Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Química

“ALTERACIONES OXIDATIVAS, CONDUCTUALES Y CELULARES EN PECES JUVENILES DE *CYPRINUS CARPIO* POR EFLUENTES DE LA PRESA VILLA VICTORIA”

Tesis para obtener el grado de Doctora en Ciencias y Tecnología Farmacéuticas

P R E S E N T A

M. en C y T. F. Paulina Tenorio Chávez

DIRECTORES:

Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván

Dra. Hariz Islas Flores

Dra. María Dolores Hernández Navarro

Toluca de Lerdo, Estado de México, 2026.

Dedicatoria

A mis dos ángeles en el cielo, los extraño cada día.

Agradecimientos

Agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo económico brindado a través de la beca otorgada durante mis estudios de posgrado, la cual hizo posible el desarrollo de esta investigación.

A la Facultad de Química, por mi formación académica y por proporcionar los recursos e infraestructura necesarios para la realización de este trabajo.

Al Laboratorio de Toxicología Ambiental y al Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Química, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de las actividades experimentales, así como por el apoyo técnico recibido durante la investigación.

A la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), por permitirme realizar parte del trabajo experimental en sus instalaciones y por la orientación académica brindada a lo largo de este proyecto.

A mis directores de tesis, por su guía, confianza, dedicación y valiosas enseñanzas, las cuales fueron fundamentales para la realización y culminación de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, por su apoyo, colaboración, intercambio de conocimientos y por hacer de esta etapa una experiencia enriquecedora tanto en lo académico como en lo personal.

Finalmente, agradezco profundamente a mi familia por su amor incondicional, comprensión, paciencia y apoyo constante durante cada etapa de mi formación. Su confianza y aliento fueron una fuente de motivación indispensable para alcanzar esta meta.

Índice

Índice de figuras *vi*

Índice de tablas *vii*

Resumen *1*

Abstract *3*

1. Introducción *5*

2. Antecedentes *7*

2.1 Contaminantes emergentes **8**

2.2. Estudios en cuerpos de agua **9**

2.3 Presa de Villa Victoria **10**

2.4 Importancia del embalse Villa Victoria **11**

2.5 Contaminación de la Presa **12**

2.6 Estudios previos en el embalse Villa Victoria **13**

2.7 Estudios de toxicidad **14**

2.8 Biomarcadores **15**

2.9 Bioindicadores **16**

2.10 Estrés oxidativo **16**

2.11 Daño histológico **17**

2.12 Alteraciones en la expresión génica **17**

3. Planteamiento del problema *18*

4. Justificación *19*

5. Hipótesis *20*

6. Objetivo general *20*

7. Objetivos específicos *20*

8. Metodología *21*

8.1 Muestreo en la presa Villa Victoria. **21**

8.2 Análisis fisicoquímico del agua. **24**

8.3 Cuantificación de metales **25**

8.4 Cuantificación de pesticidas. **26**

8.5 Determinación de la presencia de fármacos **27**

8.6 Mantenimiento de los organismos **29**

8.7 Exposición de los organismos y obtención de muestras **30**

8.8 Pruebas de comportamiento **30**
8.8.1 Prueba de Novel Tank 30
8.8.2 Prueba de luz/oscuridad 31
8.9 Evaluación de biomarcadores de estrés oxidativo **31**
8.10 Prueba de micronúcleos. **32**
8.11 Daño histológico **32**
8.12 Análisis de la expresión génica **33**
8.13 Análisis estadístico. **35**
9. Resultados ***35***
9.1 Análisis fisicoquímico del agua. **35**
9.2. Cuantificación de contaminantes **37**
9.3. Pruebas de estrés oxidativo **42**
9.4. Histología **42**
9.5 Micronúcleos **47**
9.6 Pruebas de conducta **49**
9.6.1 Novel Tank 49
9.6.2 Prueba Dark & Light 49
9.7 Expresión génica **52**
10. Discusión ***53***
11. Conclusiones ***86***
12. Referencias ***88***

Índice de figuras

Figura 1. Vista del embalse de Villa Victoria y el uso del suelo circundante. 13
Figura 2. Sitios de muestreo en la presa Villa Victoria. 24
Figura 3. Contaminantes presentes en cada sitio de la PVV. 40
Figura 4. Resultados de las pruebas de estrés oxidativo. 41
Figura 5. Tejido hepático..... 44
Figura 6. Tejido branquial. 44
Figura 7. Tejido cerebral. 45
Figura 8. Micronúcleos. 47
Figura 9. Prueba Novel Tank. 48
Figura 10. Prueba Dark & light. 50
Figura 11. Novel Tank, gráficos representativos de la trayectoria de los peces..... 50
Figura 12. *Patrones de expresión génica de cada uno de los genes analizados en los órganos branquias, cerebro e hígado por sitio.* 51
Figura 13. Mecanismo de estrés oxidativo en peces expuestos a contaminantes. 63
Figura 14. Mecanismo de genotoxicidad y formación de micronúcleos por exposición a contaminantes presentes en la PVV. 77
Figura 15. Mecanismo de toxicidad de estrés oxidativo. 84
Figura 16. Mecanismo de toxicidad de los contaminantes sobre los canales de calcio. 85
Figura 17*. Mecanismo de neurotoxicidad de los contaminantes de la PVV.* 86

