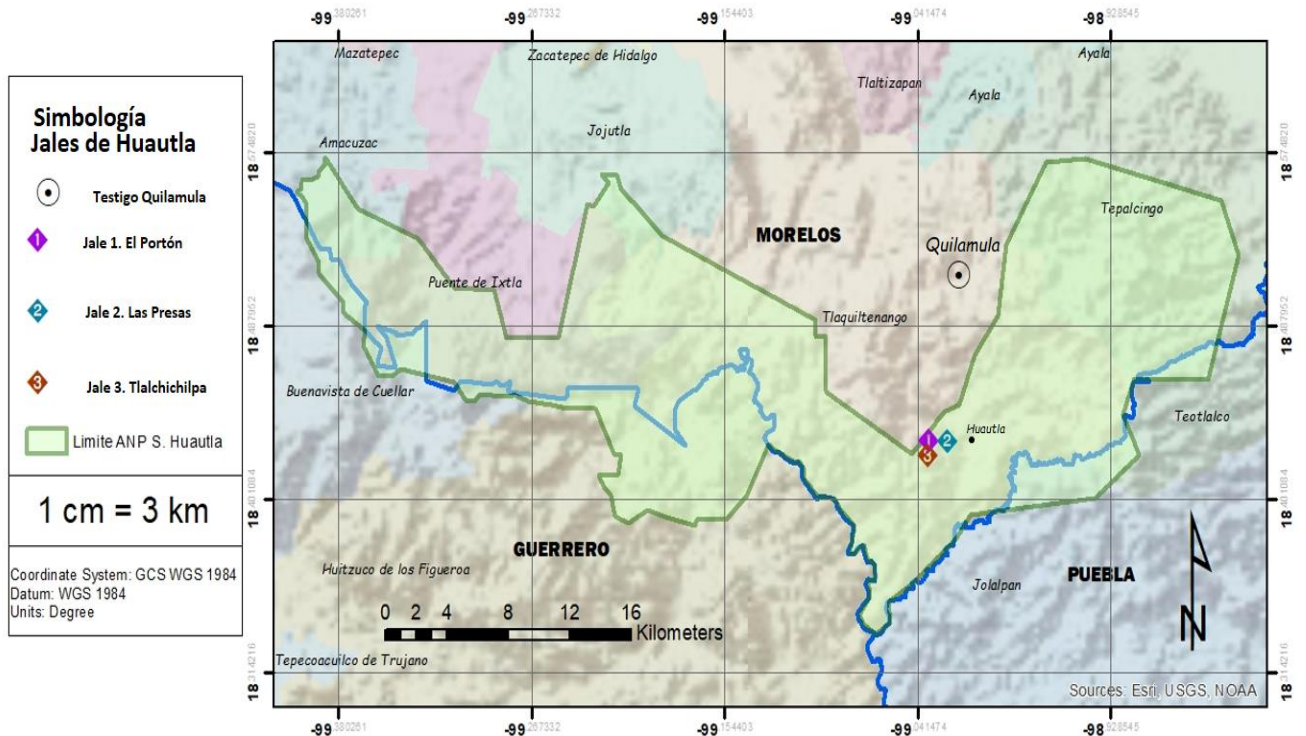


Figura 1. Mapa de ubicación de los sitios de estudio en el municipio de Tlaquitenango, Morelos. Elaboración personal. Datos Vectoriales de la CONANP,2020. Sitios de muestro tomados en campo coordenadas UTM.

Especies de estudio

Baimoys musculus (Merriam, 1892)

Es el roedor más pequeño de México. Se distingue de *B. taylori* por el tamaño de la pata de 16 mm o más, así como por el tamaño del báculo el cual es mayor en esta especie (3 a 3.9 mm). La coloración dorsal varía de café rojizo a café oscuro; ventralmente es ante pálido o blanco. Los individuos juveniles son de color gris uniforme. Habita en áreas tropicales y semidesérticas, con abundantes pastos y arbustos, se ha registrado en campos abandonados de maíz y cereales diversos, en los bordes cercanos a plantíos de caña de azúcar y palmas de coco. Construyen sus nidos de pastos en madrigueras subterráneas, entre las rocas o entre pastos. Consume principalmente hierbas y pastos frescos, además de semillas, cortezas y pequeños insectos. Son de hábitos diurnos y crepusculares. Pueden reproducirse durante todo el año, con menor actividad durante el invierno y la primavera. La gestación dura de 20 a 25 días y presentan un periodo de lactancia de 20 días aproximadamente. El tamaño de camada es de una a cinco crías, con tres en

promedio. Se encuentra en el bosque tropical caducifolio, bosque espinoso, matorral xerófilo, dunas costeras, pastizales, potreros y diferentes cultivos. Se distribuye desde el nivel del mar hasta 2000 m. Son abundantes en cultivos y pastizales. No se encuentra en riesgo de extinción (Ceballos y Oliva, 2005).

***Liomys irroratus* (Gray, 1868)**

Es una especie con una amplia distribución geográfica, la cual se puede encontrar en el sur de Texas, Estados Unidos; del centro de México hasta Oaxaca; al este de la Sierra Madre Occidental desde Chihuahua hasta Michoacán; y en la vertiente del Golfo desde Tamaulipas hasta Veracruz. Es un roedor de tamaño mediano, el cual presenta un par de abazones en las mejillas, su pelaje se caracteriza por ser áspero, de coloración café grisácea en la parte dorsal, la parte ventral es blanco, generalmente, presentan una raya lateral de color rosa pálido, la cola es bicolor con punta pincelada y presenta las extremidades posteriores con solo cinco cojinetes plantares; la garra del segundo dedo de las patas traseras tiene forma de espolón, diseñada para la huida, los últimos molares son más estrechos que los premolares. Presentan dimorfismo sexual, machos más grandes que las hembras, con una longitud promedio de 238 mm machos y 226 mm hembras; y un peso de 40-60 g machos y 35-50 g hembras. Es una especie catalogada como de preocupación menor de acuerdo a The IUCN Red List of Threatened Species. Habita zonas rocosas donde construyen sus madrigueras bajo troncos, rocas y arbusto preferentemente. Su dieta principalmente está compuesta por semillas y ocasionalmente plantas e invertebrados. Se reproduce todo el año, con una mayor actividad en los meses de agosto y noviembre. El número de crías puede variar de dos a siete crías, en promedio cuatro (Dowler y Genoways, 1978; Ceballos y Oliva, 2005; Mason, 2005; De la Cruz, 2018).

***Peromyscus melanhoprys* (Coues, 1874)**

Son de los ratones más grandes del género *Peromyscus*. La coloración es muy variada, con el dorso ocre, grisáceo, café, amarillento o canela. Las mejillas son de color claro y el vientre beige claro con manchas en la base color plomo. El cráneo

posee un ángulo supra orbital bien definido con un arco liso dorsalmente, la región temporal está aumentada, los nasales son paralelos. Difiere de otras especies próximas de *Peromyscus* de México es que tienen la cola más larga y los lóbulos cerebrales son delgados. Habita preferentemente en regiones áridas, construyendo sus nidos en algunas de estas plantas y son abundantes en sitios rocosos. La reproducción ocurre de febrero a marzo y de junio a octubre. El promedio de camada es de dos a cinco crías. Son roedores principalmente granívoros. Es endémica de México y se distribuye desde el norte y centro hasta el sur del país a través del Altiplano, desde Durango y Chihuahua hasta Oaxaca y Chiapas. Se les encuentra principalmente en el matorral xerófilo, bosque espinoso y pastizales, en asociaciones vegetales de matorral desértico micrófilo y chaparrales (encinos) propios de las zonas de contacto entre climas áridos y templados. También se les ha observado en valles tropicales y bosque de coníferas. En México no se les considera en las listas de especies para su conservación ya que tiene una amplia distribución, que incluye grandes extensiones con poca perturbación (Ceballos y Oliva, 2005).

Muestreo de roedores

Para la colecta de ejemplares de roedores silvestres en el sitio testigo y expuestos se colocaron 100 trampas tipo Sherman, las cuales fueron cebadas con una mezcla homogénea de avena, crema de cacahuate y vainilla como atrayente, se colocaron a ras del suelo separadas entre sí cada cinco metros, hasta obtener un tamaño de muestra igual a 20 individuos adultos.

Identificación de especies de roedores

Se utilizaron guías, libros y recursos electrónicos que permitieron determinar la especie de los individuos, entre los cuales se encuentra principalmente: Los Mamíferos Silvestres de México (Ceballos y Oliva, 2005) en el cual se especifican medidas morfométricas y características específicas de las especies los cuales empleamos para la identificación, además del libro *Mammals of North America* (Hall, 1981) en que se describen las características principales para distinguir a cada especie.

Estructura de las comunidades de roedores

La complejidad de la estructura de la comunidad fue evaluada por medio de la riqueza de especies (S), el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') (Zar, 2010) que se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$H' = -\sum p_i (\ln p_i)$$

donde: $p_i = n_i/N$, n_i es el número de individuos de la especie i y N es el número total de individuos.

El índice de Simpson (D') se encuentra fuertemente influenciado por las especies más dominantes.

$$D' = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Los índices de diversidad entre comunidades de roedores asociados a cada sitio de estudio se compararon utilizando el índice delta (δ ; Solow, 1993) en el programa Species Diversity and Richness ver. 3.0.3 (Henderson y Seaby, 2002).

Asimismo, se determinó la similitud de entre comunidades de roedores utilizando el índice de similitud de Jaccard (ISJ), el cual relaciona el número de especies compartidas con el número total de especies exclusivas.

$$ISJ = (C/A+B-C) \times 100$$

donde: A = número de especies en el sitio a , B = número de especies en el sitio b , C = número de especies presentes en ambos sitios A y B , es decir que están compartidas. El rango de este índice va desde cero (0) cuando no hay especies compartidas, hasta uno (1) cuando los dos sitios comparten las mismas especies. Este índice mide diferencias en la presencia o ausencia de especies (Chao *et al.*, 2005).

Por otro lado, se utilizó el índice de similitud de Czekanowski (*ISC*) utilizando la siguiente ecuación (Southwood, 1978).

$$ISC = \frac{\sum (2 m_i)}{\sum (a_i + b_i)}$$

donde: a_i es la abundancia de la especie i en la comunidad A , b_i es la abundancia de la especie i en la comunidad B , m_i es el valor mínimo para la especie i (de tal manera que puede ser a_i o b_i dependiendo el parámetro que tenga el valor más pequeño), y S es la riqueza específica acumulada de las comunidades.

Para conocer las diferencias en la composición de roedores en tres jales de Huautla y un sitio testigo en Quilamula, se utilizaron análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés, non-metric multidimensional scaling). El análisis se basó en la presencia de las especies de roedores. NMDS fue utilizado para generar una matriz de disimilitud entre los cuatro sitios usando el coeficiente de disimilitud de Bray-Curtis (Faith *et al.*, 1987). Posteriormente, un análisis de similaridad (ANOSIM) fue usado para evaluar las diferencias entre la composición de la comunidad de roedores en los cuatro sitios. Un análisis de Bootstrap, ANOSIM fue empleado para probar las diferencias entre grupos usando 10,000 reasignaciones aleatorias y determinando si la matriz de disimilitud generada es significativamente diferente del azar (Warwick *et al.*, 1990).

Para comprender la relación entre la composición de la comunidad de roedores con base en la abundancia, se correlacionaron los resultados de la comunidad de los dos ejes del NMDS y las concentraciones de metales pesados bioacumulados por sitio. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa Past 4.01.

Para ordenar los sitios de estudio con base en la bioacumulación de MP se realizaron análisis de componentes principales (ACP). Posteriormente, para comprender la relación entre la composición de la comunidad de roedores con base en la abundancia y la ordenación de los sitios de estudio de acuerdo con la bioacumulación de MP (Al, As, Cu, Pb y Cd) en cada sitio de estudio, se

correlacionaron los resultados de la comunidad de los dos ejes del NMDS y los resultados de los dos ejes del ACP para la concentración de MP.

Densidad de las especies de roedores

Para estimar la densidad de individuos por especie y sitio de estudio, se empleó la metodología propuesta por Mares y Hernest (1995), la cual es entendida como el número de individuos colectados por unidad de área efectiva de muestreo. Los autores sugieren que, para estimar la densidad de roedores silvestres, el transecto muestreado debe incluir un área adicional de 10 m (Figura 2). Con la finalidad de determinar el efecto del sitio de estudio sobre la densidad de roedores, se realizaron análisis de varianza de una vía (Anova). Posteriormente, se utilizaron pruebas a posteriori (Tukey) para determinar diferencias significativas entre pares de promedios (entre sitios). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa STATISTICA 8.0

Análisis macro-morfológico de especies de roedores

Se registró en cada uno de los sitios de estudio el género de los individuos, junto con seis (6) medidas externas (Figura 3): longitud total (LT), longitud de la cola (LC), longitud de la pata derecha (LP), longitud de la mano derecha (LM), longitud de la oreja derecha (LO) y longitud del cráneo (LCR), además del peso (P) de las tres especies dominantes.

Para determinar la influencia de los MP asociados a cada sitio de estudio sobre los cambios macro-morfológicos entre géneros de las especies *B. musculus*, *L. irroratus* y *P. melanhoprys* se utilizaron análisis discriminantes (AFD). El propósito de este análisis fue determinar los caracteres más útiles para discriminar entre géneros y evaluar visualmente la separación de los individuos en grupos. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa Past 4.01.

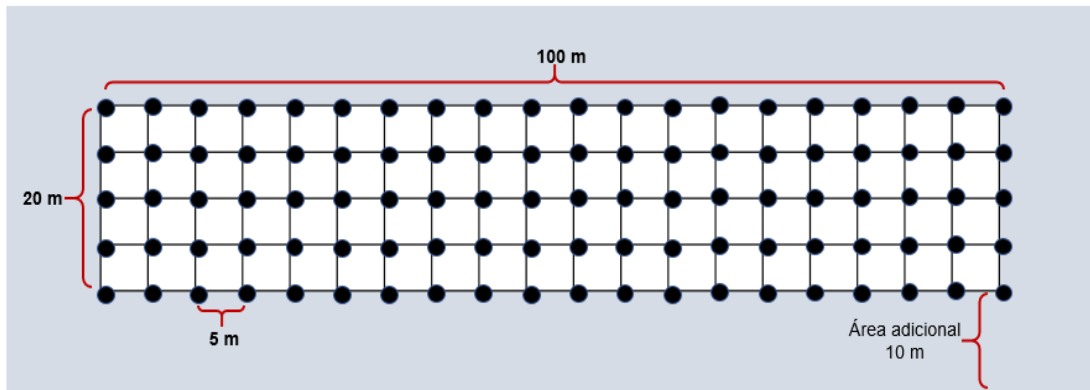


Figura 2. Representación del método de muestreo de roedores silvestres en los jales de Huautla. El área en color gris representa el área adicional propuesta por Mares y Hernest (1995).

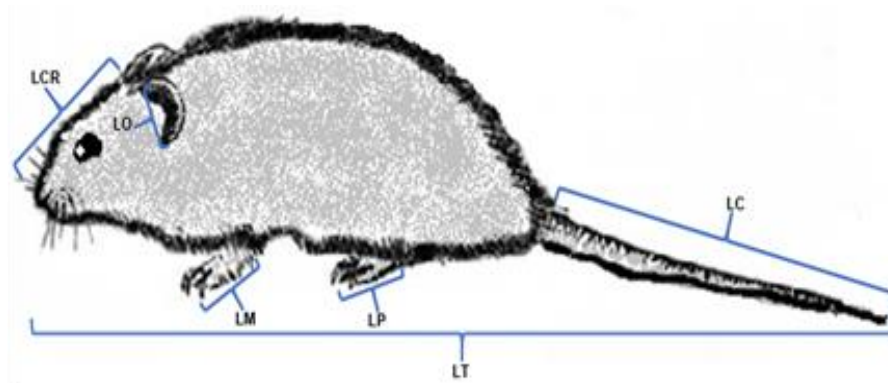


Figura 3. Representación de medidas macro-morfológicas tomadas a roedores silvestres. *LT*= longitud total, *LC*= longitud de la cola, *LP*= longitud de la pata derecha, *LM*= longitud de la mano derecha, *LO*= longitud de la oreja derecha y *LCR*= longitud del cráneo.

Medición de metales pesados en hígado

Posterior a la colecta de roedores en campo, se extrajo el hígado por ser el órgano detoxificador por excelencia en la eliminación de ciertos xenobióticos (Coello *et al.*, 2017) y se colocó en un contenedor de nitrógeno líquido para su traslado al Laboratorio de Investigaciones Ambientales del CEIB. La determinación de las concentraciones de MP en hígado de las especies de roedores más dominantes asociados a jales fue mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica (980 AA, GBC).

Para lo cual, se realizaron las digestiones ácidas de las muestras de hígado, una vez extraídos se trataron individualmente y colocados en estufa a 80 °C durante 48 h para su secado total. Las muestras del órgano se trituraron utilizando un mortero y pistilo. Para el análisis de MP, se pesaron en balanza analítica 0.25 g de las muestras, colocándose cada una en un matraz kjeldah de 250 mL. Se adicionaron 10 mL de ácido nítrico (HNO₃ al 70 %) y la digestión se efectuó en una placa de calentamiento a 400 °C por un tiempo de 3 a 4 horas hasta la evaporación total del ácido. Posteriormente, las muestras fueron aforadas en un matraz de 50 mL y colocadas en refrigeración hasta su proceso de lectura, mediante el espectrofotómetro de absorción atómica: 980 AA, GBC (Tovar-Sánchez *et al.*, 2012). Finalmente, metales analizados para este estudio fueron: Al, As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn.

Colecta de muestras sanguíneas

La muestra de sangre periférica se obtuvo por punción cardiaca mediante un tubo capilar heparinizado y se colocó en un tubo eppendorf estéril. Los ratones fueron previamente anestesiados usando pentobarbital, inyectado vía intraperitoneal (1 mL/Kg de peso). Posteriormente, por medio del método de viabilidad por fluorocromos se midió la viabilidad celular de cada muestra (Mussali-Galante, 2001) y se utilizaron aquellas que obtuvieron al menos un 90% de viabilidad.

Evaluación del daño genético (rompimiento de cadena sencilla) por medio de la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa (pH 13)

El proceso consiste en obtener 15 µL de sangre de cada individuo muestreado, las cuales se mezclaron con 75 µL de agarosa de bajo punto de fusión (LMPA 0.5%). Posteriormente, la mezcla se colocó en un portaobjetos previamente cubierto con 150 µL de agarosa de fusión normal (NMPA 1%). Se gelificaron a 4 °C y se les retiró el cubreobjetos para añadir una tercera capa de 75 µL de agarosa de bajo punto de fusión, nuevamente se gelificaron y se removió el cubreobjetos, inmediatamente los portaobjetos con la muestra se llevaron a una solución de lisis inicial (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-base y NaOH, DMSO y Triton X-100) durante 1 día a 4 °C.