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de los sitios de muestreo. 21
Tabla 2. Parámetros de validación del método para la determinación de metales. 25
Tabla 3. Parámetros de validación del método para la determinación de pesticidas. 26
Tabla 4. Parámetros de validación del método para la determinación de fármacos. 28
Tabla 5. Secuencias de primers utilizadas para la evaluación de la expresión génica. 34
Tabla 6. Resultados del análisis fisicoquímico del agua de la PVV por sitio. 35
Tabla 7. Contaminantes y sus concentraciones en cada sitio de muestreo de la PVV. 38
Tabla 8. Frecuencia de las alteraciones histopatológicas presentadas por cada sitio. 46
Tabla 9. Células MN por sitio, $p < 0.05$. 47

Resumen

La Presa Villa Victoria (PVV) es uno de los cuerpos de agua más importantes del centro de México, siendo parte del Sistema Cutzamala, que abastece de agua potable a la población de Ciudad de México. A pesar de su importancia, existen muy pocos estudios ecotoxicológicos en este cuerpo de agua. Además, en él se cultivan especies de peces con fines alimentarios, entre ellos *Cyprinus carpio*, que se siembra en el embalse en su etapa juvenil. En este estudio se realizó el análisis de la calidad del agua y la cuantificación de 5 metales, 4 pesticidas y 14 fármacos en seis sitios de la presa. Para la evaluación ecotoxicológica se expusieron organismos juveniles de *Cyprinus carpio*, especie presente en el embalse y de importancia alimentaria local. Para las pruebas de estrés oxidativo se evaluaron los siguientes biomarcadores, concentración de lipoperóxidos (LPX), hidroperóxidos (HPX) y proteínas carboniladas (POX) y la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) en sangre, hígado, branquias y cerebro de los peces expuestos. En el examen histopatológico se observó la presencia y tipo de lesiones en tejido de hígado, branquias y cerebro. El daño genotóxico en células sanguíneas se evaluó mediante el ensayo de micronúcleos (MN). Se llevaron a cabo las pruebas de comportamiento Novel Tank (NT) y Dark & Light. También se realizó la determinación de patrones de expresión génica de genes relacionados con la sinapsis como los receptores de adenosina A1 y A2a, la enzima acetilcolinesterasa y los canales de calcio IP3R y RYR; en genes de la vía apoptótica *p53* y *bcl2* y en el gen *mt2*, relacionado con la desintoxicación de metales pesados. En los resultados de las pruebas de estrés oxidativo se presentó aumento significativo de LPX en todos los sitios e HPX en los sitios 1-5, así como aumento en la actividad de SOD y CAT en todos los sitios, con respecto al grupo control ($p < 0.05$), lo anterior en los 4 órganos evaluados. Por otro lado, la frecuencia de células micronucleadas aumentó de manera significativa en los sitios 1-5, siendo más marcada en el sitio 2. En los resultados del análisis histopatológico se observaron diversas lesiones y daño histológico en hígado, branquias y cerebro de las carpas

expuestas al agua de todos los sitios de la PVV. En las pruebas de comportamiento se presentaron cambios estadísticamente significativos en el parámetro de freezing en ambas pruebas, en el sitio 4. Finalmente, en el análisis de la expresión génica los resultados fueron que los genes receptor de adenosina tipo A1, receptor de adenosina de tipo A2a, bcl2 y mt2 se sobreexpresaron, mientras que p53, ip3r, ryr y ache se subexpresaron. Las variaciones en la gravedad de los efectos sobre los organismos en cada uno de los sitios indican que existe una heterogeneidad en la capacidad de generar toxicidad del efluente, por lo que estos biomarcadores pueden ayudar a priorizar zonas de mayor impacto biológico dentro del sistema de muestreo. Al ser *C. carpio* una especie que habita el cuerpo de agua, es importante considerar medidas de saneamiento de la presa para mantener las poblaciones de peces existentes.

Abstract

The Villa Victoria Dam (PVV) is one of the most important bodies of water in central Mexico and is part of the Cutzamala System, which supplies drinking water to the population of Mexico City. Despite its importance, very few ecotoxicological studies have been conducted on this body of water. Furthermore, fish species are farmed there for food, including *Cyprinus carpio*, which is introduced into the reservoir in its juvenile stage. This study analyzed water quality and quantified five metals, four pesticides, and fourteen pharmaceuticals at six sites in the dam. Juvenile *Cyprinus carpio* were used in the ecotoxicological assessment due to their presence in the reservoir and their importance as a food source for humans. For oxidative stress testing, the following biomarkers were evaluated: concentrations of lipid peroxides (LPX), hydroperoxides (HPX), and carbonylated proteins (POX), and the activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in the blood, liver, gills, and brain of exposed fish. Histopathological examination assessed the presence and type of lesions in liver, gill, and brain tissue. Genotoxic damage in blood cells was evaluated using the micronucleus (MN) assay. Novel Tank (NT) and Dark & Light behavioral tests were performed. Gene expression patterns of synapse-related genes, such as adenosine A1 and A2a receptors, acetylcholinesterase, and IP3R and RYR calcium channels, gene expression patterns were also determined for genes of the apoptotic pathway p53 and bcl2 and the mt2 gene, related to heavy metal detoxification. Oxidative stress test results showed a significant increase in LPX at all sites and HPX at sites 1-5, as well as an increase in SOD and CAT activity at all sites compared to the control group ($p < 0.05$), in all four organs evaluated. Furthermore, the frequency of micronucleated cells increased significantly at sites 1-5, most evident at site 2. Histopathological analysis revealed various lesions and histological damage in the liver, gills, and brain of carp exposed to water at all PVV sites. In the behavioral tests, statistically significant changes in the freezing parameter were observed in both tests at site 4. Finally, in the gene expression analysis, the results showed that the adenosine receptor A1, adenosine receptor A2a, bcl2, and mt2 genes were overexpressed, while p53, ip3r, ryr, and ache were

underexpressed. The variations in the severity of the effects on the organisms at each site indicate heterogeneity in the toxic potential of the effluents. Therefore, these biomarkers can help prioritize areas of greater biological impact within the sampling system. Since *C. carpio* is a species that inhabits the water body, it is important to consider dam sanitation measures to maintain existing fish populations.

1. Introducción

La presa Villa Victoria está localizada al oeste del Estado de México, se encuentra rodeada tanto de zonas semiurbanas como rurales, por lo que los contaminantes presentes en este cuerpo de agua provienen de la agricultura y de las descargas de aguas residuales municipales, principalmente. La zona norte del municipio corresponde con el área agrícola y rural, por lo que es esperado que en los sitios cercanos a ésta se encuentren contaminantes como pesticidas; los cuales llegan por escorrentía de las tierras de cultivo aledañas a la presa y por los ríos que desembocan en esta. Por otro lado, en el sur del cuerpo de agua se encuentra la zona de descarga de aguas residuales de las tres comunidades más habitadas, en los sitios cercanos se encuentra una mayor concentración de compuestos farmacéuticos, que llegan con las aguas residuales domésticas que se descargan en el embalse sin un tratamiento previo.

La compleja mezcla de xenobióticos en el agua de la presa representa un reto para las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), las cuales actualmente no están diseñadas para la eliminación de este tipo de compuestos. Además, en la PVV no hay plantas tratadoras en funcionamiento, sino que el agua se potabiliza posteriormente en la planta tratadora Los Berros, una vez que se ha extraído de la presa. Esto es relevante, ya que la PVV forma parte de uno de los sistemas de abastecimiento de agua potable más importantes del centro del país, el Sistema Cutzamala, el cual abastece a una cuarta parte de los habitantes de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), por lo que es importante tomar medidas para la eliminación de compuestos contaminantes que pudieran afectar también la salud humana.

Sin embargo, la legislación actual no contempla límites máximos establecidos para los denominados contaminantes emergentes (CE), entre los que se encuentran productos farmacéuticos, pinturas, productos de cuidado personal, pesticidas, entre otros. En estudios ecotoxicológicos algunos de los CE presentes en los efluentes de la PVV se encuentran dentro de límites normativos o carecen de regulación

específica; no obstante, la mezcla puede producir efectos biológicos adversos, se ha reportado que pueden causar efectos adversos en organismos acuáticos, tanto en estudios individuales como en mezclas.

Los grupos de compuestos contaminantes presentes en la presa pertenecen a tres grupos generales: metales, pesticidas y fármacos. Se han reportado efectos adversos por la exposición de organismos acuáticos a este tipo de compuestos, en el rango de concentraciones en las que se encuentran en la PVV, entre los que se encuentran: a) estrés oxidativo, debido a la formación de EROs (especies reactivas de oxígeno) formadas durante el metabolismo de estos; b) efectos genotóxicos, como la fragmentación del ADN, la cual se puede evaluar mediante el ensayo de micronúcleos; c) daño histológico en órganos diana como hígado, branquias y cerebro; d) cambios en la expresión génica debido a estrés celular y desregulación de la homeostasis y e) cambios en el comportamiento por la intervención de compuestos contaminantes en el proceso de sinapsis y por los efectos neurotóxicos de algunos de estos.