Las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis para la migración del ADN en un buffer alcalino (300 mM NaOH y 1mM EDTA, a un pH > 13) (para que el ADN se desenrolle). La corrida de electroforesis se realizó a 20 V y 300 mA durante 20 minutos a una temperatura de 4 °C en completa oscuridad. Al término de la electroforesis se lavaron las laminillas en un buffer de neutralización (0.4M Tris M pH 7.5) durante 15 minutos y se deshidrataron con etanol frío al 96% por 10 minutos y secaron al aire. Posteriormente, a cada laminilla se le adicionó bromuro de etidio (50 mL de una solución de 20 mg/mL) para teñir los núcleos y se les coló un cubreobjetos para que estos fueron observados en un microscopio de fluorescencia (Olympus BMX-60). Finalmente, se midió la longitud de la cauda de los cometas en micras (μm), y se evaluaron en total 100 células por individuo.

Modelo sigmoidal: Categorías de impacto entre de la concentración de metales pesados y el nivel del daño al ADN.

Se realizaron análisis de regresiones múltiples por modelos lineales generalizados para determinar la relación y la influencia entre la bioacumulación de MP (As, Al, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn) en hígado y los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en individuos hembras de las tres especies de roedores dominantes que habitan en los jales de Huautla y el sitio testigo de la localidad de Quilamula, Morelos.

En general, se obtuvieron los valores de coeficiente de correlación (r), coeficiente de determinación (r^2) y el valor de significancia ($P < 0.05$) en el análisis de regresión, así como la ecuación de la recta. Posteriormente, se realizaron gráficas de correlación en donde se observan dos variables ($X \rightarrow Y$), la variable independiente (X) causa efectos en la variable dependiente (Y).

El factor de correlación se usa comúnmente en el análisis de regresión simple para indicar si la variable dependiente responde a cambios de la variable independiente. Por lo que, la ecuación empleada para las regresiones lineales se expresa de la siguiente manera: ($Y=mX+b$), en donde (m y b) representan el valor del daño genético y (X) el valor de la concentración del metal, el cual es multiplicado por el valor del daño genético, a la par de que el valor de (m) es transformado a un valor tangencial. Es decir, que la pendiente está dada en valores de 0 a ∞ para

valores positivos; sin embargo, estos valores tangenciales se pueden transformar en valores angulares utilizando la siguiente función: $\text{angtan} = \theta$ o $\text{tg}^{-1}(\alpha) = \theta$, que se puede interpretar de la siguiente manera: θ es el ángulo cuya tangente es α . Por lo tanto, en lugar de usar valores entre 0 a ∞ se emplearon valores de $0^\circ - 90^\circ$ permitiendo una interpretación de los resultados de una manera fácil. Del mismo modo, los valores del rango $[0^\circ, 90^\circ]$ se pueden convertir en valores normalizados entre 0 y 1. De acuerdo al modelo de (Ramos-Quintero, 2016), se ha seleccionado la función exponencial para modelar los grados obtenidos en la tangente de las gráficas en cinco zonas que representan el impacto o influencia de la variable independiente (X) en la variable dependiente (Y). Dichas zonas son clasificadas de la siguiente manera: en el grado de $0-20^\circ$ el impacto de X en Y es muy baja, de $20^\circ-40^\circ$ el impacto de X en Y es bajo, de $40^\circ-60^\circ$ el impacto de X en Y se encuentra en un nivel de impacto intermedio, de $60^\circ - 80^\circ$ el impacto es alto y de $80^\circ - 90^\circ$ el impacto es muy alto (Figura 4).

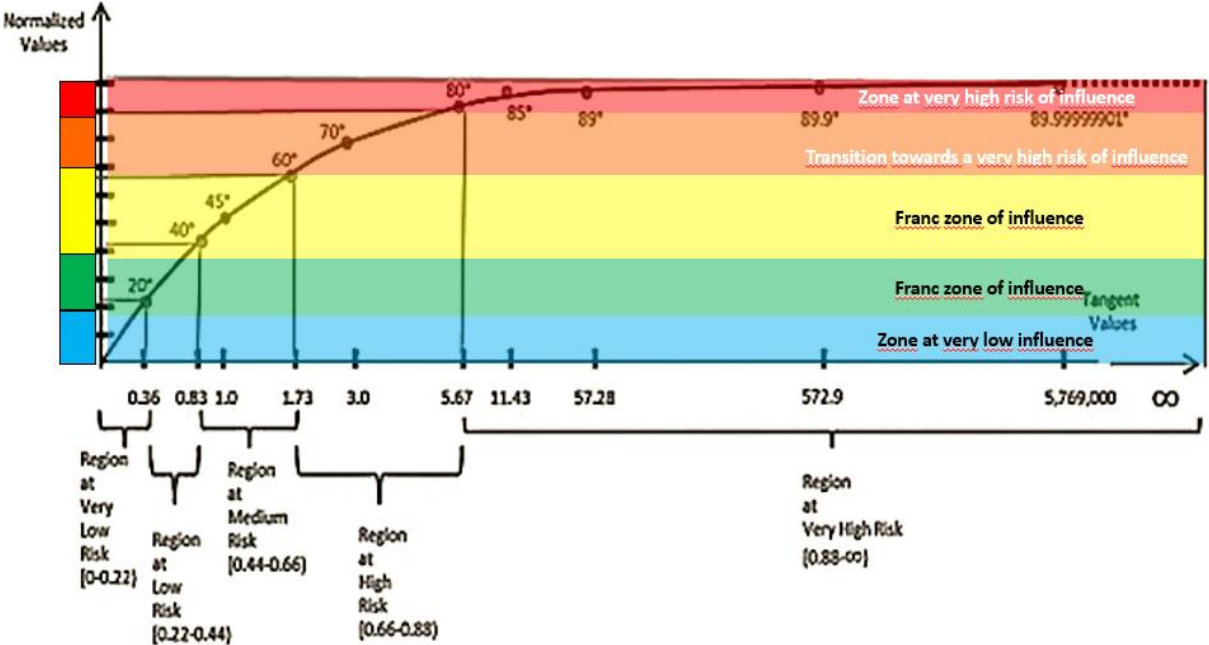


Figura 4. Modelado de valores tangenciales, angulares y normalizados por zonas de impacto (modificado de Ramos-Quintana, 2016).

RESULTADOS

Composición de las comunidades

Bioacumulación de metales por sitio de estudio

En general, el análisis de componentes principales ordena a los sitios de estudio de acuerdo con la bioacumulación de metales pesados. El ACP explica el 93.4% de la variación en los primeros dos componentes. Al y Pb fueron las variables más correlacionadas positivamente con el CP1. Por su parte, el Pb fue la variable que contribuyó más de manera positiva a la ordenación del CP2 y el Al fue la variable mejor correlacionada de manera negativa al CP2 (Figura 5, Tabla 1).

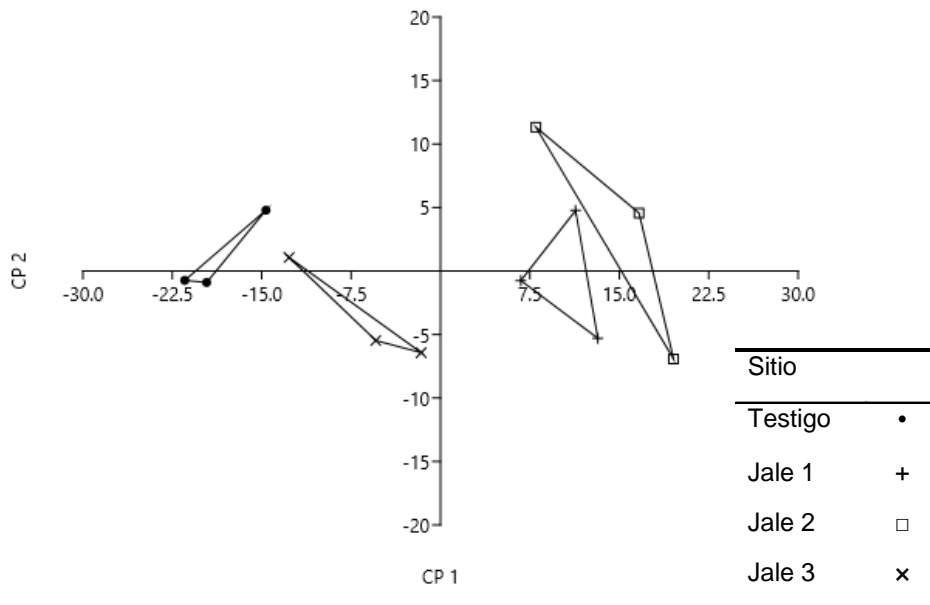


Figura 5. Análisis de componentes principales de variables de bioacumulación de metales pesados en cuatro sitios de estudio en jales de Huautla y sitio testigo de Quilamula, Morelos.

Tabla 1. Análisis de componentes principales (PCA) con variables de bioacumulación de metales pesados (Al, Cu, Pb, As, Cd) en cuatro sitios de estudio. Valores en negritas reflejan las variables más importantes en la ordenación de los sitios.

Variable	PC 1	PC 2
Eigenvalor	211.33	31.38
% Variación	81.355	12.082
Cum. % Variación	81.355	93.437
Variables		
Al	0.768	-0.619
Pb	0.541	0.761
Cu	0.275	0.179
As	0.027	0.018
Cd	0.202	0.072

Composición de las comunidades de roedores silvestres

En total, fueron muestreados 254 individuos de roedores durante los años (2016, 2018 y 2019), pertenecientes a cuatro especies (*Baiomys musculus*, *Liomys irroratus*, *Peromyscus melanophrys* y *Reithrodontomys fulvescens*), contenidas en cuatro géneros (*Baiomys*, *Liomys*, *Peromyscus*, *Reithrodontomys*) e incluidas en dos familias (Cricetidae y Heteromyidae) (Tabla 2).

Tabla 2. Especies de roedores por sitio de estudio.

Sitio	Tratamiento	Especie
Quilamula	testigo	<i>Baiomys musculus</i> <i>Liomys irroratus</i> <i>Peromyscus melanophrys</i> <i>Reithrodontomys fulvescens</i>
El Portón	expuesto Jal 1	<i>Baiomys musculus</i> <i>Liomys irroratus</i> <i>Peromyscus melanophrys</i>
Las presas	expuesto Jal 2	<i>Baiomys musculus</i> <i>Liomys irroratus</i> <i>Peromyscus melanophrys</i> <i>Reithrodontomys fulvescens</i>
Tlalchichilpa	expuesto Jal 3	<i>Baiomys musculus</i> <i>Liomys irroratus</i> <i>Peromyscus melanophrys</i>

Los resultados obtenidos del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y de similitud (ANOSIM) para la composición de roedores en cada sitio de estudio (testigo y jales) muestra diferencias significativas entre sitios (ANOSIM $R = 0.61$, $P < 0.0008$), lo que manifiesta que la composición de roedores en cada sitio de estudio es significativamente diferente entre sí (Figura 6).

Asimismo, la correlación entre los resultados del análisis NMDS en composición de la comunidad de roedores y los ejes ACP de la bioacumulación de MP revelaron una correlación positiva y significativa entre ACP eje 1 y NMDS eje 1 ($r = 0.702$, $P = 0.01$). Por otro lado, el resto de las correlaciones fueron positivas: (ACP eje 1 /NMDS eje 2: $r = 0.150$, $P = 0.63$, ACP eje 2 MP/NMDS eje 1: $r = 0.190$, $P = 0.55$), o negativas pero no significativas (ACP eje 2 /NMDS eje 2: $r = -0.19$, $P = 0.55$). La correlación entre la bioacumulación de MP y los ejes NMDS indican que las variables Al, Pb, Cu, As y Cd están significativamente correlacionadas con NMDS del Eje 1 (Tabla 3).

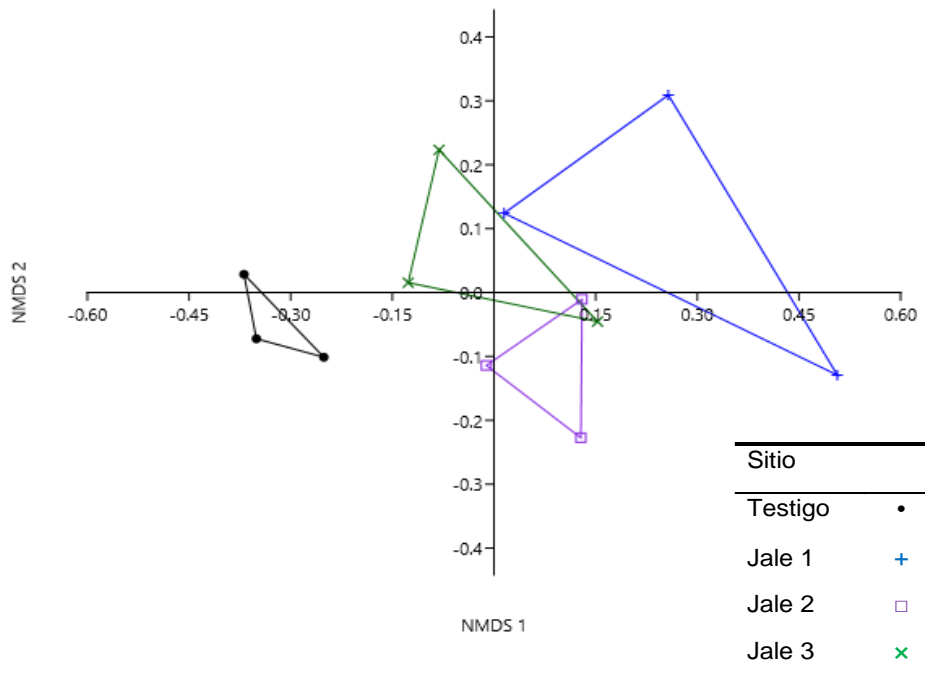


Figura 6. Diferencias en la composición de la comunidad de roedores entre cuatro sitios (testigo y jales), utilizando la escala multidimensional no métrica (NMDS). Cada punto es una representación bidimensional (eje 1 y eje 2) de la composición de especies de roedores (tres puntos por sitio de estudio). Las distancias entre los puntos reflejan una matriz de disimilitud creada usando el coeficiente de disimilitud de Bray-Curtis (Faith *et al.*, 1987). Los puntos que están muy juntos tienen comunidades de roedores que tienen una composición más similar en comparación con los puntos que están muy separados. Valores de estrés: 0.15. Inestabilidad final, 0.0004).

Tabla 3. Coeficiente de correlación de Pearson (valores de r) de variables de bioacumulación de metales pesados y los ejes del análisis de escalamiento multidimensional no paramétrico. Sólo se presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Metales	NMDS eje 1	NMDS eje 2
	r	r
Al	0.613	
Pb	0.695	
Cu	0.606	
As	0.647	
Cd	0.601	

Densidad de roedores

Se detectó un efecto significativo del sitio de estudio sobre la densidad de roedores ($F_{3,8} = 17.846$, $P < 0.0007$). La densidad de roedores (ind./ha) por sitio de estudio registró el siguiente patrón (Tukey, $P < 0.05$): Testigo (34.3 ind./ha) > J1 (15.6 ind./ha) = J3 (14.9 ind./ha) = J2 (11.8 ind./ha).

Por otro lado, la densidad de cada especie de roedor por sitio de estudio siguió el siguiente patrón: *B. musculus*: Testigo > J3 > J1 > J2, para *L. irroratus*: Testigo > J1 > J2 > J3, mientras que *P. melanophrys*: Testigo > J1 > J3 > J2 y finalmente, *R. fulvescens*, el cual sólo se registró en dos sitios Testigo = J2 (Figura 7).

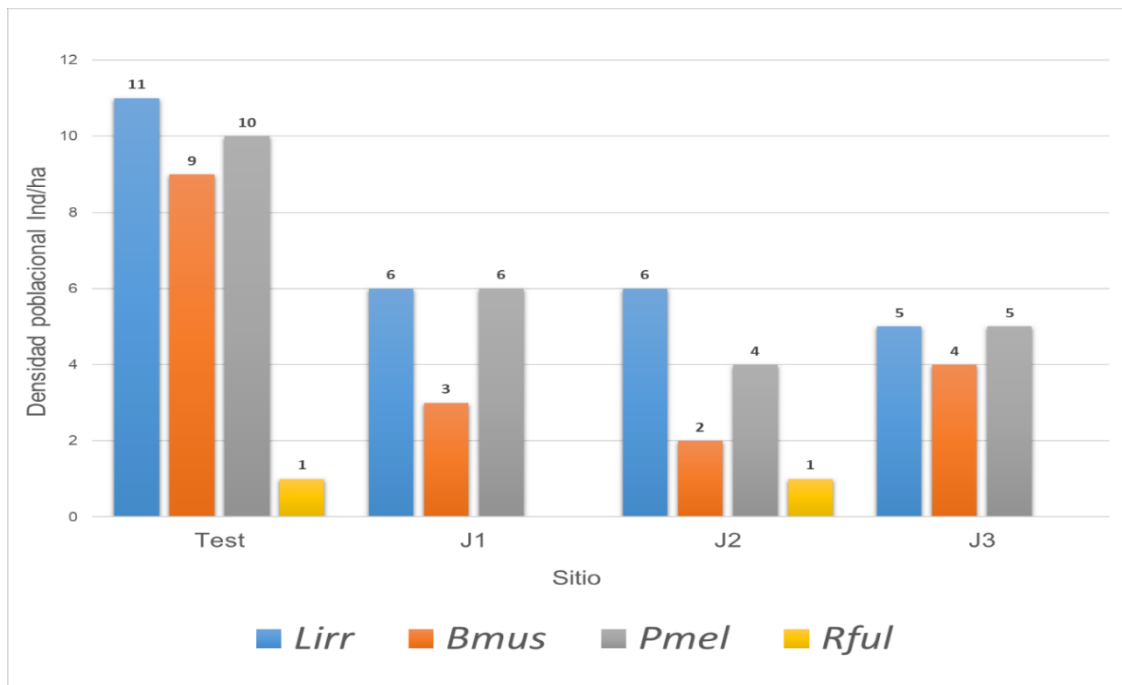


Figura 7. Densidad poblacional (ind/ha) estimada de roedores silvestre de los jales de Huautla y Quilamula, Morelos. (Test=Testigo, J1=Jale 1, J2= Jale 2, J3= Jale 3, *Bmus*= *Baimoys musculus* *Lirr*= *Liomys irroratus*, *Pmel*= *Peromyscus melanophrys*, *Rful*= *Reithrodontomys fulvescens*).

Diversidad de comunidades de roedores

En general, los resultados obtenidos por medio de la prueba delta (Solow, 1993) denotó que los índices de diversidad de Shannon-Wiener no difieren significativamente entre los sitios de estudio. Resultados similares fueron obtenidos para los índices de diversidad de Simpson (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de los índices de diversidad de Shannon-Wiener (H'), Simpson (D') y prueba delta (δ ; Solow, 1993) para evidenciar diferencias significativas entre pares de índices de diversidad.