Debido a la importancia de este cuerpo de agua el objetivo de este trabajo es evaluar la calidad del agua de la PVV y evaluar la toxicidad de sus efluentes, mediante biomarcadores de estrés oxidativo, genotoxicidad, histopatológicos, etológicos y expresión génica, en la especie nativa de la presa, *Cyprinus carpio*, con el fin de obtener información que aporte nuevos conocimientos sobre la presencia de contaminantes emergentes y su impacto en este ecosistema. Para ello los estudios de toxicidad en peces son uno de los métodos más efectivos para comprender los efectos de los contaminantes en los sistemas acuáticos, debido a que los peces desempeñan un papel importante en las cadenas alimentarias y son una importante fuente de alimento para los seres humanos. Específicamente el uso de *Cyprinus carpio*, una especie bioindicadora con presencia en la presa para fines comerciales, permitirá conocer los riesgos que implica la presencia de contaminantes como metales, pesticidas y fármacos para las poblaciones de peces que habitan el embalse.

Los resultados de este estudio podrían promover medidas de saneamiento dentro de la PVV, permitiendo conocer las necesidades específicas de cada uno de los sitios analizados, identificando las zonas y contaminantes prioritarios para su eliminación y la posibilidad de poner en marcha el proyecto de una PTAR dentro del embalse con el fin de mantener el equilibrio ecológico y las actividades económicas como la pesca en el embalse y finalmente, contribuir a la mejora en la calidad del agua potable que llega a la población humana en la ZMVM mediante el sistema Cutzamala. El objetivo de este proyecto fue evaluar los efectos oxidativos, conductuales y celulares en organismos juveniles de *Cyprinus carpio* después de una exposición aguda al agua de la Presa Villa Victoria. La hipótesis que se plantea es que el agua de la Presa Villa Victoria producirá alteraciones oxidativas, conductuales y celulares en organismos de *Cyprinus carpio*.

2. Antecedentes

La introducción de cualquier agente -sea éste de naturaleza química, física o biológica- al entorno natural es contaminación; la presencia de estas sustancias puede causar alteraciones sobre el medio y los organismos vivos. El impacto de los potenciales efectos de los contaminantes en el medio depende de factores como la concentración en la que se encuentra, el tipo de sustancia, la vía en la que ingresa y el medio al que se incorpora (Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, 2023).

Los estudios de contaminación en ambientes acuáticos son importantes debido a toda la actividad biológica que se desarrolla en ellos (Destrieux D., 2017). El agua es un medio que se contamina con facilidad por sus propias características, al ser una molécula polar puede formar enlaces de hidrógeno con otras; esto hace que los contaminantes se integren a los ambientes acuáticos (Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, 2023).

Algunas causas de contaminación del agua son las siguientes: vertido de desechos industriales y municipales sin tratamiento, deforestación, erosión del suelo, uso de

pesticidas y fertilizantes y depósitos de desechos sólidos (Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental, 2023).

Además de los contaminantes establecidos en la legislación, existen contaminantes como fármacos, productos de cuidado personal, productos químicos industriales, drogas, pesticidas, hormonas, entre otros, cuya presencia en los cuerpos de agua, incluso a bajas concentraciones, implica riesgos potenciales para los organismos que ahí habitan (Destrieux D., 2017). Aunado a los efectos tóxicos que estos compuestos causan de manera individual, se agregan aquellos causados por la interacción con otros compuestos, dichas interacciones pueden tener efectos sinérgicos o potenciadores, es importante realizar estudios a este nivel para comprender los posibles efectos de estas mezclas (Dehghani, 2019; Jiang, 2019).

2.1 Contaminantes emergentes

Recientemente ha incrementado el interés por un grupo de contaminantes, cuya presencia en el ambiente ha sido poco estudiada, a pesar de que sus concentraciones han incrementado, así como sus posibles efectos negativos sobre los organismos, debido a esto es de importancia realizar estudios que permitan reconocer la presencia de nuevos contaminantes y cuáles podrían ser sus efectos sobre el ambiente y los organismos vivos (Espinosa- García, 2021).

Los principales grupos de estos contaminantes son: productos farmacéuticos, detergentes, productos de aseo personal, pesticidas y productos químicos industriales. Ningún compuesto perteneciente a estos grupos es monitoreado cuando se evalúa la calidad y sanidad del agua. Una característica importante de este tipo de contaminantes es que no necesitan estar constantemente en el medio, ya que sus altas tasas de transformación y remoción se compensan con su continua introducción. Las vías en las que estos compuestos llegan a los ambientes acuáticos son aguas residuales -de origen doméstico e industrial-, de residuos de las plantas de tratamiento, de efluentes hospitalarios y de aguas negras producto de actividades agrícolas y ganaderas. Las plantas de tratamiento convencionales no

están diseñadas para eliminar este tipo de contaminantes debido a que su presencia en el ambiente no se encuentra regulada por la legislación actual (Gil, Soto, Usma, & Gutiérrez, 2012).

Se requieren estudios que demuestren los posibles efectos adversos que causan los contaminantes emergentes en el ambiente y los organismos para hacerlos candidatos a una futura regulación.

2.2. Estudios en cuerpos de agua

Los estudios en presas aún son limitados, sin embargo, la creciente preocupación por la calidad del agua en los cuerpos de agua alrededor del mundo y en nuestro país ha permitido que cada vez existan más estudios tanto de la calidad del agua como estudios ecotoxicológicos en peces y otros organismos acuáticos. Dichos estudios se han enfocado principalmente a ciertos grupos de contaminantes como los metales, pesticidas e hidrocarburos, debido a su toxicidad y los posibles riesgos que representan para la salud humana.

El consumo de metales pesados, entre ellos mercurio (Hg), cadmio (Cd) y plomo (Pb), a través de la alimentación con peces que habitan cuerpos de agua contaminados representa un riesgo para la salud humana. Un ejemplo de esto es el de los peces provenientes de las presas del municipio de Chihuahua, donde se obtuvieron muestras de músculo de tres especies de peces: Mojarra Verde (*Lepomis cyanellus*), bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) y mojarra azul (*Lepomis macrochirus*) de las presas Chuviscar, Chihuahua, El Rejón y San Marcos, donde las concentraciones de Cd y Hg tuvieron valores de 0.235 y 0.744 mg/kg de peso húmedo, respectivamente, la de plomo fue de 4.298 mg/kg de peso húmedo, superando el límite de 1 mg/kg de peso húmedo establecido por la regulación mexicana (Nevárez-Rodríguez et. al., 2013).

En otro estudio en la presa La Purísima, localizada en el municipio de Guanajuato,

evaluaron y caracterizaron la contaminación de la misma, analizaron hidrocarburos fracción media, hidrocarburos poliaromáticos, pesticidas organoclorados, metales y parámetros físicos y químicos, en ese estudio también analizaron dos biomarcadores (lipoperoxidación y acetilcolinesterasa) en tejidos de los peces *G. Atripinnis* Los resultados de ese estudio reportaron la presencia de hidrocarburos fracción media en un solo punto en los sedimentos a una concentración de 999 mg/kg, no hubo presencia de hidrocarburos poliaromáticos ni pesticidas organoclorados en el agua y sedimento de la presa. Los parámetros fuera de la normatividad mexicana en algunos puntos de muestreo fueron: pH, fósforo soluble, coliformes fecales y sustancias activas al azul de metileno y se encontraron concentraciones mayores a la normatividad de mercurio y selenio en el agua (5.0 0g/L y 10.6 0g/L respectivamente), y en sedimento mercurio y vanadio en las concentraciones 58.8 mg/kg y 182.1 mg/kg, respectivamente. En la evaluación de biomarcadores en tejidos de los peces no se encontraron diferencias significativas entre el agua del control y el agua de la presa. Por otro lado, todos los metales analizados en el músculo de tilapia fueron detectados, y las concentraciones de plomo rebasaron los límites máximos permisibles por la norma para pescado fresco-refrigerado (Rivera, 2011).

2.3 Presa de Villa Victoria

Fue inaugurada en 1944 por la Comisión Federal de Electricidad, fue construida con el propósito de fungir como parte del Sistema Hidroeléctrico Miguel Alemán. En 1982 inició operaciones de abasto de agua al Sistema Cutzamala (Red Mexicana de Cuencas, 2023).

Se localiza al oeste del Estado de México, en el municipio del que lleva el mismo nombre, pertenece a la Cuenca Villa Victoria- San José del Rincón, una de las seis subcuencas que abastecen de agua al Sistema Cutzamala (Red Mexicana de Cuencas, 2023). Se encuentra a una altitud de 2,544 msnm (Garcés Díaz, 2015).

Tiene una capacidad total de almacenamiento de 254 hm^3 y una capacidad útil de 186 hm^3 (Garcés Díaz, 2015), de acuerdo con la CONAGUA, en un año de

operación normal se extrae el 53% de su capacidad útil (Camacho Hernández, 2014). El almacenamiento de la presa se reduce en los meses de abril a agosto, debido al incremento en la extracción; es a partir de agosto que su almacenamiento crece, al incrementar la acumulación de escurrimientos (Acuña Soto, 2014). En cuanto a dimensiones, la profundidad máxima se alcanza a los 18 metros, su espacio de superficie llega a los 27.57 km^2 y su perímetro es de 60.9 km, siendo uno de los cuerpos de agua más grandes del Estado de México (Red Mexicana de Cuencas, 2023). El principal aporte de agua a la presa es el Río de la Compañía, por lo demás se alimenta de otros escurrimientos y manantiales de menor importancia (Garcés Díaz, 2015).

2.4 Importancia del embalse Villa Victoria

Este cuerpo de agua forma parte del Sistema Cutzamala, aportando a este un volumen de 4 m^3 por segundo para abastecer la zona Metropolitana del Valle de México (Garcés Díaz, 2015), siendo la segunda presa que más gasto aporta. Ya que abastece a un sistema de agua potable es de gran importancia conocer la calidad del agua (Camacho Hernández, 2014).

En la presa se encuentran diversas especies de peces, algunas nativas de la zona como el charal (*Chirostoma sp*) y la tilapia (*Oreochromis sp*) y otras introducidas con fines comerciales como la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*), la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la lobina negra (*Micropferus salmoides*) (Camacho Hernández, 2014). La pesca de consumo y comercial es muy común en la zona (Red Mexicana de Cuencas, 2023).