		H'			
		Testigo	Jale 1	Jale 2	Jale 3
		1.080	1.039	1.026	1.033
D'	Testigo	2.739	$\delta=-0.041$, n.s.	$\delta=0.054$, n.s.	$\delta=0.047$, n.s.
	Jale 1	2.764	$\delta=0.026$, n.s.	$\delta=-0.013$, n.s.	$\delta=-0.006$, n.s.
	Jale 2	1.461	$\delta=-0.277$, n.s.	$\delta=0.303$, n.s.	$\delta=-0.007$, n.s.
	Jale 3	2.758	$\delta=0.019$, n.s.	$\delta=0.006$, n.s.	$\delta=-0.296$, n.s.

Similitud entre comunidades de roedores

Los índices de similitud empleados para determinar el porcentaje de especies que comparten entre comunidades muestran los siguientes resultados. El índice de Jaccard que mide presencia/ ausencia de especies, muestra que la similitud entre comunidades varía del 75% al 100%. Por su parte, los resultados con el índice de similitud de Czekanowski que toma en cuenta la abundancia de las especies muestra una variación en la similitud del 63% (testigo vs Jal 3) al 88% (Jal 1 vs Jal 3) (Tabla 5).

Tabla 5. Matriz de similitud de índices de similitud de Jaccard (I.S.J.) y Czekanowski (I.S.C.) para comunidades de roedores asociadas al sitio testigo de Quilamula y jales de Huautla, Morelos.

		I.S.C			
		Testigo	Jale 1	Jale 2	Jale 3
I.S.J	Testigo		0.67	0.66	0.63
	Jale 1	0.75		0.73	0.88
	Jale 2	1.00	0.75		0.75
	Jale 3	0.75	1.00	0.75	

Macro-morfología de especies de roedores entre sitios

Baiomys musculus

Análisis de Función Discriminante (AFD) entre sitios como la variable predictiva y los caracteres macro-morfológicos de las machos como variables dependientes produjeron dos funciones discriminantes (DF) que explicaron el 93.58% de la variación del conjunto de datos. Los variables longitud de la cola y longitud de la oreja tuvieron el mayor peso en FD1, por su parte las variables longitud de la mano y longitud de la oreja mostraron el mayor peso en FD2 (Tabla 6). La gráfica de FD1 vs FD2 mostró que los individuos del sitio testigo y jale 3 muestran una superposición significativa en el espacio de ordenación, por su parte el jale 1 y jale 2 se separan de los sitios antes mencionados (Figura 8). En contraste, la FD1 y FD2 en conjunto explicaron el 93.80% de la variación de las hembras de *B. musculus*. Se registró una superposición significativa en el espacio de ordenación de los individuos independientemente del sitio de procedencia (Figura 8). Las variables del

AFD con más altos valores en FD1 fueron la longitud de la oreja y la longitud del cráneo, y la longitud de la cola y el peso tuvieron los coeficientes discriminantes estandarizados más altos en FD2 (Tabla 6).

Liomys irroratus

De forma similar, el AFD explicó el 94.84% de la variación del conjunto de datos de la FD1 y FD2 para machos de *L. irroratus* (Figura 9). Las variables longitud de la mano y longitud del cráneo tuvieron el mayor peso en FD1, por su parte las variables longitud de la oreja y longitud del cráneo mostraron el mayor peso en FD2 (Tabla 6). La gráfica de FD1 vs. FD2 mostró que los individuos del sitio testigo y jale 3 muestran una superposición significativa en el espacio de ordenación, por su parte los individuos del jale 1 y del jale 2 se separan de los sitios antes mencionados (Figura 9). En contraste, la FD1 y FD2 en conjunto explicaron el 78.49% de la variación de las hembras de *L. irroratus*. Se registró una superposición significativa en el espacio de ordenación de los individuos independientemente del sitio de procedencia (Figura 9). Las variables del AFD con más altos valores en FD1 fueron la longitud de la oreja y la longitud del cráneo, y la longitud de la oreja y la longitud de la mano de los organismos tuvieron los coeficientes discriminantes estandarizados más altos en FD2 (Tabla 6).

Peromyscus melanophrys

El AFD explicó el 97.47% de la variación del conjunto de datos de la FD1 y FD2 para machos de *P. melanophrys* (Figura 10). Las variables longitud de la mano y longitud del cráneo tuvieron el mayor peso en FD1, y las variables longitud del cráneo y peso registraron el mayor peso en FD2 (Tabla 6). La gráfica de FD1 vs. FD2 mostró que los individuos del sitio testigo, jale 1 y jale 3 muestran una superposición significativa en el espacio de ordenación, por su parte los individuos del jale 2 se separan de los sitios antes mencionados (Figura 10). En contraste, la FD1 y FD2 en conjunto explicaron el 97.48% de la variación de las hembras de *P. melanophrys*. Se observó que la población de los individuos testigo se ordena de manera distante a las poblaciones de los individuos del Jale 1, jale 2 y jale 3 (Figura

10). Las variables del AFD con más altos valores en FD1 fueron la longitud de la oreja y la longitud del cráneo, y la longitud de la mano y la longitud del cráneo tuvieron los coeficientes discriminantes estandarizados más altos en FD2 (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de función discriminante (FDA) de variables macro-morfológicas de los roedores *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus* y *Peromyscus melanophrys* en el sitio testigo de Quilamula y los jales de Huautla Morelos.

	machos		hembras	
	FD 1	FD 2	FD 1	FD 2
<i>Baiomys musculus</i>				
Eigenvalor	5.656	0.730	0.688	0.120
Variación (%)	86.42	11.16	79.87	13.93
Variación acumulada (%)	86.42	93.58	79.87	93.80
Variables				
Longitud total	-0.005	-0.009	-0.009	-0.051
Longitud cola	0.179	-0.056	0.206	0.238
Longitud mano	0.105	0.331	0.164	-0.113
Longitud pata	0.058	-0.056	-0.097	-0.077
Longitud oreja	-0.158	-0.635	0.649	-0.049
Longitud cráneo	-0.037	-0.031	-0.278	0.164
Peso	-0.096	0.141	-0.083	-0.193
<i>Liomys irroratus</i>				
Eigenvalor	2.310	0.789	0.176	0.113
Variación (%)	70.70	24.14	47.77	30.72
Variación acumulada (%)	70.70	94.84	47.77	78.49
Variables				
Longitud total	-0.046	0.002	0.000	0.000
Longitud cola	-0.003	0.040	-0.056	0.053
Longitud mano	-0.410	0.124	0.127	0.140
Longitud pata	-0.051	0.005	0.013	-0.157
Longitud oreja	0.191	0.512	-0.182	-0.598
Longitud cráneo	0.207	-0.347	0.178	-0.053
Peso	0.156	0.081	0.027	-0.020

Continuación **Tabla 6.**

	machos		hembras	
	FD 1	FD 2	FD 1	FD 2
<i>Peromyscus melanophrys</i>				
Eigenvalor	1.369	0.464	6.113	0.356
Variación (%)	72.81	24.65	92.11	5.37
Variación Acumulada (%)	72.81	97.46	92.11	97.48
Variables				
Longitud total	0.001	0.018	0.029	-0.020
Longitud cola	0.004	0.035	0.073	0.026
Longitud mano	-0.237	-0.040	0.052	0.042
Longitud pata	-0.042	-0.079	-0.020	-0.024
Longitud oreja	-0.089	-0.030	0.089	-0.158
Longitud cráneo	0.283	-0.094	-0.117	-0.225
Peso	-0.080	0.050	0.065	-0.025

Baiomys musculus

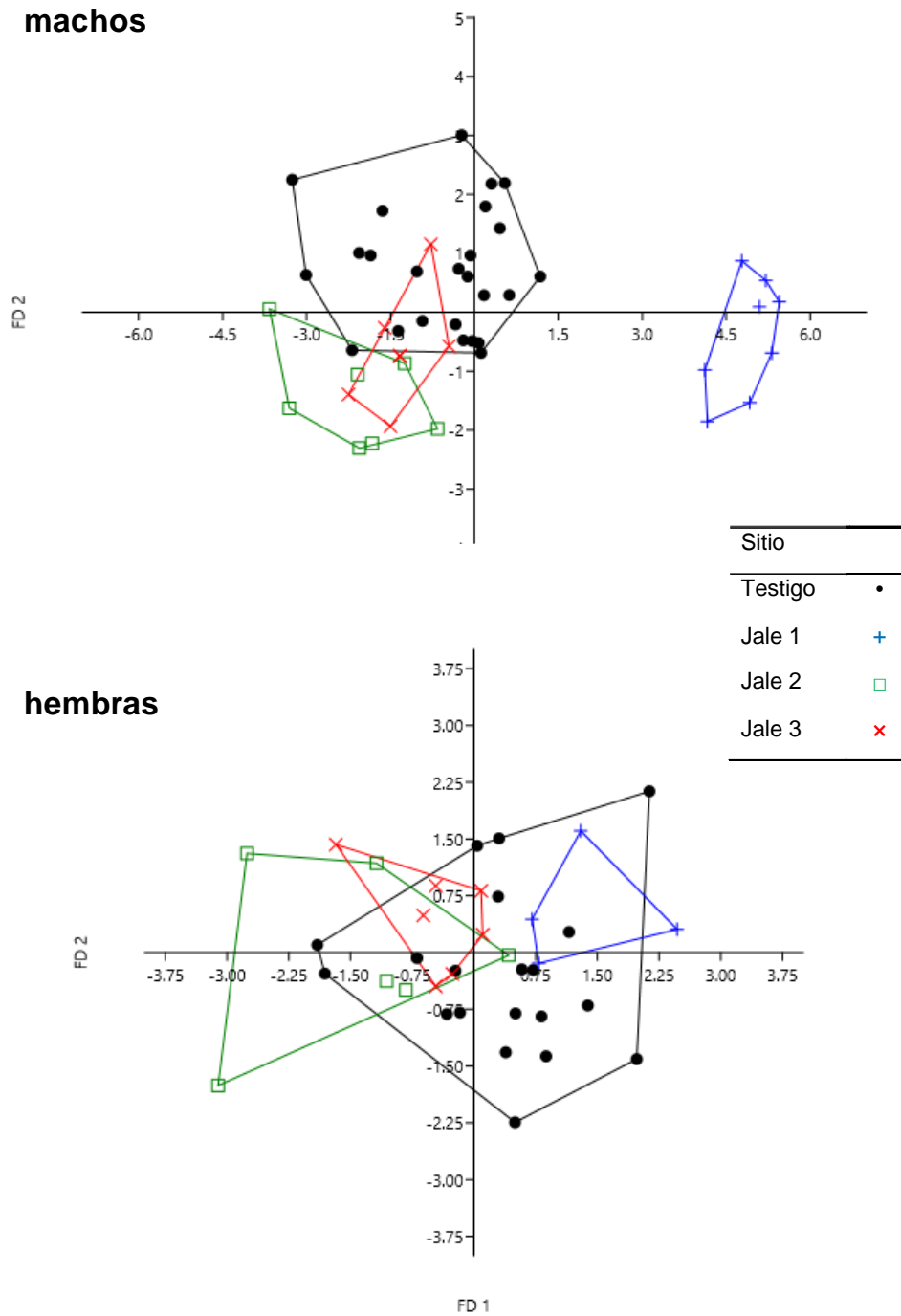


Figura 8. Esquema de la relación entre la función discriminante uno (FD1) y DF2 obtenido mediante el análisis de función discriminante macro-morfológico del roedor *Baiomys musculus* asociados al sitio testigo de Quilamula y los jales de Huautla, Morelos.

Liomys irroratus

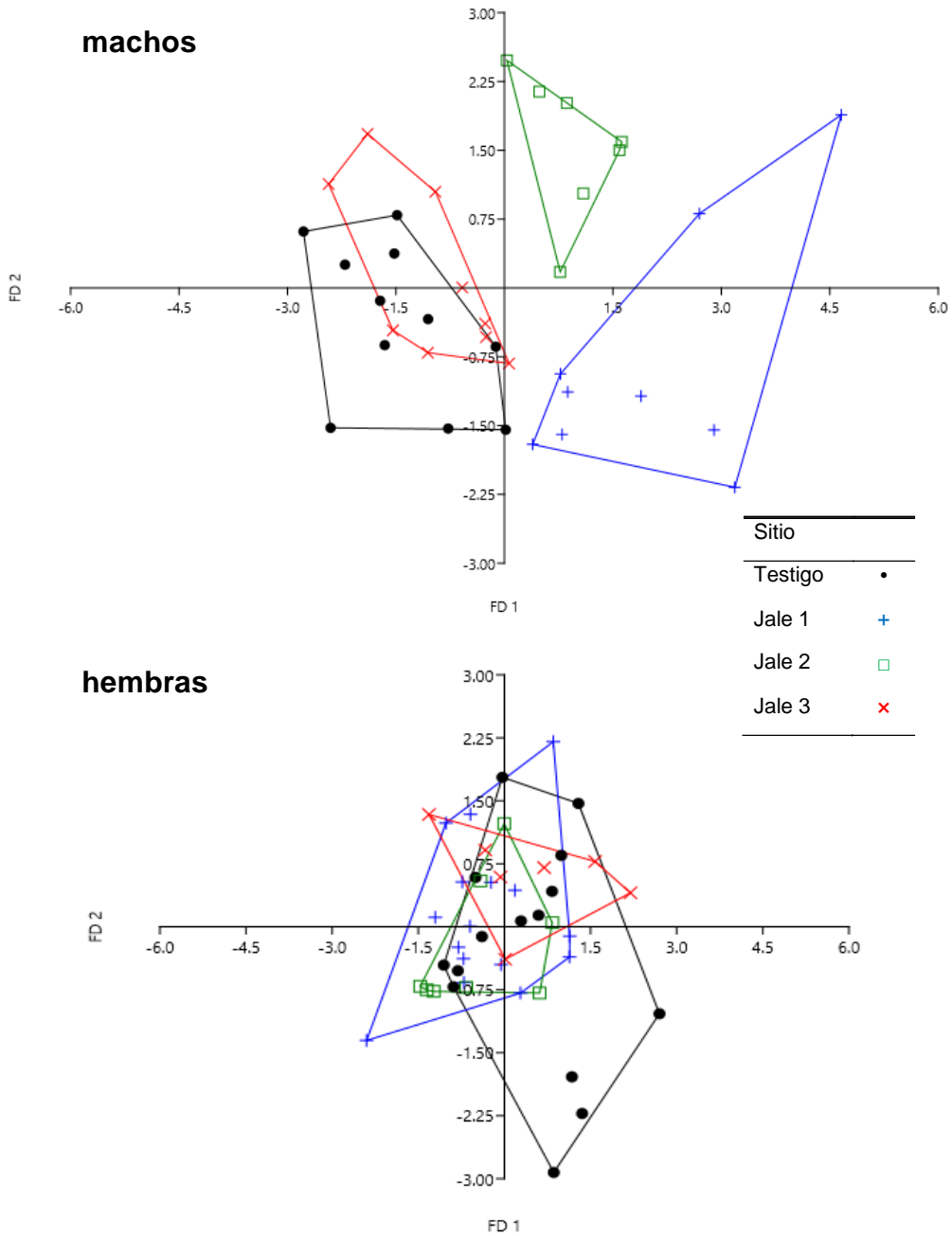
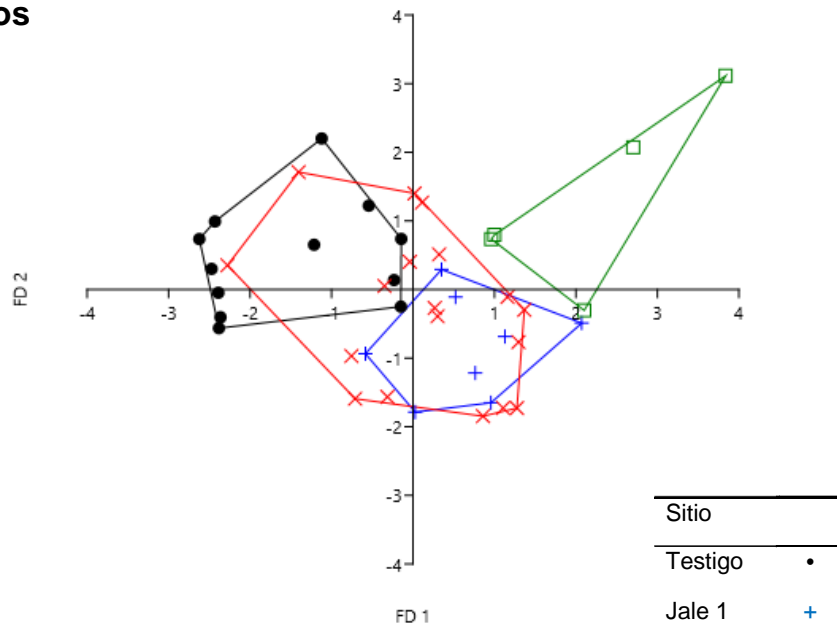


Figura 9. Esquema de la relación entre la función discriminante uno (FD1) y DF2 obtenido mediante el análisis de función discriminante macro-morfológico del roedor *Liomys irroratus* asociados al sitio testigo de Quilamula y los jales de Huautla, Morelos.

Peromyscus melanophrys

machos



hembras

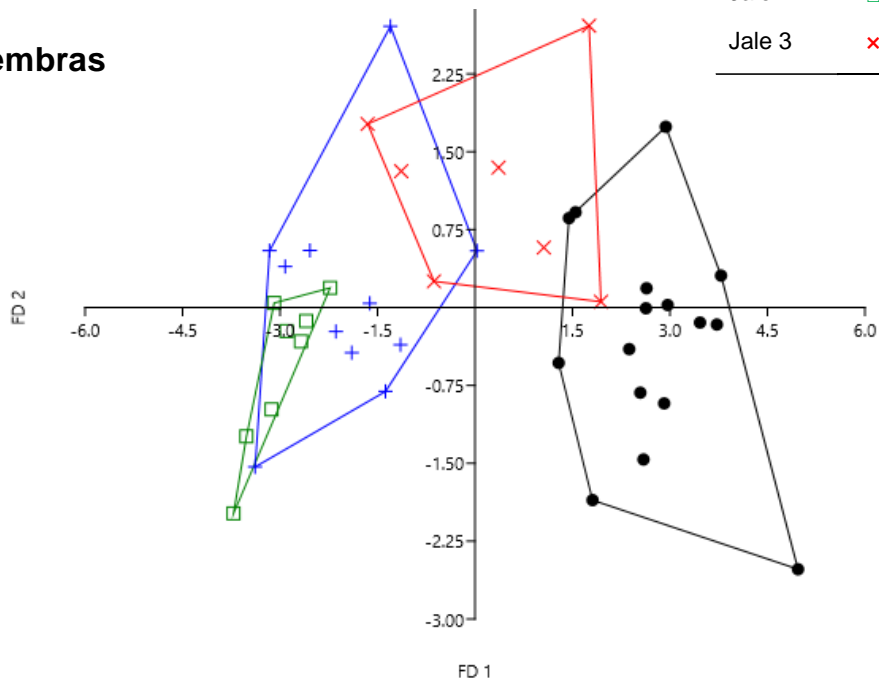


Figura 10. Esquema de la relación entre la función discriminante uno (FD1) y DF2 obtenido mediante el análisis de función discriminante macro-morfológico del roedor *Peromyscus melanophrys* asociados al sitio testigo de Quilamula y los jales de Huautla, Morelos.