El embalse es importante en el ámbito socioeconómico del municipio, ya que se permite la pesca de autoconsumo y comercial, favoreciendo a la economía local; promueve el desarrollo turístico y actividades recreativas, como paseos en lancha, acceso a la pista de remo y canotaje y restaurantes locales.

2.5 Contaminación de la Presa

La calidad del agua del embalse se ha ido deteriorando por distintas causas, como el incremento en la deforestación en la zona, la expansión de terrenos para uso agrícola, incluyendo el uso de fertilizantes y pesticidas, el incremento de la actividad ganadera, el crecimiento de la población en la zona que, en su mayoría, no cuentan con un sistema de drenaje ni tratamiento de aguas residuales adecuado, además la población aledaña hace uso directo del embalse y sus ríos para servicios de aseo, dejando residuos de detergentes en el agua (Red Mexicana de Cuencas, 2023). El uso de los terrenos que rodean la presa se puede observar en la **Figura 1**.

Una de las principales causas de contaminación de la presa es el desecho de aguas residuales sin tratamiento, éstas llegan al embalse desde distintas fuentes, como el Río de la Compañía, el cual arrastra aguas residuales desde el municipio de San José del Rincón, así como la basura que se desecha directamente, la materia fecal de la actividad ganadera, entre otras (Garcés Díaz, 2015). El mismo municipio (Cabecera Municipal y cinco localidades más) descarga sus aguas residuales directamente en el embalse, debido a la falta de un servicio de alcantarillado adecuado, en todo el municipio únicamente 1,089 viviendas cuentan con servicio de drenaje, de éstas el 100% descarga sus aguas residuales sin tratar. No hay una planta de tratamiento en funciones, la que existe cuenta con una capacidad instalada de 22.5 L/s, pero nunca ha sido operada debido a la falta de colectores, como consecuencia, la planta potabilizadora Los Berros resulta insuficiente (Camacho Hernández, 2014).

La calidad del agua de la presa ha empeorado con el aumento de la actividad agrícola, los escurrimientos arrastran productos químicos utilizados en estas actividades, afectando los valores de pH, sólidos suspendidos totales, coliformes totales y fecales (Ramos Franco, 2013).

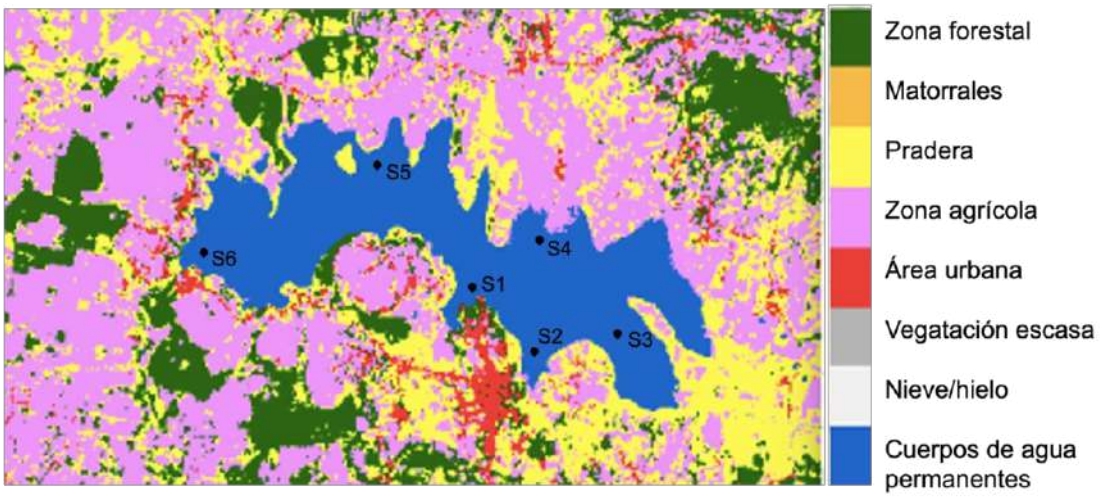


Figura 1. Vista del embalse de Villa Victoria y el uso del suelo circundante.

Fuente: Agencia Espacial Europea, Proyecto WorldCover.

2.6 Estudios previos en el embalse Villa Victoria

Se han realizado estudios de la calidad del agua de manera frecuente desde el año 2000, por CONAGUA. En estos estudios las muestras de agua se toman de tres profundidades diferentes: superficie, media agua en la zona eufótica y fondo (en las zonas poco profundas sólo se toman muestras en la superficie y el fondo). Los sitios elegidos para monitoreo han sido: Cortina, Centro Este y Centro Oeste dentro del embalse. En estos estudios los parámetros analizados son: pH, conductividad, turbiedad, alcalinidad, dureza, transparencia, DBO, DQO, NTK, nitrógeno orgánico, N- NH_4^+, nitratos, nitritos, fósforo total, PO_4 orto, grasas y aceites, detergentes, sólidos totales, STF, STV, SDT, SST, SSV, coliformes totales y coliformes fecales (Camacho Hernández, 2014).