Bioacumulación de metales pesados y su relación con el daño genético en roedores

Los resultados obtenidos respecto a los promedios de concentración de siete metales (Al, Pb, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) y un metaloide (As) en hígado y los niveles de daño genético (DG) en hembras de *B. musculus*, *L. irroratus*, y *P. melanophrys* asociados a jales se muestran en la tabla 7. En general, las concentraciones de MP en el hígado de las hembras de las tres especies de estudio fueron mayores en los sitios expuestos en relación con los individuos colectados en el sitio testigo.

En hembras de *B. musculus* el Cu aumento 175 veces respecto al testigo, el Zn aumento tres veces y el Ni dos veces. En *L. irroratus* el Al aumentó 1420 veces, el Ni 56 veces y el Pb 13 veces. Por otro lado, en *P. melanophrys* el Cu aumento 28 veces y el Fe dos veces respecto a la concentración observada en el hígado de las hembras del sitio testigo.

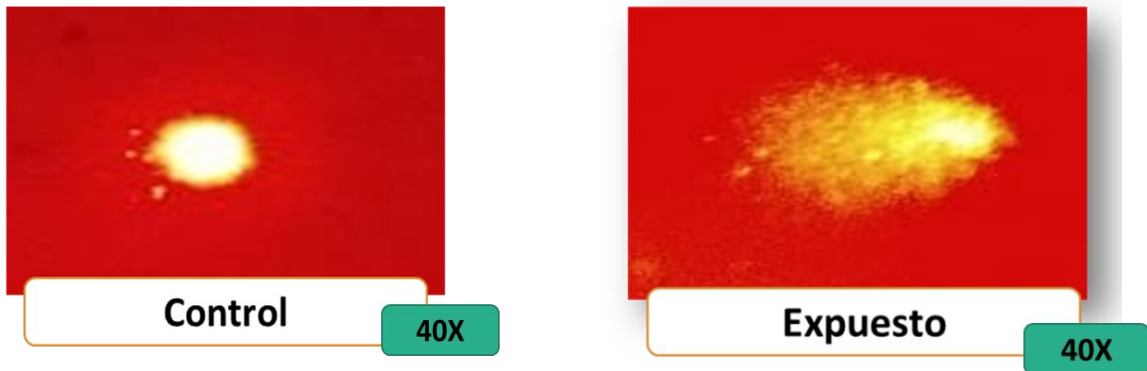
En general, el Cu tuvo un efecto significativo sobre los niveles de daño genético en hembras de las tres especies de roedores estudiadas (*B. musculus*, *L. irroratus* y *P. melanophrys*). En particular, en individuos de *B. musculus* se detectó un efecto significativo del Cu, Mn y Zn, en *L. irroratus* de Al, Cu y Pb, y en *P. melanophrys* de Zn y Cu, sobre los niveles de daño genético en hembras (Tabla 8, 9 y 10 respectivamente).

En cuanto a los niveles de daño genético se observó que las hembras de los sitios expuestos de las tres especies de roedores presentaron los mayores niveles de daño genético respecto a las hembras testigo: *B. musculus* ($224.36 \pm 26.79 \mu\text{m}$) > *P. melanophrys* ($186.34 \pm 31.48 \mu\text{m}$) > *L. irroratus* ($173.07 \pm 10.87 \mu\text{m}$) (Tabla 7, Figura 11).

Tabla 7. Concentración promedio (\pm desviación estándar) de metales pesados (mg/Kg) en hígado y daño genético (micras) en linfocitos de sangre periférica de roedores silvestres *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus*, y *Peromyscus melanophrys* en sitio testigo y expuestos.

Especie	Sitio	Metal (mg/Kg)	Daño Genético								
			Fe	Mn	Zn	Ni	Al	Cu	Pb	As	(μ m)
<i>Baiomys musculus</i>	Expuesto	promedio	97.76	1.07	70.49	1.29	0.01	1.75	0.01	0.01	224.36
		d.e.	17.01	0.16	15.75	0.35	0.00	0.63	0.00	0.00	26.79
	Testigo	promedio	57.67	0.80	21.49	0.53	0.01	0.01	0.01	0.01	52.96
		d.e.	3.82	0.12	2.21	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	15.46
<i>Liomys irroratus</i>	Expuesto	promedio	942.88	1.99	95.87	12.46	14.20	15.46	13.30	0.08	173.07
		d.e.	111.01	0.50	2.15	6.10	4.73	2.68	3.45	0.04	10.87
	Testigo	promedio	530.67	2.18	57.98	0.22	0.01	5.16	1.35	0.06	43.64
		d.e.	98.02	0.88	4.27	0.38	0.00	1.48	0.96	0.03	18.96
<i>Peromyscus melanophrys</i>	Expuesto	promedio	137.50	1.15	46.62	1.64	0.01	0.28	0.01	0.01	186.34
		d.e.	29.98	0.18	4.79	0.61	0.00	0.10	0.00	0.00	31.48
	Testigo	promedio	57.29	0.82	21.58	0.98	0.01	0.01	0.01	0.01	39.77
		d.e.	3.19	0.09	2.33	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	8.33

Baiomys musculus



Liomys irroratus



Peromyscus melanophrys

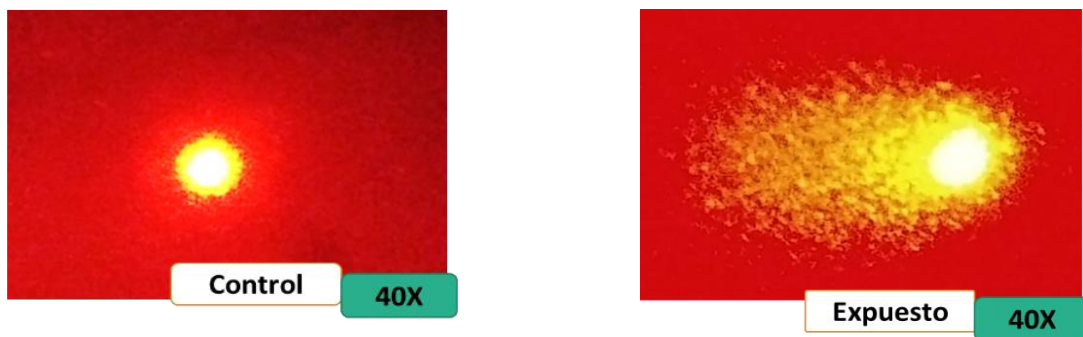


Figura 11: Rompimiento de cadena sencilla (longitud de la cauda) en hembras de roedores asociados a sitios testigo y sitio expuesto a jale, mediante la técnica de ensayo cometa.

Tabla 8. Efecto de la bioacumulación de metales en hígado de individuos de *Baiomys musculus* sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en hembras. Valores en negritas reflejan diferencias significativas. S.C. = suma de cuadrados, g.l. = grados de libertad, *F* = valor de ANOVA, *P* = nivel de significancia.

Metal	S.C.	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Cu	980.90	1	20.170	0.004
Fe	19.50	1	0.400	0.550
Mn	313.50	1	6.450	0.044
Ni	16.90	1	0.350	0.580
Zn	993.30	1	20.430	0.004
Error	291.80	6		

Tabla 9. Efecto de la bioacumulación de metales en hígado de individuos de *Liomys irroratus* sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en hembras. Valores en negritas reflejan diferencias significativas. S.C. = suma de cuadrados, g.l. = grados de libertad, *F* = valor de ANOVA, * = diferencias significativas, *P* = nivel de significancia.

Metal	S.C.	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Al	33.15	1	4.842136	0.079
As	1.95	1	0.284927	0.616
Cu	30.30	1	4.424347	0.089
Pb	52.62	1	7.684870	0.039
Mn	0.25	1	0.036130	0.856
Ni	9.32	1	1.361463	0.295
Error	34.24	5		

Tabla 10. Efecto de la bioacumulación de metales en hígado de individuos de *Peromyscus melanophrys* sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en hembras. Valores en negritas reflejan diferencias significativas. S.C. = suma de cuadrados, g.l. = grados de libertad, *F* = valor de ANOVA, * = diferencias significativas, *P* = nivel de significancia.

Metal	S.C.	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Cu	547.53	1	7.720	0.032
Fe	236.05	1	3.320	0.118
Mn	9.21	1	0.120	0.730
Ni	7.39	1	0.100	0.760
Zn	1381.26	1	19.470	0.004
Error	425.59	6		

Modelo sigmoïdal: Categorías de impacto entre la concentración de metales pesados y el nivel del daño genético

Para expresar de una forma más simple el impacto que puede tener la bioacumulación de MP sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en las especies de roedores estudiadas a partir de los análisis de regresión lineal, se determinaron cinco categorías de impacto (semáforo de alerta) con base a los valores tangenciales, angulares y normalizados (Tabla 11, Figura 12).

Tabla 11. Rangos de valores tangenciales, angulares y normalizados que representa la respuesta de las variables X→Y sobre las zonas de impacto.

Rangos en valores tangentes	Rangos en valores angulares	Normalizado	Zonas
[0.0-0.36)	[0°-20°)	[0.0-0.22)	Muy bajo impacto
[0.36- 0.83)	[20°-40°)	[0.22-0.44)	Bajo impacto
[0.83-1.73)	[40°-60°)	[0.44-.066)	Impacto medio
[1.73-5.67)	[60°-80°)	[0.66-0.88)	Alto impacto
[5.67 al infinito)	[80°-90°]	[0.88-1)	Muy alto impacto

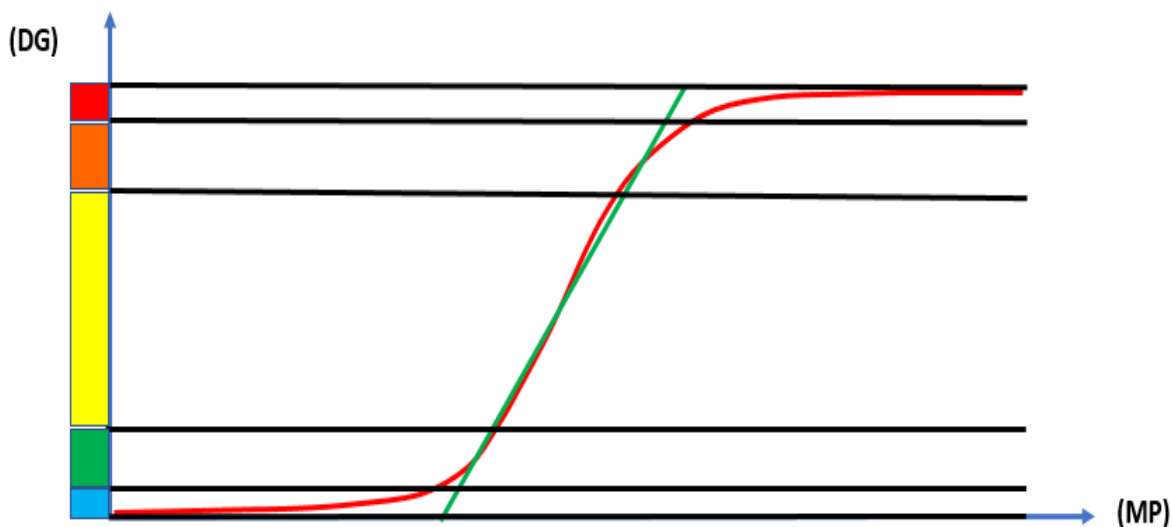


Figura 12. Categorías de impacto entre la concentración de metales y los niveles de daño genético a través de un modelo sigmoïdal. DG= Daño genético, MP= Metal pesado.

En general, el análisis permitió detectar la sensibilidad que tienen las especies de roedores que bioacumulan MP en hígado sobre los niveles de daño genético. Por lo que, a continuación, se describe los resultados obtenidos para cada especie:

Biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus* y *Peromyscus melanophrys*

Baiomys musculus

En general, la bioacumulación de Mn en hembras (-15.28°) tuvo muy bajo impacto sobre los niveles de daño genético. Por su parte, la bioacumulación de Zn (33.7°) y Cu (30.58°) tienen un impacto bajo (Tabla 12, Figura 13). Por lo que, los mejores biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *B. musculus* son: Zn > Cu > Mn.

Liomys irroratus

Para el caso de hembras de esta especie el Al (43.71°) se encuentra en la zona de impacto medio, en tanto, que el Pb (16.64°) y Cu (12.05°) se encuentran en una zona de muy bajo impacto (Tabla 12, Figura 14). Por lo que, podemos observar que los mejores biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *L. irroratus* son: Al > Pb > Cu.

Peromyscus melanophrys

Finalmente, en las hembras de esta especie el Cu (50.12°) se encuentra en una zona de impacto medio, mientras que el Zn (24.6°) se ubicó en la zona de bajo impacto. Por lo que, podemos observar que los mejores biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *P. melanophrys* son: Cu > Zn (Tabla 12, Figura 15).

De acuerdo a lo antes mencionado, la mejor especie de roedor para estudiar ambientes contaminados por Cu de acuerdo a su sensibilidad en orden de importancia son: *P. melanophrys* (50.12°), *B. musculus* (30.58°), *L. irroratus* (12.05°). Por otro lado, para ambientes contaminados por Zn las mejores especies son: *B.*

musculus (33.7°) seguida de *P. melanophrys* (24.6°). Por su parte, en ambientes contaminados por Pb y Al *L. irroratus* es la mejor especie (Pb=16.64°, Al=43.71°). Por último, en ambientes contaminados por Mn la mejor especie es *B. musculus* (-15.28°) (Tabla 12).

Tabla 12. Valores tangenciales transformados en valores angulares (°) de la relación entre la concentración de metales pesados en hígado y los niveles de daño genético en linfocitos de sangre periférica de hembras por especie. *ND*=No detectable. Los colores indican el semáforo de alerta (Tabla 13, Figura 12).

Metal	Especie					
	<i>Baiomys musculus</i>		<i>Liomys irroratus</i>		<i>Peromyscus melanophrys</i>	
	Tangencial	Grados	Tangencial	Grados	Tangencial	Grados
Al	<i>ND</i>	-----	0.9561	43.71°	<i>ND</i>	-----
Cu	0.5911	30.58°	0.2135	12.05°	1.1971	50.12°
Pb	<i>ND</i>	-----	0.2990	16.64°	<i>ND</i>	-----
Mn	-0.2733	-15.28°	<i>ND</i>	-----	<i>ND</i>	-----
Zn	0.6689	33.7°	<i>ND</i>	-----	0.4584	24.6°

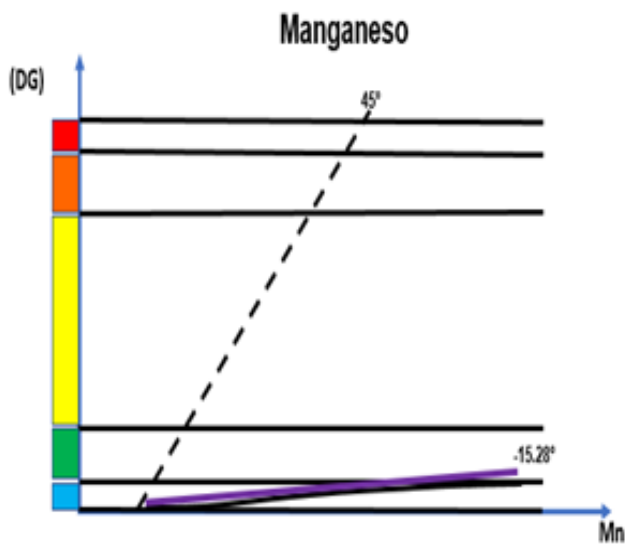
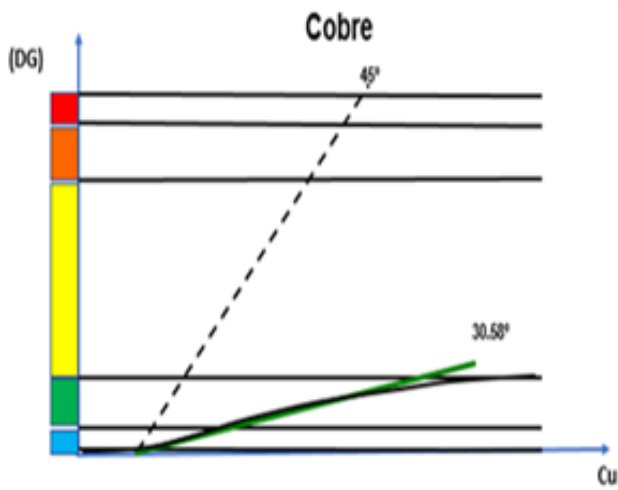
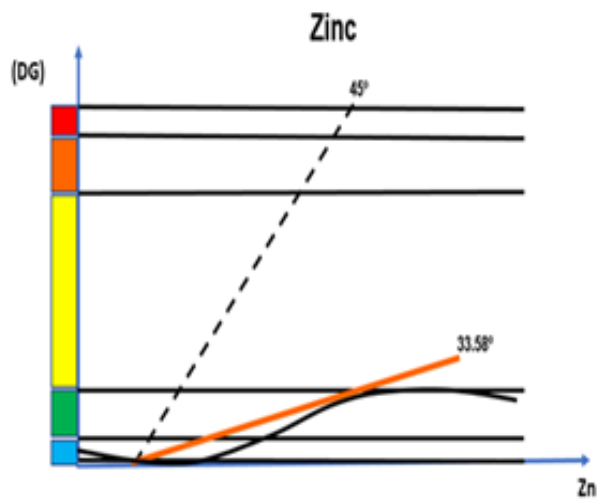


Figura 13. Representación del nivel de impacto de la concentración del Zn, Cu y Mn sobre el nivel de daño genético en hembras de *Baiomys musculus* por medio del modelo sigmoideal (valores angulares).

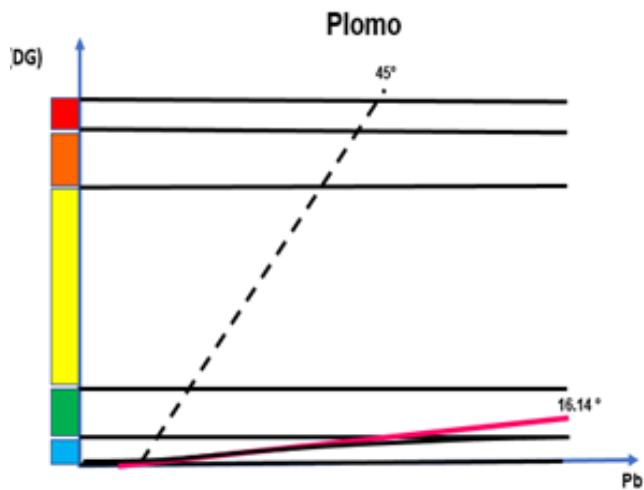
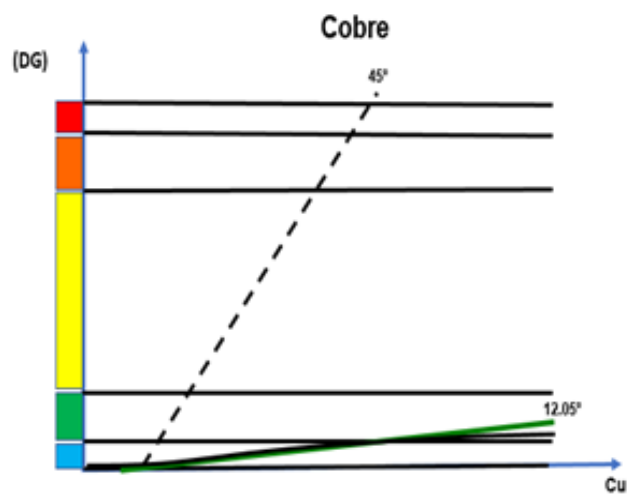
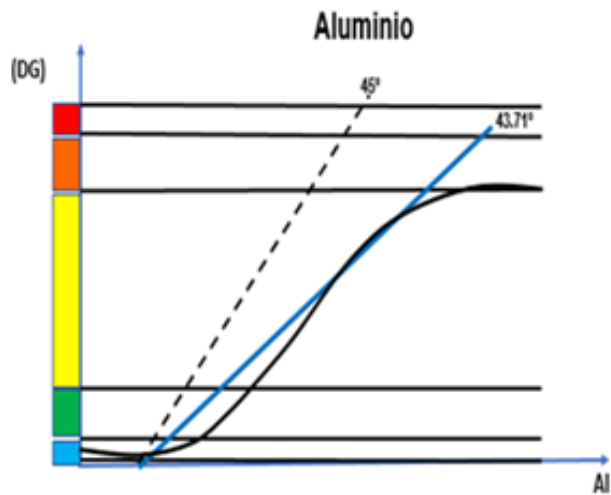


Figura 14. Representación del nivel de impacto de la concentración del Zn, Cu y Mn sobre el nivel de daño genético en hembras de *Liomys irroratus* por medio del modelo sigmoidal (valores angulares).

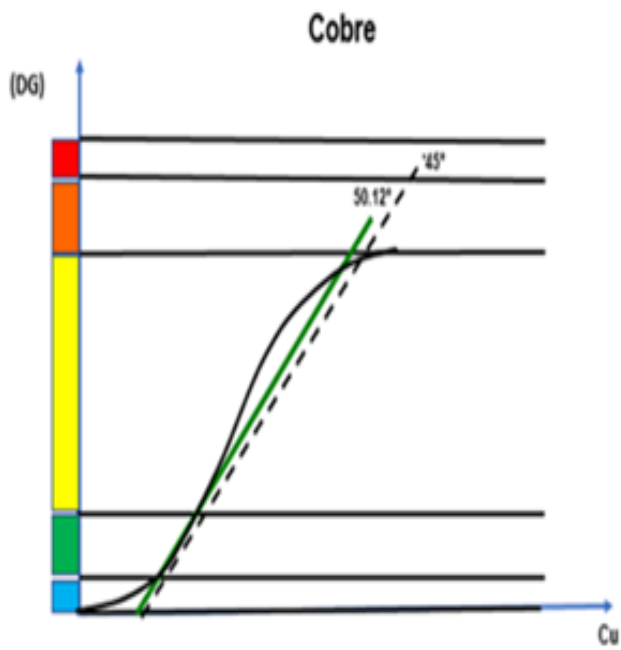
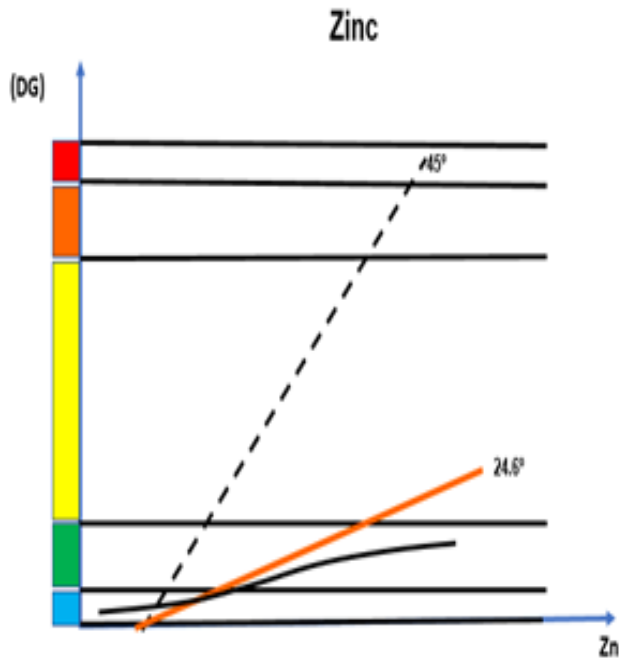


Figura 15. Representación del nivel de impacto de la concentración del Zn, Cu y Mn sobre el nivel de daño genético en hembras de *Peromyscus melanophrys* por medio del modelo sigmoideal (valores angulares).

DISCUSIÓN

Conocer la distribución espacial de roedores silvestres es de suma importancia, debido a que ésta ofrece información que permite determinar, por un lado, la presencia o ausencia de las especies, así como los factores ambientales y antropogénicos que interactúan e influyen directamente sobre ellas (Galván, 2017). Si bien, la importancia de los roedores radica en una serie de procesos ecológicos importantes para la dinámica y funcionamiento de un ecosistema, éstos pueden estar expuestos a una serie de actividades que limitan su desarrollo dentro del medio. Una de estas actividades es la minería metálica, la cual se basa en la extracción de MP que son considerados EPT's y tienden a persistir en el ambiente e inducir un continuo de respuestas biológicas que afectan desde las moléculas hasta los ecosistemas (Mussali-Galante *et al.*, 2013c). En esta investigación se evalúan por primera vez los efectos de la exposición crónica a MP en roedores silvestres con un enfoque multibiomarcador: de exposición, de efecto, de población y de comunidad.

Composición de las comunidades

Sitios de estudio

Bioacumulación de metales por sitio de estudio

Los resultados del análisis de componentes principales (ACP) muestran que las especies de roedores se ordenan por sitio de estudio en relación con la bioacumulación de MP. En particular, se observa que la mezcla de MP bioacumulados en el hígado de los roedores del sitio testigo es más similar con los roedores del jale 3, esta ordenación podría deberse a que por un lado el jale 3 tiene un tiempo de abandono mayor y es de menor tamaño con respecto al resto de los jales. Por lo que, al haber un mayor tiempo de abandono del jale se ha facilitado un incremento en el proceso de sucesión ecológica natural, registrando un mayor reclutamiento de especies vegetales, esto lo constata la heterogeneidad de la vegetación que presenta el jale 3, siendo semejante a la del sitio testigo y por ello estos sitios mantienen una mayor similitud en relación con la bioacumulación de metales. Por otro lado, el jale 1 y jale 2 muestran una mayor similitud entre ellos con respecto a la bioacumulación de MP, y esta similitud puede ser atribuida a que son

los jales de mayor tamaño y que fueron los últimos en ser utilizados por la minera Rosario de México S.A.

Comunidades de roedores

Riqueza y composición de roedores silvestres

En este estudio, se muestreó un total 254 individuos pertenecientes a dos familias, cuatro géneros y cuatro especies (*Baiomys musculus*, *Liomys irroratus*, *Peromyscus melanophrys* y *Reithrodontomys fulvescens*) asociadas a la localidad de Quilamula y los Jales de Huautla, Morelos. La presencia de estas especies de roedores es similar a la reportada en otros estudios realizados en zonas pertenecientes a la REBIOSH, donde la vegetación dominante también es Selva Baja Caducifolia. Por ejemplo, los estudios que apoyan esta investigación son los reportes hechos por Mason (2005) y González (2010) (*Liomys irroratus*), Rivas (2006) (*Baiomys musculus*), Vargas *et al.* (2012) (*Baiomys musculus*), Cadena (2003) (*B. musculus*, *L. irroratus* y *Peromyscus* sp.) y Vega *et al.* (2016) (*P. melanophrys*). En tanto, que Tovar-Sánchez *et al.* (2012) reporta a las especies *B. musculus* y *P. melanophrys*, Mussali-Galante *et al.* (2013) reporta a *P. melanophrys*, y por último Hernández-Plata *et al.* (2020) documentan a *L. irroratus* en los Jales de Huautla.

Los análisis NMSD (análisis de escalamiento no métrico) y ANOSIM muestran que la composición de roedores difiere significativamente entre sitios de estudio. Lo anterior, refleja que la composición de especies puede ser empleado como un biomarcador a nivel de comunidades. Más aún, al correlacionar los ejes NMDS con la bioacumulación de MP en hígado de roedores se encontró que el Al, Pb, Cu, As y Cd están significativamente correlacionados con el eje 1 del NMDS. Es decir, que la composición de especies de roedores en cada uno de los sitios de estudio es favorecida por la bioacumulación de metales pesados, siendo los metales y metaloides no esenciales los más importantes en estructurar la composición de roedores por sitio de estudio. El efecto cada uno de estos metales tiene sobre la salud de los organismos se discute más adelante.

Densidad de roedores

Los valores de densidad presentaron una gran variación y esta depende de la especie de roedor y del sitio de estudio. En general, se detectó un efecto significativo del sitio de estudio sobre la densidad (ind./ha) de roedores ($F_{3,8} = 17.846$, $P < 0.0007$). Los mayores valores de densidad se presentaron en el sitio testigo ubicado en la localidad de Quilamula (34.3 ind./ha), esto puede ser atribuido a que en esta zona no ha habido presencia de actividad minera y es donde se registra una mayor diversidad de especies vegetales, lo que propicia un hábitat más heterogéneo. Lo anterior es apoyado por los estudios de San José (2013) y García-Estrada *et al.* (2015), quienes sugiere que este tipo de hábitats favorecen una mayor diversidad de recursos alimenticios y sitios de refugio para la presencia de individuos de especies de roedores. En contraste, los sitios con menor densidad de roedores se presentaron en los ambientes expuestos a MP disponibles (jales), en donde la densidad del jale 1 (Las Presas) (15.6 ind./ha.) fue mayor que el jale 3 (14.9 ind./ha.) = Jale 2 (11.8 ind./ha). Lo anterior, puede ser favorecido por las características de la vegetación asociada a los jales, donde la composición de la vegetación es más homogénea con respecto al sitio testigo y donde dominan principalmente individuos de la especie *Acacia farnesiana* en el Jale 1 y Jale 2, por lo que, se reduce la oferta de recursos alimenticios y sitios de refugio para el establecimiento de pequeños roedores. Además, la presencia de metales y metaloides biodisponible en el ambiente y considerados como no indispensables, por ejemplo, Cd, Pb y As puede influir negativamente sobre la densidad de las poblaciones al aumentar la mortandad y disminuir el éxito reproductivo de los individuos (Mussali-Galante *et al.*, 2013), lo que puede llevar a las poblaciones de roedores a un cuello de botella e incluso a la extinción de estas.

L. irroratus es la especie que registró los mayores valores de densidad entre los sitios de estudio. Además, el sitio testigo presenta la mayor densidad en comparación con los sitios expuestos, considerando que el sitio control es el área no perturbada por MP, los resultados de este estudio son congruentes con las densidades de *L. irroratus* reportadas por Morán (1994) y Cadena (2003) en sitios perturbados y no perturbados al sur de Morelos. Por ejemplo, los autores documentan que los sitios no perturbados (SNP) presentan las mayores densidades

en relación con los sitios perturbados (SP) (Moran: SP=20, SNP=27; Cadena: SP=8.3, SNP=14).

En el caso de *P. melanophrys* los mayores valores de densidad se presentaron en el sitio control respecto a los sitios expuestos, los cuales mostraron una densidad similar entre ellos, esto es congruente con el trabajo previamente realizado por Mussali-Galante *et al.* (2013) en la misma área de estudio, donde reporto una densidad promedio en los sitios control de (10.35 ind./ha) y en los sitios expuestos Jale 2 (Las presas) y Jale 3 (Tlachichilpa) 4.04 y 5.56 ind./ha, respectivamente con respecto a los obtenidos. Sin embargo, la densidad reportada por Mussali-Galante y colaboradores en el Jale 3 (El portón; 1.52 ind./ha) es menor a la reportada en este estudio (6 ind./ha), de tal forma que se observa una disminución en la densidad de las poblaciones expuestas. La fluctuación en la densidad poblacional de *P. melanophrys* a través del tiempo puede ser atribuida a que los recursos y condiciones de los jales son dinámicos y está habiendo cambios sucesionales de la vegetación y de los mamíferos pequeños. Es decir, después de un disturbio (en este caso desechos mineros) inicia un recambio de especies y por ende cambio de las abundancias relativas de las especies, debido en parte a la fluctuación de recursos y condiciones (Begon *et al.*, 2006).

Por su parte, el roedor *B. musculus* mostró densidades que oscilan de 15 a 20 ind./ha, y el espacio de actividad es de 30 metros, sin embargo esto puede variar entre sitios (Chávez y Espinosa, 2005; Tovar-Sánchez *et al.*, 2012). En este estudio los resultados muestran la mayor densidad en el sitio control (9 ind./ha) y la menor en los sitios expuestos (2-4 ind./ha), lo que contrasta con lo reportado en los trabajos de García *et al.* (2002) y Cadena (2003), donde sus densidades en sitios con algún grado de perturbación van de 15 y 23.5 ind./ha, respectivamente y en los no perturbados contrastaron entre ellos 7.21 y 21.5 ind./ha. Observaciones de campo en el grupo de trabajo han registrado que *B. musculus* ha reducido sus densidades en los sitios de estudio a través del tiempo en los jales, en contraste especies como *L. irroratus* han ido incrementando sus densidades poblacionales. Por lo que, se sugiere como perspectiva hacer estudio sucesional de la fauna de mamíferos pequeños asociados a los jales, que permitan obtener evidencias documentales del recambio de especies.

Diversidad de roedores

En general, en este estudio los índices de diversidad Shannon-Wiener y de Simpson no difirieron significativamente entre comunidades. Lo anterior, es similar a los resultados obtenidos por Cadena (2003), quien reportar que el índice de diversidad de Simpson para especies de roedores (*B. musculus*, *L. irroratus* y *Peromyscus* sp.) de Huautla Morelos, no difieren significativamente entre sitios (perturbados y no perturbados). Por otro lado, García-Estrada *et al.* (2015) evaluaron la diversidad de las comunidades de roedores mediante el índice de Shannon-Wiener en sitios con diferente grado de alteración (de menor a mayor intensidad) causado por las actividades agrícolas en una selva mediana subcaducifolia en la Sierra Sur de Oaxaca. Los autores, concluyen que no hay diferencias significativas entre índices de diversidad en las comunidades de roedores. Por lo anterior, se sugiere que los disturbios antropogénicos ocasionados al medio natural (P. ej., jales) en términos de diversidad de roedores no son un buen biomarcador a nivel de comunidades.

Similitud entre comunidades de roedores

El patrón general muestra que los datos de similitud de Jaccard y de Czekanowski sugieren que las comunidades asociadas a los jales comparten una mayor cantidad de especies de roedores que entre jales con respecto al sitio testigo (Tabla 5). Lo anterior sugiere que las especies de roedores *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus*, *Peromyscus melanophrys* y *Reithrodontomys fulvescens* muestreadas en este estudio tienen la capacidad de establecerse tanto en ambientes con baja perturbación de Selva Baja Caducifolia como en sitios contaminados por MP productos de la actividad minera. Lo que es apoyado por el índice de similitud de Jaccard, el cual toma en cuenta la presencia y ausencia de las especies, por lo que, sus valores oscilaron del 75 al 100 % de similitud de especies entre pares de comunidades, incluso hay autores que sugieren que valores del índice de Jaccard superiores al 66.6% son consideradas comunidades similares (Sánchez y López, 1988). Por su parte, El índice de Czekanowski toma en consideración además de la presencia de la especie, la abundancia relativa de cada especie, por lo que este estudio documentó menores valores de similitud (entre 63 y 88%) en comparación con el índice de Jaccard. Lo anterior, puede ser atribuido a la variación espacial que

tiene cada localidad con respecto a las especies vegetales, las cuales a su vez modifican las condiciones microclimáticas (Begon *et al.*, 2006). Por lo anterior, las plantas representan un mosaico de recursos que varía temporal y espacialmente (Begon *et al.*, 2006). Por lo tanto, la abundancia y presencia de roedores cambiará espacialmente porque los recursos y condiciones se modifican dependiendo de las características locales, así como de los procesos ecológicos tales como la depredación, parasitismo, competencia, disturbio y fluctuaciones abióticas (Cornell y Lawton, 1992). Por ejemplo, Tovar-Sánchez *et al.* (2012), Mussali-Galante *et al.* (2013) y Hernández-Plata *et al.* (2020) encontraron que las especies de roedores *B. musculus*, *L. irroratus* y *P. melanophrys* modifican su abundancia relativa espacialmente tanto en jales mineros como en sitios testigo.

Macro-morfología de especies de roedores entre sitios

La bioacumulación de MP en roedores puede causar una gran variedad de efectos negativos en todos los niveles de organización biológica -desde las moléculas hasta los ecosistemas- (Mussali-Galante *et al.*, 2013). A nivel individual la bioacumulación de MP promueve un incremento de enfermedades que ponen en riesgo la salud de los organismos. Por ejemplo, se ha documentado que la bioacumulación de MP pueden ocasionar efectos en tejido óseo de individuos silvestres, causando alteraciones macro-morfológicas (Esteves-Aguilar, 2018). Los datos macro-morfológicos recabados en cada especie de estudio tuvieron la finalidad de ver la influencia de los MP sobre los cambios macro-morfológicos entre géneros (machos y hembras) de las especies *B. musculus*, *L. irroratus* y *P. melanophrys*. Los resultados de este estudio permitieron determinar los caracteres macro-morfológicos más útiles para discriminar entre géneros y evidenciar mediante análisis de ordenación (AFD) si los individuos expuestos a MP se están diferenciando morfológicamente de los individuos establecidos en sitios sin presencia de MP.