En el estudio de Hernández (2024), se observó un aumento en la oxidación de lípidos y proteínas, efectos en la actividad enzimática de CAT, SOD y GPx en una exposición aguda de 24, 48, 72 y 96 horas a los mismos sitios de muestreo propuestos para este estudio, sobre embriones de C. carpio. Además, reportaron un bajo desarrollo embrionario de acuerdo con la puntuación de morfología general,

aunque el índice teratogénico fue menor a 1 observaron efectos teratogénicos como edema de vitelo, malformación de las aletas, malformación de la cabeza y escoliosis. También se presentó un aumento en la actividad de AChE y cambios en la distancia recorrida de la actividad locomotora basal y la tigmotaxis en los embriones (Hernández Díaz, y col., 2024)

En otro estudio, de Sánchez (2024), reportaron la presencia de metales pesados, diversos compuestos farmacéuticos y pesticidas en la presa Villa Victoria. Además, observaron elevación en la oxidación de lípidos, hidroperóxidos y proteínas, alteraciones en la actividad enzimática de la superóxido dismutasa y la catalasa en embriones de *Danio rerio* expuestos a agua de la presa. También con la puntuación de morfología general se demostró un desarrollo embrionario deficiente, se presentaron efectos teratogénicos como edema pericárdico, axial y esquelético. Además, reportaron una regulación positiva de los genes asociados con los procesos apoptóticos y la defensa antioxidante (Sánchez Aceves, y col., 2024).

Los estudios previos se enfocaron en etapas embrionarias, pero esta tesis evalúa juveniles de *C. carpio* con biomarcadores integrados oxidativos, genotóxicos, histopatológicos, conductuales y moleculares.

2.7 Estudios de toxicidad

En el ambiente, la toxicidad en los organismos es el resultado de la exposición a una mezcla de agentes tóxicos, es importante realizar estudios que aporten información sobre la toxicidad de estas mezclas (Martini, 2021).

El uso de biomarcadores, definidos como las mediciones de fluidos corporales, células, tejidos y parámetros de comportamiento, permite detectar la presencia de varios compuestos tóxicos (Livingstone, 1993). La identificación temprana de cambios en los organismos vivos, antes de que los efectos nocivos alcancen niveles superiores de organización es importante para determinar efectos ecológicos (Montserrat, Geracitano, & Bianchini, 2003)

En estos estudios se emplean organismos bioindicadores para evaluar la toxicidad de determinados compuestos. Por su parte, los estudios de toxicidad en peces son uno de los métodos más efectivos para comprender los efectos de los contaminantes en los sistemas acuáticos, ya que los peces desempeñan un papel importante en las cadenas alimentarias acuáticas, además de ser fuente de alimento para los seres humanos (Van der Oost, 2003).

La carpa común, *Cyprinus carpio*, es una especie bioindicadora, pertenece al grupo de ciprínidos, el más importante de peces teleósteos cultivados con fines comerciales, es una especie resistente y de fácil mantenimiento (Islas Flores, y otros, 2017).

2.8 Biomarcadores

Un biomarcador está definido como una variación bioquímica, celular fisiológica o conductual que se puede medir en muestras de tejidos, fluidos o a nivel de organismos completos, proporciona evidencia de exposición a uno o más contaminantes (Depledge, 1994).

Existen diferentes tipos de biomarcadores. Los cambios en el crecimiento, reproducción, alimentación y el comportamiento de los animales acuáticos tras la exposición a xenobióticos son biomarcadores fisiológicos. Los cambios en analitos, metabolitos y enzimáticos se clasifican como biomarcadores bioquímicos. Los biomarcadores celulares se centran en los cambios en las estructuras, funciones, morfología e integridad de la membrana celular. Por otro lado, están los biomarcadores oxidativos que se utilizan para evaluar la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y el estado de las defensas antioxidantes celulares. Mientras que los biomarcadores moleculares reflejan respuestas a nivel celular y molecular e incluyen el análisis de perfiles de expresión génica, síntesis de proteínas o daño en el ADN (Banaee et al., 2024).

2.9 Bioindicadores

Los bioindicadores se refieren a organismos que revelan la presencia de contaminantes en el medio ambiente mediante cambios medibles (Mothersill & Seymour, 2016). Para este estudio la especie bioindicadora seleccionada fue *Cyprinus carpio*, por su valor económico y ecológico en el embalse, así como por su consumo en la zona.

2.10 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo está definido como una situación de desequilibrio con un aumento de oxidantes o una disminución de antioxidantes; esto implica que en condiciones fisiológicas normales existe un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes. Sin embargo, este equilibrio es dinámico ya que los oxidantes son continuamente producidos durante la respiración y el metabolismo oxidativo, mientras que los antioxidantes se encuentran en relación con estos, en condiciones de estrés oxidativo los oxidantes aumentan o los antioxidantes disminuyen en forma progresiva y continua (Konigsberg, M. 2008).