Baiomys musculus

En general, el análisis FD muestra que los individuos machos de *B. musculus* pertenecientes a los jales 1 y 2, se diferencian macro-morfológicamente de los individuos testigo, siendo los caracteres de: la longitud de la cola, la longitud de la

oreja y la longitud de la mano, los que más contribuyen a la ordenación de los individuos. En contraste, los individuos del jale 3 se sobreponen con los individuos testigo, es decir mantienen una macro-morfología similar. Por su parte, las hembras mantienen una macro-morfología similar independientemente del sitio de procedencia (Fig. 8). El patrón encontrado en los individuos machos de los jale 1 y jale 2 puede ser atribuido, en parte, a que son los sitios con presencia de altas concentraciones de metales y metaloides biodisponibles (As, Cu, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb, V y Zn) (Velasco *et al.*, 2005; Solís-Miranda, 2016) y, por otro lado, a la Historia de Vida de los individuos de *B. musculus*, los cuales tienen escasa vagilidad (menos de 30m), anidan en los jales (Tovar-Sánchez *et al.*, 2012) y sus hábitos alimenticios (semillas e insectos; Mason-Romo, 2005) que incluyen a especies establecidas en los jales. Es decir, tiene una exposición crónica de MP vía cutánea, ingesta y respiratorio. En particular, el hecho que los machos tengan una mayor variación morfológica con respecto a las hembras puede ser apoyado por los resultados de Amairani-Santana (2020), quien documenta que la bioacumulación de Ni y Mn en hueso de individuos machos de *B. musculus* asociados a los mismos sitios de estudio registran una mayor influencia sobre los niveles de daño genético en comparación con las hembras (Ni: machos $r=0.769$, hembras $r=0.715$; Mn: machos $r=0.694$, hembras $r=0.457$).

Liomys irroratus

El análisis FD muestra que los individuos machos de *L. irroratus* pertenecientes a los jales 1 y 2, se diferencian macro-morfológicamente de los individuos testigo, sienten los caracteres de: longitud de la mano, del cráneo y la longitud de la oreja, los que más contribuyen a la ordenación de los individuos. En contraste, los individuos del jale 3 se sobreponen con los individuos testigo, es decir mantienen una macro-morfología similar. Por su parte, las hembras mantienen una macro-morfología similar independientemente del sitio de procedencia (Fig. 9). Como se mencionó, el cráneo es uno de los caracteres primordiales en diferenciar a los machos entre sitios. En particular, el cráneo es uno de los caracteres principales utilizados en análisis de morfometría geométrica, donde se ven reflejado cambios adaptativos en respuesta a cambios evolutivos por presiones ambientales,

alimenticias o de comportamiento, además de ser una herramienta útil para comprender diferencias entre individuos de distintas poblaciones o dentro de una misma especie (Sarmiento-Pérez, 2017), por lo que la variación de la ordenación de los grupos de la especie en gran medida se debe a este carácter observándose cambios promovidos por la influencia de los MP. El patrón encontrado en los individuos machos de los jale 1 y jale 2 puede ser atribuido, en parte, a que son los sitios con presencia de altas concentraciones de metales y metaloides biodisponibles (As, Cu, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb, V y Zn) (Velasco *et al.*, 2005; Solís-Miranda, 2016) y, por otro lado, a la Historia de Vida de los individuos de *L. irroratus*, los cuales tienen escasa vagilidad (menos de 30m), anidan en los jales (Hernández-Plata *et al.*, 2020) y sus hábitos alimenticios (semillas e insectos; Mason-Romo, 2005) que incluyen a especies establecidas en los jales. Es decir, tiene una exposición crónica de MP vía cutánea, ingesta y respiratorio. Sin embargo, para aclarar la diferencia entre géneros se recomienda evaluar la bioacumulación de MP en hueso en ambos géneros, para determinar si la presencia de MP son el factor principal en los cambios macro-morfológicos observados.

Peromyscus melanophrys

En general, los análisis de FD muestran que los individuos de *P. melanophrys* se ordenan en grupos de acuerdo con el sitio de procedencia. En particular, los individuos del sitio testigo se separan de los individuos asociados al sitio expuesto a MP, exceptuando en machos donde los individuos del sitio testigo se sobrepone con los individuos del jale 3 (Fig. 10). En machos los caracteres más importantes para su discriminación fueron la longitud de la mano y el cráneo. Para hembras, los caracteres de mayor valor en la discriminación son la longitud de la mano y del cráneo. Por lo anterior, el cráneo es uno de los caracteres macro-morfológicos más importantes en *L. irroratus* para evaluar los efectos de los MP en roedores silvestres. Lo anterior es apoyado por el estudio de Esteves-Aguilar (2018), quien evaluó la inestabilidad en el desarrollo del cráneo de *P. melanophrys* expuestos a MP en los mismos jales de Huautla. La autora sugiere que los individuos presentaron mayor fluctuación asimétrica en el cráneo en comparación con los individuos testigo debido a que se encuentra relacionados con la disrupción que ejercen los MP en la

estabilidad del desarrollo del cráneo. Por otro lado, Tovar-Sánchez *et al.* (2012) documentan que los MP (Fe, Ni, Zn y Mn) bioacumulados en hueso de individuos de *P. melanophrys* establecidos en los jales de Huautla son significativamente mayores en relación con los individuos asociados a los sitios testigos. Lo anterior sugiere que la elevada bioacumulación de MP es uno de los factores que promueven los cambios macro-morfológicos en los individuos hembras y machos asociados a sitios expuestos por MP.

Bioacumulación de metales pesados y su relación con el daño genético en roedores

Se ha documentado que en los jales de Huautla existen concentraciones altas de metales biodisponibles (Cd, Cu, Zn, Pb, Fe, y Mn) de los cuales, los cuatro primeros rebasan los límites máximos permisibles internacionales establecidos por la EPA en 2007 y de acuerdo a la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, el Cd y Pb rebasan los límites establecidos por esta norma (Solís- Miranda, 2016). Por lo anterior, cuando los MP se han movilizadados y están biodisponibles estos pueden ser peligrosos para los organismos, puesto que pueden verse afectaciones en los niveles de organización biológica, desde las células hasta los ecosistemas (Mussali-Galante *et al.*, 2013).

Los resultados de esta investigación demuestran que las comunidades de roedores silvestres (*B. musculus*, *L. irroratus*, *P. melanophrys*) que habitan dentro de los jales de Huautla, se encuentran expuestas a una serie de MP como lo reportan los trabajos de Tovar-Sánchez *et al.* (2012); Mussali-Galante *et al.* (2013), Esteves-Aguilar (2018), De la Cruz, (2018) y Hernández-Plata *et al.* (2020) quienes han trabajado con estas especies.

Aunado a ello, resulta interesante conocer la relación del género y el daño genético, en especial en las hembras. Pues si bien, los resultados obtenidos muestran que las hembras de las tres especies de roedores analizadas *B. musculus*, *L. irroratus* y *P. melanophrys* presentaron mayores niveles de daño genético en los sitios expuestos respecto al testigo por la exposición a MP, es importante saber el por qué son ellas las que presentan mayor daño genético. Lo anterior puede ser atribuido a que las hembras metabolizan xenobióticos de manera lenta y en

consecuencia esto generaría una concentración mayor de xenobióticos en los tejidos e inducir toxicidad en los órganos diana (Mugford y Kedderis, 1998), como es el caso del biomarcador de exposición utilizado en esta investigación, el hígado, en donde los metales con mayor influencia sobre los niveles de daño genético fueron Al, Cu, Mn, Pb y Zn. Los elementos esenciales Cu, Mn y Zn son importantes para la salud de los seres vivos (González-Muñoz, *et al.* 2009; Pareja-Cadena, 2014), ya que se involucran en las funciones biológicas teniendo un efecto significativo sobre los niveles de daño genético en hembras, ya que en exceso estos MP pueden generar efectos tóxicos (De la Cruz, 2018), así como los metales no esenciales (Al y Pb) pueden ser tóxicos en bajas cantidades (Alcade, 2001; Londoño-Franco *et al.*, 2016).

En particular el Cu tuvo un efecto significativo sobre los niveles de daño genético en hembras de las tres especies, aunque es considerado como un metal esencial, se ha documentado que el Cu es genotóxico y mutagénico en ratones (Prá *et al.*, 2008). Si se sobrepasan las concentraciones traza requeridas, este puede reemplazar al Zn en los dedos de zinc o bien puede oxidar las cisteínas que lo conforman, en ambos casos los dedos de zinc pierden la capacidad de unirse al ADN, así como su función enzimática de reparación al ADN dañado (Hartwig *et al.*, 2002). La exposición crónica puede generar disfunción y lesiones estructurales hepáticas, del sistema nervioso central, de los riñones, los huesos y los ojos hasta ocasionar la muerte (ATSDR, 2004; Huster *et al.*, 2006; Vivas, 2008; Arnal, 2014; Collachagua y Reaño, 2017). Además, durante el periodo de gestación se ha reportado la formación de centros primarios de osificación en los fetos (Acuña *et al.*, 1999).

Por su parte, el Mn es un elemento traza necesario para mantener la buena salud de los organismos, sin embargo, se ha reportado que en hembras de roedores tratadas con manganeso vía oral redujeron los niveles de fertilidad. En ratas tratadas con cantidades muy altas de Mn se observaron alteraciones del riñón y de las vías urinarias que incluyeron inflamación de los riñones y formación de cálculos renales (ATSDR, 2012). Aunado a ello se ha señalado que el Mn produce efectos deletéreos sobre la reproducción en animales como en humanos (Elbetieha *et al.*, 2001; Ponnappakkam, *et al.* 2003; ATDRS, 2012).

Para el Zn, se ha documentado que los organismos después de ser expuestos a este metal aumentan sus concentraciones más rápido en sangre y hueso (ATSDS, 2005a), lo anterior, apoya nuestros resultados ya que se detectó una relación positiva y significativa entre la concentración de Zn y los niveles de daño genético en los linfocitos de sangre periférica en hembras de *B. musculus* y *P. melanophrys*. Además, se ha documentado que el consumo de alimentos con elevadas cantidades de zinc (1,000 veces mayor que las cantidades dietéticas recomendadas) durante varios meses puede causar efectos negativos en la salud de los organismos (P. ej., anemia, lesiones en el páncreas y riñones, así como problemas respiratorios), como lo señala la ATSDR en ratas, ratones y hurones. Asimismo, ATSDS (2005a) documenta que ratas hembra alimentadas durante el proceso de gestación con elevadas concentraciones de Zn incrementaron los niveles de infertilidad y las crías llegan a ser de talla menor.

Por otro lado, el Al es un metal que no tiene ningún papel biológico, además de ser tóxico para los organismos (Olaniran *et al.*, 2013). Se ha reportado, sobre su toxicidad que este metal puede generar efectos en vías metabólicas que involucran el metabolismo del calcio, fósforo, flúor y hierro. Además, de ocasionar daños en las células nerviosas, en células óseas y hemopoyéticas (Jaishankar *et al.*, 2014), estas últimas se encuentran en el sangre periférica y medula ósea, lo que podría explicar la relación encontrada en este estudio entre las altas concentraciones de Al y los altos niveles de daño genético en los roedores expuestos.

En tanto los efectos que puede ocasionar la exposición a Pb podemos señalar efectos a nivel neuronal, hematológicos, endocrinos, renales, desarrollo y reproducción (Ferrer, 2003) así como cancerígenos, lo que lo hace un metal genotóxico. Además, se ha documentado que el Pb se encuentra involucrados en la producción de especies reactivas de oxígeno, que promueve daño al ADN como los rompimientos de cadena sencilla, entre otras afectaciones (Ercal *et al.*, 2001; Zawia *et al.*, 2000; Scanlon *et al.*, 2017), lo que explicaría la importancia del plomo con su relación en los niveles de daño genético observado en *L. irroratus*. Existe además evidencia científica de las afectaciones del plomo en roedores, a nivel neuronal podemos señalar efectos en memoria (García, *et al.*, 2004; Nava *et al.*, 2012, Hernández-Plata *et al.*, 2020), hematológicos, como la disminución de

linfocitos T (González, 2002), que son esenciales en la función y regulación del sistema inmune (Mastache *et al.*, 2005). En tanto a efectos reproductivos se ha señalado en roedores, abortos espontáneos y disminución del tamaño del óvulo (Zawai *et al.*, 2000; López-Hernández *et al.*, 2015).

A pesar de conocer los efectos de los MP sobre la salud de los organismos, se ha documentado muy poco sobre sus efectos respecto al género. Al respecto se ha señalado que los niveles de metabolismo respecto a la variación dependiente del género en roedores puede ser resultado de la evolución diferencial del citocromo P450, donde se ha documentado que interviene en los procesos de biotransformación y excreción de xenobióticos, el cual tiene su localización en las membranas del retículo endoplásmico liso de las células del tejido hepático además de encontrarse en testículos y glándulas adrenales, estas últimas incluyen la producción de hormonas sexuales femeninas las cuales disminuyen la actividad del citocromo P450 y en consecuencia la función metabólica asociada (Mugfor y kedderis, 1998; Cutiño, 2011; Tovar-Sánchez *et al.*, 2012; Rodríguez y Rodeiro, 2014). Sin embargo, como señala Tovar-Sánchez *et al.* (2012) más allá de una cuestión hormonal y metabólica, la ingesta de MP e Historia de Vida de las especies son esenciales y deben de considerarse para obtener un panorama más completo.

Se ha documentado que las principales rutas de exposición a MP consiste en el consumo de alimento y agua contaminada, así como la ingesta e inhalación incidental del suelo, según lo observado en el roedor *P. melanophrys* en jales de Huautla (Mussali-Galante *et al.*, 2013), esto puede deberse a que en esta zona al ser un área que presenta una estacionalidad climática muy marcada por sequía, permite la dispersión de estos metales vía eólica, lo que facilita por un lado la inhalación e ingesta de metales a los organismo, aunado a la ingesta de alimentos que pueden contener MP bioacumulados e incluso partículas de jale pegadas (las partículas de jale son < 45µm) en las estructura externa de los alimentos (P. ej., hojas, frutos, semillas, brotes, insectos, etc.), lo que podría incrementar la cantidad de metales acumulados en los roedores. Aunado a esto, se ha reportado mayores concentraciones de MP en roedores juveniles debido a un mayor requerimiento de energía, por lo que, hay una mayor demande de consumo de alimentos como lo reportado con las ratas *Rattus norvergicus* y *Rattus optimus* (Zarrintab y Mirzaei,

2017). Asimismo, se ha señalado en numerosos estudios sobre el gasto energético reproductiva en mamíferos (Bozinovic y Canals, 2007; Granja *et al.*, 2012; Urviola y Fernández, 2017) y específicamente en roedores (Veloso y Bozinovic, 2000; Torres *et al.*, 2002; Sumbera *et al.*, 2003a; Williams, 2003; Garcia-Sustegui *et al.*, 2017), donde las hembras en esta etapa demandan mayor cantidad de energía y especialmente durante la lactancia puesto que el gasto energético es alto, de manera que las hembras al consumir más alimentos con PM presentarían mayores niveles de daño genético.

Por todo lo anterior y de forma particular para cada una de las especies estudiadas, los resultados obtenidos de la bioacumulación de MP en hígado y su efecto sobre los niveles de daño genético en individuos hembras de *B. musculus* sobresalieron los siguientes metales: Cu, Mn y Zn, donde los individuos registraron concentraciones mayores en los sitios expuestos respecto a los del sitio testigo. En consecuencia, los individuos de los sitios expuestos son los que presentaron los mayores niveles de daño genético (224.36 μm) (rompimiento de cadena sencilla) respecto a los testigos (52.96 μm). Estos resultados son similares a lo que reportaron por Tovar-Sánchez *et al.* (2012) en hembras de la misma especie de estudio, en general, los autores encontraron que las hembras tienden a presentar una mayor susceptibilidad a los efectos de los MP en comparación con los machos, traduciéndose en mayores niveles de daño genético.

Rivas (2006) documentó la dieta de *B. musculus* en la Selva Baja Caducifolia de la Sierra de Huautla, Morelos. La autora señala que la especie es un roedor herbívoro generalista, y su dieta está compuesta por un 91.81% de material vegetal (tallos y hojas) y el restante 8.19% de artrópodos. En particular se documenta que el roedor prefiere alimentarse de herbáceas. Por otro lado, en los jales de Huautla, resalta la presencia de las especies herbáceas: *Bidens bigelovii*, *Bidens odorata*, *Gomphrena decumbens*, *Salvia mexicana*, *Talinum paniculatum* y *Sanvitalia procumbens* (Martínez-Becerril, 2009; Flores, 2019). Siendo esta última una de las especies con mayores niveles de preferencia por parte de *B. musculus*. En particular, Rosas-Ramírez (2018) estudio a *Sanvitalia procumbens* bajo condiciones de invernadero creciendo en sustrato del jale de Huautla, documentando que esta especie es capaz de bioacumular Fe, Zn, Cd, Pb, Ni y Cr en raíz y tejidos foliares.

Además, se ha documentado la bioacumulación de MP (Pb, Zn, Cd, As) en individuos del género *Bidens* (Bech *et al.*, 2012; Learita, 2015; Ramírez-Sánchez, 2017), en el género *Talium* (Pb, Cd, Cr: Akinola y Ekiyoyo, 2006; Kumar *et al.*, 2012) y en la especie *Salvia mexicana* (As, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn: Learita, 2015). Lo anterior, fortalece que la exposición por ingesta de plantas es uno de los mecanismos mediante el cual los individuos de *B. musculus* bioacumula MP y en consecuencia estos MP generan afectaciones en el ADN de los individuos.

Por otro lado, este estudio muestra que las hembras de *L. irroratus* bioacumulan significativamente más Al, Cu y Pb en los sitios expuestos a MP en comparación con los sitios testigo. Asimismo, se detectó una relación positiva y significativa entre la concentración de MP bioacumulados y los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla). Lo anterior, es apoyado por el trabajo de De la Cruz (2018) quien documenta mayores niveles de daño genético en individuos de la misma especie de roedor asociada a los jales de Huautla. Los altos niveles de MP bioacumulados puede estar terminado por la dieta de *L. irroratus*, por ejemplo, Mason (2005) estudió la dieta de *L. irroratus* asociada a la Selva Baja Caducifolia en la Sierra de Huautla. El autor documentó que se trata de una especie herbívora durante la época de lluvias y en estiaje tiende a ser granívoro, presentando en sitios perturbados un ámbito alimenticio de tipo generalista, por lo que, se sugiere que este roedor al ser terrestre, con reducida movilidad (machos: 90-12 m² y hembras: 21 m²; Santos y Santiago, 2012) y pasar mucho tiempo en la superficie de los jales de Huautla, estarían más expuestas y propensas a bioacumular más MP en sus tejidos en comparación con los individuos establecidos en sitios testigo. Además, *L. irroratus* presenta periodos reproductivos durante todo el año (Dowler y Genoways, 1978; Álvarez-Castañeda, 1996; García-Estrada *et al.*, 2002) y en la Selva Baja Caducifolia el mayor periodo reproductivo en épocas de lluvia (Cadena, 2003). Por lo que, las hembras que habitan los jales de Huautla están expuestas constantemente a MP biodisponibles, incrementan sus concentraciones dentro del organismo, debido a que dentro de su historia de vida son ellas las de menor desplazamiento respecto a los machos y que al entrar a etapas de reproducción demanda mayor cantidad de energía, por lo que, el consumo de alimento obtenido en los jales con MP es de manera constante.

Aunado a lo anterior, se ha documentado que especies vegetales establecidas en los jales de Huautla tienden a bioacumular MP en sus tejidos. A continuación, se mencionan las especies asociadas a los jales donde se ha registrado la bioacumulación de MP y con un asterisco (*) se señala la especie vegetal que son utilizadas por *L. irroratus* para consumir sus semillas. *Vachellia farnesiana* hiperacumuladora de Cu, Zn y Pb (Santoyo-Martínez, 2016), *Prosopis laevigata* y *Pithecellobium dulce* consideradas como hiperacumuladoras de Cu, Zn y Pb (Hernández-Lorenzo, 2015; Castañeda-Bautista, 2015; Murillo, 2015; Santoyo-Martínez, 2016), *Bursera copallifera*, *Ipomoea pauciflora**, *Conzattia multiflora* Standley, *Pithecoctenium crucigerum**, *Zanthoxylum culantrillo*, *Gomphrena decumbens**, *Lysiloma divaricatum* * y *Mimosa sp**. Por lo antes expuesto, es muy probable que la bioacumulación de Cu, Pb y Al detectada en hígado de los individuos de *L. irroratus* pueden deberse al consumo de algunas de estas especies vegetales.

Por su parte, en individuos hembras de *P. melanophrys* se detectó la bioacumulación de Cu y Zn en hígado y su relación positiva y significativa con los niveles de daño genético. En general, las mayores concentraciones de MP y los más altos niveles de daño genético se registraron en los individuos asociados a los jales de Huautla. Lo anterior, es congruente con lo reportado por Tovar-Sánchez *et al.* (2012) quienes reportan que las hembras presentan una mayor susceptibilidad a los efectos de los MP con respecto a los machos, traduciéndose en mayores niveles de daño genético. *P. melanophrys* juega un papel ecológico importante, debido a que se encuentra fuertemente asociado a su hábitat y altera la comunidad vegetal al ser el principal removedor y dispersor de semillas (Hortelano-Moncada, 2015). Respecto a la dieta de *la especie* se conoce poco. Sin embargo, se ha documentado que otras especies de *Peromyscus* se alimentan tanto de productos vegetales (tallos, yemas, semillas y frutos), así como de escarabajos y polillas (Anderson, 2000). Este roedor anida en el suelo, pero también es semiarbóricola, lo que resulta en un incremento de la exposición a los metales del suelo y del consumo de alimentos. Se alimentan de semillas que se encuentran principalmente en el suelo, sin embargo, se ha documentado que los individuos de la especie que habitan en los jales de Huautla se alimentan de plantas como: *Prosopis laevigata*, *Acacia*

farneciana y *Pithecelobium dulce* (Mussali-Galante *et al.*, 2013), los cuales son hiperacumuladoras de metales como, Cu, Pb y Zn en Huautla, Morelos (Castañeda-Bautista, 2015; Murillo, 2015, Santoyo-Martínez, 2016). Por lo anterior, las principales rutas de exposición a MP consiste en el consumo de alimentos y agua contaminada, así como la ingesta e inhalación incidental del suelo como señala Mussali-Galante (2013) nuestro principal antecedente directo de la especie en los jales de Huautla. Por lo anterior, se sugiere que la acumulación de Cu y Zn en hígado *P. melanophrys* podría deberse al consumo de alimentos, considerando que las hembras podrían tener mayores concentraciones y en consecuencia altos niveles de daño genético, debido a que, como en todas las especies descritas en esta investigación, requieren de un mayor consumo de alimentos durante su actividad reproductiva.

Otros estudios que muestran esta relación del género y principalmente en hembras sobre los niveles de daño genético se pueden citar el trabajo de Vergara-García (2014), quien evaluó en Malambo, Colombia, el efecto genotóxico y la susceptibilidad individual por exposición ambiental a plomo en humanos, donde al comparar la variable género con los niveles de plomo en sangre y niveles de daño genético por medio del ensayo cometa, observó que las mujeres aun presentado menores niveles de plomo sanguíneos tienen mayores daños en el material genético, sin embargo no se documenta la posibles razones, incluso este comportamiento se ha observado en otros mamíferos como la foca *Arctocephalus australis* en la costa del río grande, Brasil, donde las hembras muestran un daño mayor al ADN por la bioacumulación de metales (Besnik Baraj *et al.*, 2009).

Finalmente, las diferencias en la bioacumulación de metales y el nivel de daño genético observado entre las especies se deben también a las características individuales de las especies, como la historia de vida y dieta como se ha descrito para cada una de ellas. Además, es importante considerar los efectos potenciales que causan cada uno de los metales, como las descritas en este trabajo. Por ejemplo, en la reproducción se ha señalado que puede ocasionar abortos o infertilidad, lo que tendría como consecuencia la disminución del número de individuos en una población al grado de extinguirla, y que dependiendo de las interacciones interespecíficas de la especie podría ocasionar algún desequilibrio en

el área donde habita. Asimismo, considerar que los jales de Huautla, al ser áreas con cierto grado de perturbación, producto de la actividad minera, actualmente inactiva, estos jales están bajo procesos de sucesión ecológica, por lo que ha generado y generará cambios en la composición vegetal y en consecuencia cambios en la presencia o ausencia de especies faunísticas y desde luego florísticas asociada a los jales, como en los roedores, puesto que estos cambios de vegetación propician hábitats que puedan favorecer o no a los roedores, por ello la importancia de considerar la historia de vida de las especies.

Modelo sigmoidal: Categorías de impacto entre la concentración de metales pesados y el nivel del daño genético.

Existen muchos modelos matemáticos para entender el comportamiento de una serie de datos, pero resulta algo complejo realizar su interpretación en estudios biológicos. Por ello como se mencionó al inicio de esta investigación el modelo sigmoidal es una propuesta que permite interpretar fácilmente datos cuantitativos al transferirlos en datos cualitativos, de manera que una forma más simple de expresar el impacto que puede tener la bioacumulación de MP sobre los niveles de daño genético (rompimiento de cadena sencilla) en las especies de roedores estudiadas se expresara de manera fácil es este modelo.

Biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *Baiomys musculus*, *Liomys irroratus* y *Peromyscus melanophrys*.

Baiomys musculus

El modelo sigmoidal muestra que la bioacumulación de Mn en hembras tuvo muy bajo impacto sobre los niveles de daño genético. En tanto, el Zn y el Cu tienen un impacto bajo, de esta manera se puede señalar que los mejores biomarcadores de exposición-efecto son hembras de *B. musculus* para estudiar ambientes contaminados con Zn, Cu, Mn. Con ello se reafirma a la especie *B. musculus* como una especie centinela.

Liomys irroratus

Para el caso de hembras de *L. irroratus* la mayor sensibilidad sobre los niveles de daño genético la presentó el Al, puesto que se encontró en una zona de impacto medio, en tanto que, el Pb y Cu se encontraron en una zona de muy bajo impacto. Por lo que, podemos observar que los mejores biomarcadores de exposición-efecto para hembras de *L. irroratus* son Al > Pb > Cu para lugares contaminados con estos MP. Con lo que a través de estos resultados podría ser considerada como una especie centinela.

Peromyscus melanophrys

En las hembras de esta especie el Cu se encontró en una zona de impacto medio, la cual fue mayor a la observada por las especies *B. musculus* y *L. irroratus*. Por lo que, la mejor especie de roedor para estudiar un ambiente contaminado por Cu es *P. melanophrys*. En tanto, el Zn muestra un bajo impacto sobre los niveles de daño genético, por lo que puede ser considerada como una especie para estudiar ambientes contaminados con este metal. Aunque la especie *B. musculus* se registra en la misma zona de impacto para este metal, *P. melanophrys* documenta una mayor sensibilidad, haciéndola un mejor candidato para ambientes contaminados por Zn.

CONCLUSIONES

- La bioacumulación de Al y Pb fueron los MP con mayor influencia en la ordenación de los individuos por sitio de estudio.
- La composición de roedores en cada sitio de estudio fue significativamente diferente entre sí. Por lo que, puede ser considerado como un buen biomarcador a nivel de comunidad.
- Se detectó un efecto significativo del sitio de estudio sobre la densidad de roedores, mostrando el siguiente patrón: *Testigo* > *J1* = *J3* = *J2*.
- *P. melanophrys* y *L. irroratus* son las especies con mayor dominancia en ambientes contaminados por metales pesados.
- Los índices de diversidad (Shannon-Wiener y Simpson) no muestran diferencias significativas entre sitios de estudio.
- La mayor similitud entre las comunidades estudiadas expuestas a metales se encuentra entre el jale 1 y jale 3.
- Los individuos machos de *B. musculus* del jale 1 y jale 2 difieren macro-morfológicamente de los machos del resto de los sitios, en contraste, las hembras no se diferencian entre sitios.
- Los individuos machos de *L. irroratus* del jale 1 y jale 2 son macro-morfológicamente diferentes a los machos del resto de los sitios, en contraste, las hembras no se diferencian entre sitios.
- Los individuos machos y hembras de *P. melanophrys* del jale 1 y jale 2 se separan macro-morfológicamente del resto de los sitios.
- Las concentraciones de MP (Al, Pb, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) en hígado y los niveles de daño genético de las hembras de las tres especies de estudio fueron mayores en los individuos de los sitios expuestos respecto a los de los testigos. Siendo las hembras de *B. musculus* las que en promedio presentan mayor daño genético.
- El modelo sigmoideal facilita la interpretación de valores cuantitativos a cualitativos, lo que permite realizar una interpretación biológica fácil en investigaciones de este tipo.

- *B. musculus* es una de las mejores especies para estudiar ambientes contaminados por Cu, Zn y Mn. Para *L. irroratus* Al seguido de Pb y Cu. En tanto, para *P. melanophrys* es el Cu seguido del Zn.
- El modelo sigmoidal, reafirmar como especies centinela a *B. musculus* y *P. melanophrys* y abre la oportunidad de reconsiderar a *L. irroratus* como especie centinela.

Literatura citada

- Acuña, H., Silva, T., Lemus, A., Fuenzalida, B., Román, S., Rivera, Y., y Varela, V. (1999). Intoxicación con ion cobre en ratas preñadas y su efecto en la formación de centros primarios de osificación en fetos. *Revista Chilena de Anatomía*, 17(2), 217-224.
- Akinola, M. y Ekiyoyo, T. (2006). Accumulation of lead, cadmium, and chromium in some plants cultivated along the bank of river Ribila at Odonla area of Ikorodu, Lagos state, Nigeria. *Journal of Environmental Biology*, 27, 597-599.
- Alcade, M. (2001). Alteraciones neurológicas y psiquiátricas secundarias a la exposición al aluminio. *Cuadernos de Medicina Forense*, 17.
- Álvarez-Castañeda, S. T. (1996). Los Mamíferos del estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. 211 p.
- Anderson, S. D. (2000). Reproduction and dynamics of deer mice. En Monteverde: Ecology and conservation of a tropical cloud forest. Nadkarni N. M. y Wheelwright N. T. (eds.). Oxford University Press, Inc., Nueva York. 238-239 p.
- Andresen, E. (2000). Ecological roles of mammals: the case of seed dispersal. En: Entwistle A. y N. Dunstone (eds.). *Priorities for the conservation of mammalian diversity: has the panda had his day?* Cambridge University Press. Inglaterra. 11-25 p.
- Arif, I. y Khan, H. (2009). Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal biodiversity and conservation*, 32, 9-17.
- Armienta, M. A., Villaseñor, G., Rodríguez, R., Ongley, L. K. y Mango, H. (2005). The role of arsenic-bearing, rocks in groundwater pollution at Zimapán Valley, Mexico. *Environmental Geology*, 40, 571-581.
- Arnal, N., Dominici, L., de Tacconi, M.J.T. y Marrakesh, C.A. (2014). Las alteraciones inducidas por cobre en el cerebro de ratas dependen de la ruta de sobrecarga y los niveles basales de cobre. *Nutrition*, 30, 96-106.
- ATSDR. (2004). Toxicological Profile for Copper Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

- ATSDR. (2005). Toxicological profile for arsenic. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. (2005a). Toxicological profile for zinc. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSD. (2008). Toxicological profile for aluminium. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. (2012). Toxicological profile for manganese. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Barceló, J., y Poschenrieder, C. (1992). Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y Planta*, 2, 345-361.
- Basu, A., Mahata J., Gupta S. y Giri A. (2001). Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. *Reviews in Mutation Research*. 488, 171-194.
- Bech, J., Duran, P., Roca, N., Poma, W., Sánchez, I., Roca-Pérez, L., Boluda, R., Barceló, J. y Poschenrieder, C. (2012). Accumulation of Pb and Zn in *Bidens triplinervia* and *Senecio sp.* Spontaneous species from mine spoils in Peru and their potential use in phytoremediation. *Journal of Geochemical Exploration*. 123(1), 109–113.
- Begon, M., Townsend, C. R., y Harper, J. L. (2006). Ecology: From individuals to ecosystems.
- Besnik, B., Niencheski, L., Fillmann, G. y Hermanns, L. (2009). Biochemical normalization of trace metals in *Arctocephalus australis*. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57(1), 1-6.
- Bickham, J., S. Sandhu, P. Hebert, L. Chikhi, y R. Athwal. (2000). Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: 58 implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation Research*, 463, 33-51.

- Bozinovic, F. y Canals, M. (2007). Fisiología ecológica de mamíferos: compromisos y restricciones en el uso de la energía. Mamíferos de Chile Muñoz (Eds. Pedreros, A. & JL Yáñez), 267-287.
- Brewer, S.W. y Rejmánek, M. (1999). Small rodents as significant dispersers of tree seeds in a Neotropical forest. *Journal of Vegetation Science* 10, 165-174.
- Cadena, M. (2003). Efecto de la perturbación y estacionalidad en la comunidad de roedores en una selva baja caducifolia en Morelos, México. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas de Puebla. Puebla, Puebla. 80 p.
- Capó, M. (2002). Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. España: McGraw-Hill. 314 p.
- Carrizales, L., Jasso Y., Espinosa-Reyes G., Torres-Dosal A. y Díaz-Barriga F. (2005). Diseño y aplicación de una metodología para la evaluación integrada de los riesgos ambientales en sitios peligrosos de México. Instituto Nacional de Ecología. México. 66 p.
- Castañeda Bautista J. A. (2014). Cambios macro y micromorfológicos en *Zea mays* L. (Poaceae) por contaminación de metales pesados en Santa Rosa, Taxco, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 83 p.
- Ceballos, G. y G. Oliva. 2005. Los Mamíferos Silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fondo de Cultura Económica, Mexico. 983 pp.
- Cervantes-Ramírez, L. (2010). Daño genotóxico en *Baiomys musculus* (Rodentia:Muridae) por efecto de los jales mineros de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 65 p.
- Chao, A., Chazdon R., Colwell, R. y Shen, T. (2005). Un Nuevo método estadístico para la evaluación de la similitud en la composición de especies con datos de incidencia y abundancia. *Ecology Letters*, 8, 148-159.
- Chávez, C. y Espinosa, L. (2005). *Baiomys musculus* (Merriam, 1892). En: Ceballos G, Oliva G (eds) Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fondo de Cultura Económica, Mexico, 667–668 p.

- Coello, B., Sosa-Garrocho, M. y Alcantara, R. (2019). Avances en el estudio experimental de la bioquímica hepática. Universidad Nacional Autónoma de México. 189 p.
- Collachagua, M. I., Reaño, del Valle, C. E. (2017). Evaluación del daño hepático por toxicidad crónica a la exposición de cobre en ratas de la especie *Rattus norvegicus*. Tesis (Químico Farmacéutico). Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, EAP. de Farmacia y Bioquímica. 157 p.
- Cornell, H. y Lawton, J. (1992). Species Interactions, Local and Regional Processes, and Limits to the Richness of Ecological Communities: A Theoretical Perspective. *Journal of Animal Ecology*, 61(1), 1-12.
- Corrales-Pérez, D. y Martín-Romero, F. (2013). Evaluación de la peligrosidad de jales de zonas mineras de Nicaragua y México y alternativas de solución: Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, 65(3), 427-446.
- Corrales-Pérez, D. y Martín-Romero, F. (2018). Adecuaciones para mejorar la aplicación del método D3987-85 en la extracción de EPT de los antiguos residuos mineros El Fraile, Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 35 (1), 1-17.
- Cutiño, E. (2011). Defensa química y citocromo P450: relación con la defensa inmune. *Rev. Med. UV*, 53-63.
- Crettaz, M., D., Sedan D. y Giannuzzi L. (2017) Bioacumulación y biomagnificación de cianotoxinas en organismos acuáticos de agua dulce. En Giannuzzi L., Petcheneshky T. y Hansen, M. (eds). *Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud*. Buenos Aires, Argentina. 171-186 p.
- De la Cruz-Guarneros, N. (2018). Efecto de la bioacumulación de metales en la población de *Liomys irroratus* (Gray 1868) que habita los jales de Huautla, Moleros: un enfoque multibiomarcadores. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 67 p.
- De la Fuente, A., Olivera, B., Arredondo, Ó., Hayrikyan, T., Castillo, M., Escamilla, O. et al. (2017). Las actividades extractivas en México: Estado actual. Anuario 2016. Fundar Centro de Análisis e Investigación, A.C. México. 169 pp.

- Del Razo, L., Quintanilla-Vega B. y Albores A. (2004). Arsénico. En: Toxicología ambiental. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México. 295-308 p.
- Dimitrov, H., Mitkovska, V., Tzekov, V. y Chassovnikarova, T. (2016). Bioaccumulation of cadmium and lead in rodent species from the region of lead-zinc smelting factory – Plovdiv (South Bulgaria). *Ecologia Balkanika*, 8 (1), 9-18.
- Dirzo, R., E. Mendoza & P. Ortiz. (2007). Size – related differential seed predation in a heavily defaunated Neotropical rain forest. *Biotropica*, 39, 355-362.
- Dowler, R., y Genoways, H. (1978). Mammalian Species: *Liomys irroratus*. *The American Society of Mammalogists*, 82, 1-6.
- Elbetieha, A., Bataineh, H., Darmani, H., Al-Hamood, M.H. (2001). Effects of long-term exposure to manganese chloride on fertility of male and female mice. *Toxicol Lett*, 119, 193-201 29.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H. y Aykin-Burns. N. (2001). Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1, 529-539.
- Esparza- Claudio, J. (2011). Simulación de flujo y trazado de partículas generadas por un depósito de jales mineros, para el análisis de riesgo en la zona de alta vulnerabilidad del acuífero Silao- Romita, en el municipio de Guanajuato. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. 117 pp.
- Esteves-Aguilar, J. (2018). Evaluación del daño genético y la inestabilidad en el desarrollo del cráneo en la especie centinela *Peromyscus melanophrys* que habita en zonas Mineras. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del estado de Morelos. México. 75 p.
- Faith, D. P., Minchin, P.R. y Belbin, L. (1987). Disimilitud composicional como una medida robusta de distancia ecológica. *Vegetatio*. 69, 57–68.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por metales. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 26(Supl. 1), 141-153.
- Festa, F., Cristaldi M., Ieradi L., Moreno S. y Cozzia R. (2003). The Comet assay for the detection of DNA damage in *Mus spretus* from Donana National Park. *Environmental Research*: 54-61.

- Galván-Ramírez, M. A. (2017). Diversidad de pequeños roedores en relación a la cobertura y uso de suelo en Tres Marías, Huitzilac, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 62 p.
- García-Estrada, C., M. de L. Romero-Almaráz y C. Sánchez-Hernández. (2002). Comparison of rodent communities in sites with different degrees of disturbance in deciduous forest of southeastern Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 85, 153-168.
- García-Estrada, C., Peña-Sánchez, Y. A. y Colín-Martínez, H. (2015). Diversidad de mamíferos pequeños en dos sitios con diferente grado de alteración en la Sierra Sur, Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(4), 1014-1023.
- García, G., Ramírez, V. y Balderas, I. (2004). Cognitive deficits in adult rats by lead intoxication are related with regional specific inhibition of cNOS. *Behav Brain Res*, 149, 49-59.
- García-Sustegui, W., Ochoa-Ramos, A., Handal-Silva, A. y Morán-Perales, J. (2017). Parámetros reproductivos básicos en ratas hembras adultas (*Rattus norvegicus*) de una cepa mutante alopecica hipotímica mantenida en condiciones convencionales de bioterio. *Revista de Ciencias de la Salud*, 4-11, 1-10.
- González-González, I. (2010). Relación entre la perturbación de una selva seca y la estructura genética poblacional de *Liomys irroratus*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 96 p.
- González-Muñoz, M.J., Meseguer-Soler, I. y Mateos-Vega, C.J. (2009). Elementos ultratrazas ¿Nutrientes o tóxicos? *Revista de Toxicología*, 26 (2-3), 93-103.
- González-Riquelme, J. F. (2002). Efecto de la exposición subaguda a plomo, sobre los cambios inducidos por glucocorticoides en bazo y timo de rata Prepúber. Memoria profesional. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. 100p.
- Granja, Y., Cerquera, J. y Fernandez, O. (2012). Factores nutricionales que interfieren en el desempeño reproductivo de la hembra bovina. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 4(2), 458 – 472.
- Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F. y González-Hernández, G. (2007). Suelos y

- sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 24(2), 170-184.
- Handy, R., Galloway, T. y Depledge, M. (2003). A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicology*, 12, 331-343.
- Hartwig, A. y Schwerdtle, T. (2002). Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications. *Toxicology Letters*, 127, 47-54.
- Henderson, P. y Seaby, R. (2002). Community Analysis Package, version 2.04. Pisces Conservation Ltd. Lymington.
- Hernández-Lorenzo, B. (2015). Análisis de la anatomía y morfología de *Prosopis laevigata*, por acumulación de metales pesados en la sierra de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 65 p.
- Hernández-Plata, I., Rodríguez, V., Tovar-Sánchez, E., Carrizalez, L., Villalobos, P., Mendoza-Trejo, M. y Mussali-Galante, P. (2020). Metal brain bioaccumulation and neurobehavioral effects on the wild rodent *Liomys irroratus* inhabiting mine tailing areas. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Hoffmann, A., y P. Dabron. (2007). Towards genetic markers in animal populations as biomonitors for human-induced environmental change. *Ecology Letters*, 10, 63-76.
- Huster, D., Finegold, M. J., Morgan, C. T., Burkhead, J. L., Nixon, R., Vanderwerf, S. M. y Lutsenko, S. (2006). Consequences of copper accumulation in the livers of the *Atp7b*^{-/-} (Wilson disease gene) knockout mice. *The American journal of pathology*, 168(2), 423-434.
- Ieradi, L., Zima J., Allegra F., Kotlanova E., Campanella L., Grossi R. y Cristaldi M. (2003). Evaluation of genotoxic damage in wild rodents from a polluted area in the Czech Republic. *Folia Zool.*, 52, 57-66.
- Jaishankar, M., T. Tseten, N. Anbalagan, B. Mathew, y K. Beeregowda. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7, 60-72.

- Kim, R.Y., Yoon, J. K., Kim, T.S., Yang, J., Owens, G., y Kim, K. R. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation- a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 37, 1041-61.
- Kumar, A., Prasad, M. y Sytar, O. (2012). Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in *Talinum triangulare* grown hydroponically. *Chemosphere*, 89, 1056-1065.
- Learita, L. (2015). Una estrategia para la rehabilitación de las presas de jales abandonadas en el municipio de Zimapán, Hidalgo. Tesis de Maestría. Instituto Politecnico Nacional. 124 p.
- León, G., Perez L., Linares J., Hartmann A. y Quintana M. (2007). Genotoxic effects in wild rodents (*Rattus rattus* and *Mus musculus*) in an open coal mining area. *Mutation Research*, 630, 42-49.
- Leonard, S., Bower J., y Shi, X. (2004). Metal-induced toxicity, carcinogenesis, mechanisms and cellular responses. *Mol. Cell. Biochem*, 255, 3-10.
- Link, S., Kensler, J. y Groopman J. (1995) Biomarkers and mechanistic approaches in environmental epidemiology. *Ann. Rev. Publ. Health*, 16, 83-103.
- Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T. y Muños-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145-153.
- López-Hernández, J., López, R., Trujillo, S., Méndez, A., García-Suarez, D. Serrano, H., et al. (2015). La exposición a bajas dosis de plomo en ratones CD-1 altera las actividades de las colinesterasas en órganos reproductores. *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ.*, 12, 69-82.
- Mares, M. y Ernest, k. (1995). Population and community ecology of small mammals in a gallery forest of central Brazil. *Journal of Mammalogy*. 76, 750-768.
- Martínez-Becerril, C. (2009). Efecto de los metales pesados en jales mineros sobre la comunidad vegetal de la microcuenca Huautla y el daño genotóxico en su herbívoro dominante *Peromyscus levipes* (Rodentia: Muridae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. México. 86 p.
- Martínez, D. y Chamorro G. (2004). Toxicología reproductiva ambiental. En: *Toxicología ambiental*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México. 131-146 p.

- Martínez-Pacheco, M. (2008). Evaluación de los efectos genotóxicos de metales presentes en el agua de bebida de la población de Huautla, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 77 p.
- Mastache, E., Fernández, A., y Abalde, S. (2005). Linfocitos T y B. Clasificación. Receptores. Generación de diversidad: mecanismos moleculares. Capacidades funcionales. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 9(33), 2162-2173.
- Mason, R. E. (2005). Efectos de la perturbación del hábitat y la estacionalidad climática en la dieta del ratón espinoso mexicano *Liomys irroratus* (Gray, 1868) en una selva seca del sur del estado de Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 133 p.
- Medel-Reyes, A., Ramos-Gómez, S., Avelar-González, F., Mora-Tovar, L., y Rodríguez-Valadez, F. (2008). Caracterización de Jales Mineros y evaluación de su peligrosidad con base en su potencial de lixiviación. *Conciencia Tecnológica*, (35), 32-35.
- Medina, M., J. Correa, y C. Barata. (2007). Micro-evolution due to pollution: Possible consequences for ecosystem responses to toxic stress. *Chemosphere*, 67, 2105-2114.
- Mejía, J., Carrizales, L., Rodríguez, V., Jiménez, M. y Díaz, F. (1999). Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas mineras. *Salud Pública de México*, 41, 132-140.
- Morán, A. J. (1994). Estudio poblacional de *Liomys irroratus torridus* (Rodentia: Heteromidae) en dos áreas con diferente grado de alteración al sur de Morelos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 60 p.
- Mugford, C.A. y Kedderis G.L. (1998). Sex dependent metabolism of xenobiotics. *Drug. Metab. Rev.*, 30, 441–498.
- Murillo, A. (2015). Detección de daño genotóxico en *Prosopis laevigata* de los jales de la Sierra de Huautla, Morelos, México provocado por metales pesados. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Mussali-Galante, P. 2008. Estudio sobre la Inducción de daño al ADN en sangre periférica de individuos expuestos a metales en el agua de bebida, en la población de Huautla, Morelos. Tesis de Maestría (Biología Experimental). Universidad Nacional Autónoma de México. México. 74 p.
- Mussali-Galante, P. (2001). ¿Es la técnica de electroforesis unicelular (ensayo cometa) capaz de predecir el efecto de fármacos antineoplásicos? Estudio inicial sobre la inducción de daño al ADN de sustancias antineoplásicas con mecanismos de acción conocidos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 113 p.
- Mussali-Galante P. (2013). Análisis de poblaciones de *Peromyscus* sp. (Rodendia: Muridae) asociadas a jales dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Morelos, México: enfoque ecotoxicogénomico. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F. México. 192 p.
- Mussali-Galante, P., Tovar-Sánchez, E., Valverde, M. y Rojas, E. (2013a). Genética structure and diversity of animal populations exposed to metal pollution. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 227, 79.
- Mussali-Galante P., Tovar-Sánchez E., Valverde M., Valencia-Cuevas L. y Rojas E. (2013b). Evidence of population genetic effects in *Peromyscus melanophrys* chronically exposed to mine tailings in Morelos, Mexico. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 7666-7679.
- Mussali-Galante P., Tovar-Sánchez E., Valverde M., Valencia-Cuevas L. y Rojas E. (2013c). Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 29(1), 117-140.
- Mussali-Galante P., E. Tovar-Sánchez, M. Valverde, y E. Rojas. (2014). Genetic structure and diversity of animal populations exposed to metal pollution. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 227, 79106.
- Nava-Ruiz, C., Méndez-Armenta, M., y Ríos Castañeda, C. (2012). Efecto del plomo sobre aprendizaje y memoria de ratas adultas, en un modelo subagudo. *Archivos de Neurociencias*, 17(2), 89-95.

- Noriega, B., Lara, E., Serafín A., Gutiérrez, N. y Ávila, M. (2016). Caracterización fisicoquímica de residuos mineros y evaluación de su peligrosidad. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 3(2), 175-183.
- NRC. (1987). Committee on biological markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. *Environmental Health Perspectives*, 74, 3-9.
- Olaniran, A.O., Balgobind, A., Pillay, B. (2013). Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *Int. J. Mol. Sci.*, 14(5), 10197–10228.
- Pareja-Cadena, J. (2014). Biomarcadores de estrés oxidativo en ciervas: efecto de la edad e interacciones con elementos esenciales. Tesis de Maestría. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos. Universidad de Castilla. La Mancha. 35 p.
- Prá, D., Franke, S. I., Giulian, R., Yoneama, M. L., Dias, J. F., Erdtmann, B., y Henriques, J. A. (2008). Genotoxicity and mutagenicity of iron and copper in mice. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 21(3), 289–297.
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C. y Campos, A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada*, 5, 149-155.
- Ponnapakkam, T.P., Bailey, K.S., Graves, K.A., Iszard, M.B. (2003). Assessment of male reproductive system in the CD-1 mice following oral manganese exposure. *Reprod. Toxicol*, 17, 547-51.
- Posada, M. y Arroyave, M. (2006). Efectos del mercurio sobre algunas plantas acuáticas tropicales. *Revista EIA*, 6, 57-67.
- Prieto, M., González, C., Román, A. y Prieto, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10, 29-44.
- Qian Y, Castranova V, Shi X. (2003). New perspectives in arsenic-induced cell signal transduction. *J Inorganic Biochem.*, 96, 271-278.
- Ramírez-Sánchez, A. (2017). Evaluación del potencial fitorremediativo para el

- control de la exposición al plomo y otros metales y restauración ambiental en Haina, República Dominicana. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. España. 245 p.
- Rivas, A. E. (2006). Dieta de *Baiomys musculus* (Merriam, 1892) en la Sierra de Huautla y su relación con la perturbación y la estacionalidad. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 102 p.
- Rodríguez, J. y Rodeiro, I. (2014). El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos. *Revista Cubana de Farmacia*, 48(3), 495-507.
- Romero, F., Armienta, M., Gutiérrez, M. y Villaseñor, G. (2008). Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros. *Revista de Contaminación Ambiental*, 24, 4354.
- Rosas-Ramírez, M. E. Relación entre la bioacumulación de metales pesados y la concentración de clorofila en *Sanvitalia procumbens*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 68 p.
- San José, A. M. (2013). Respuesta de los roedores a la pérdida y fragmentación del hábitat: un enfoque paisajístico en la selva Lacandona, Chiapas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 54 p.
- Sánchez, O. y López, G. (1988). A theoretical analysis of some indices of similarity as applied to biogeography. *Folia Entomol. Mex.* 75,119-145.
- Santana-Flores, D. A. (2020). Búsqueda de biomarcadores para conocer la salud de roedores silvestres expuestos a metales pesados. Tesis de Maestría. Maestría en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Santos-Moreno, A. y Santiago-Marcial, A. (2012). Área de actividad y movimientos de *Liomys irroratus* (Rodentia: Heteromyidae) en una selva mediana de Tuxtepec, Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(2), 496-502.
- Santoyo-Martínez, M. (2016). Bioacumulación, daño genotóxico y cambios en la morfología foliar de *Acacia farnesiana* en los jales de Huautla, Morelos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 71 p.
- Santoyo, J., Montesinos, J., Barbosa, R., García, S., et al. (2014). El Citocromo P-450. *Rev. Hosp. Jua. Mex.*, 81(4), 250-6.

- Sarmiento-Pérez, J. C. (2017). Caracterización y comparación morfogeométrica en *Heteromys* (Rodentia: Heteromyidae) de México y Centroamérica. Tesis de Maestría. Colegio de la Frontera Sur. 53 p.
- Scanlon, S. E., Scanlon, C. D., Hegan, D. C., Sulkowski P. L. y Glazer. P. M. (2017). Nickel induces transcriptional down-regulation of DNA repair pathways in tumorigenic and non-tumorigenic lung cells. *Carcinogenesis*, 38, 627-637.
- SE. Secretaria de Economía. (2014). Panorama Minero del Estado de Morelos. Servicio Geológico Mexicano.
- SE. Secretaria de Economía. Subsecretaria de Minería. (2017). Prontuario Industria Minero-Metalúrgica. México. Internet. Consultado mayo 2018.
- SEMARNAT. (2004). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Dirección general del centro nacional de investigación y capacitación ambiental. Dirección de Investigación en Residuos y Proyectos Regionales Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Etapa I.
- SEMARNAT. (2005). Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Dirección de investigación en residuos y sitios contaminados. Subdirección de investigación en sitios contaminados y sustancias toxicas. Informe anual de actividades. Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Etapa II.
- SGM. Servicio Geológico Mexicano. (2019). Anuario Estadístico de la Minería Mexicana, 2018. México. Internet. Consultado diciembre 2019.
- Solis-Miranda, B. (2016). Aislamiento de bacterias de jales mineros y análisis de su potencial para la remediación de sitios contaminados con metales pesados. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos. 147 p.
- Southwood, T.R.E. (1978). Ecological methods, Chapman & Hall. London, England. 524 p.
- Sumbera, R., Barus V. y Tenora F. (2003). Heavy metals in the silvery mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus* (Bathyergidae, Rodentia) from Malawi. *Folia Zool.*, 52, 149–153.

- Sumbera, R., Burda H. y Chitaukali W. (2003a). Reproductive biology of a solitary subterranean Bathyergid Rodent, the Silvery Mole - Rat (*Heliophobius argenteocinereus*). *Journal of Mammalogy*, 84(1), 278 – 28.
- Tanzarella, C., Degrassi F., Cristaldi M., Moreno S., Lascialfari A., Chiuchiarelli G. y Ileradi L. (2001). Genotoxic damage in free-living Algerian mouse (*Mus spretus*) after the Coto Doñana ecological disaster. *Environmental Pollution*, 115, 43-48.
- Torres, I., Arrizabalaga, A., y Díaz, M. (2002). Ratón de campo (*Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758). *Galemys*, 14(2), 1-26.
- Tovar-Sánchez, E., Cervantes, L. T., Martínez, C., Rojas, E., Valverde, M., Ortiz-Hernández, M.L. y Mussali-Galante, P. (2012). Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental contamination by mine tailings. *Environmental Science and Pollution Research*, 19, 1677-1686.
- Tzab, L. A. y Macswiney M. C. (2014). Roedores ¿plagas indeseables o animales útiles? CONABIO. *Biodiversitas*, 115, 12-16.
- Urviola, G. y Fernández, J. (2017). Factores moduladores de la estacionalidad reproductiva en ungulados. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(3), 319-336.
- Valko M, Rhodes C., Momcol J., Izakovic M. y Mazura M. (2016). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cáncer. *Chem-Biol Interact.*, 160, 1-40.
- Vanden-Heuvel, J. y Davis J. (1999). Molecular approaches to identify exposure and risk to specific environmental pollutants. *Biomarkers*, 4, 93-105.
- Vargas, V., Valenzuela-Galván, D. y Alcalá, R.E. (2012). Is genetic structure of the southern pygmy mouse *Baiomys musculus* (Cricetidae) related to human-induced spatial landscape heterogeneity in a tropical dry forest?. *Genetica*, 140, 287–295.
- Vega, R., Vázquez-Domínguez, E., White, T.A. et al. (2016). Population genomics applications for conservation: the case of the tropical dry forest dweller *Peromyscus melanophrys*. *Conserv. Genet.*, 18, 313–326.

- Velasco, J., D. De la Rosa, G. Solórzano, y T. Volke. (2004). Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. SEMARNAT-INE. México. 36 p.
- Veloso, C. y Bozinovic, F. (2000). Effect of food quality on the energetics of reproduction in a precocial rodent, *Octodon degus*. *Journal of Mammalogy*, 81 (4), 971-978.
- Vergara-García, A. P. (2014). Evaluación del efecto genotóxico y la susceptibilidad individual por exposición a plomo ambiental en la vereda La Bonga, Atlántico, Colombia. Tesis de Maestría. Facultad de medicina. Universidad Nacional de Colombia. 71 p.
- Vivas, J. A. (2008). Toxicología Veterinaria. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Agraria. Managua, Nicaragua. 114 p.
- Volke, T., Velasco, J. y De la Rosa, D. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. SEMARNAT. México.
- Volke, T. y Velasco J. (2004). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología (INE). México. 64p.
- Waalkers, M. P., Fox, D. A., States, J. C., Patierno, S. R. y McCabe M. J. (2000). Metals and disorders of cell accumulation: Modulation of apoptosis and cell proliferation. *Toxicological Sciences*, 56, 255-261.
- Warwick, R.M., Clarke, K.R. y Suharsono. (1990). A statistical analysis of coral community responses to the 1982-1983 El Niño in the Thousand Islands, Indonesia. *Coral Reefs*, 8, 171-179.
- Williams, M. (2003). Observaciones preliminares sobre comportamiento prenatal y postnatal de *Rattus rattus* var. *norvegicus* (Linneo, 1758) en el laboratorio. *Ecología Aplicada*, 2(1), 143-148.
- Zarrintab, M. y Mirzaei R. (2017). Evaluation of some factors influencing on variability in bioaccumulation of heavy metals in rodents species: *Rombomys opimus* and *Rattus norvegicus* from central Iran. *Chemosphere*, 169, 194-203.
- Zawai, N.H., Crumpton, T., Brydie, M., Reddy, G.R., Razmiafshari, M. (2000). Disruption of the Zinc Finger Domain: A common target that underlies many of the the effects of lead. *Neurotoxicology*, 21, 1069-1080.