El mantenimiento de la homeostasis redox es indispensable para la salud de los organismos, el cual se ve alterado por la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que es inducida tanto por factores internos como fagocitos, enzimas (ejemplo citocromo P450) y monooxigenasas; como por factores externos como agentes químicos. Las ROS dañan las macromoléculas celulares al unirse a ellas de forma covalente o irreversible. La formación de ROS puede revertirse con enzimas, llamadas enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) (Sahambi, 2006).

El estrés oxidativo causa la oxidación irreversible de las macromoléculas celulares como proteínas, lípidos y ADN, llevando a la inactivación de enzimas y finalmente a

la muerte celular. También interfiere en la expresión génica, ya que los factores de transcripción son sensibles a las reacciones redox, así como la transducción de señales por oxidación de tioles (Kovacic, 2001).

2.11 Daño histológico

Los biomarcadores histopatológicos representan lesiones tisulares que ocurren en respuesta al contacto previo o actual del organismo con uno o más contaminantes (McCarty & Munkittrick, 1996). El uso de técnicas histopatológicas permite examinar órganos y células específicos para evaluar los efectos en estos por la exposición a sustancias químicas ambientales. La exposición a concentraciones subletales de contaminantes puede provocar alteraciones en la estructura histológica, potencialmente alterando la función de los tejidos y órganos, los cambios histológicos pueden proporcionar buenos biomarcadores del estrés contaminante, además, la histopatología permite detectar cambios tanto agudos como crónicos en los tejidos y órganos de organismos individuales (Salamat & Zarie, 2012).

2.12 Alteraciones en la expresión génica

Los cambios en la expresión génica son la respuesta inicial con respecto a las investigaciones toxicológicas, lo cual es una ventaja porque permite una mayor sensibilidad, detección temprana y medición de los efectos tóxicos en concentraciones más relevantes para el medio (Aardema & MacGregor, 2002; Waters & Fostel, 2004).

La exposición a contaminantes puede implicar una respuesta en la cascada de interacciones genéticas en lugar de un cambio en un solo gen (Aardema y MacGregor, 2002). Debido a que los perfiles de expresión están más estrechamente vinculados al mecanismo de acción tóxico que a la estructura química, se pueden

descubrir modos de acción tóxica para compuestos desconocidos (Bartosiewicz, Penn, & Buckpitt, 2001; Hamadeh, Bushel, Paules, & Afshari, 2001).

3. Planteamiento del problema

Los cuerpos de agua en México y en el mundo están contaminados por aguas residuales que se descargan sin previo tratamiento, productos de la agricultura y por actividades humanas que se desarrollan en ellos, llevando al ambiente una mezcla compleja de xenobióticos. La presencia de dichos contaminantes, tanto de manera individual, como en interacción con otros compuestos, en el agua es causante de efectos adversos sobre los organismos vivos, ocasionando efectos en el ecosistema como desequilibrios ecológicos, disminución de poblaciones, entre otros efectos que no han sido suficientemente estudiados.

En el caso particular de la Presa Villa Victoria, la contaminación de este cuerpo de agua no ha sido monitoreada y existen escasos estudios ecotoxicológicos de este embalse, a pesar de la relevancia ecológica, económica e incluso sobre la salud humana que tiene. Los xenobióticos presentes en la presa son del grupo de los denominados contaminantes emergentes, los cuales no están establecidos en la legislación, entre ellos se encuentran metales, pesticidas y compuestos farmacéuticos que llegan a la presa a través de la escorrentía de los cultivos aledaños, las actividades humanas que se llevan a cabo dentro de la misma y por las aguas residuales municipales que son descargadas directamente sin tratamiento previo.

En este cuerpo de agua, como en otros de su tipo, habitan distintas especies de peces que son de interés comercial, entre estos se encuentra *Cyprinus carpio*, la principal especie cultivada en su etapa juvenil para la pesca de consumo local de la zona. Los efectos xenobióticos en el agua sobre las poblaciones de este organismo podrían afectar tanto el ecosistema como las actividades económicas de la población, además de presentar un potencial riesgo para las personas que consumen peces expuestos a compuestos contaminantes.

En la presa no hay plantas de tratamiento en funcionamiento, por lo que el agua de la presa se incorpora al Sistema Cutzamala sin tratamiento previo, es después de que se colecta el agua de todas las presas que componen el sistema que se hace un proceso de tratamiento que no es específico para las características de cada uno de los embalses, comprometiendo la calidad del agua que reciben los habitantes de la Ciudad de México que se abastecen de esta agua.

4. Justificación

La contaminación de los ambientes acuáticos es de interés debido a toda la actividad biológica que se desarrolla en ellos. Específicamente el agua de la Presa Villa Victoria, la cual forma parte del Sistema Cutzamala, abastece de agua potable a la zona Metropolitana del Valle de México, siendo la segunda presa que más gasto aporta, por lo que es de gran importancia conocer la calidad del agua, tanto por su importancia a nivel ecológico como para la salud de las personas que hacen uso de esta agua.

En la Presa Villa Victoria se encuentran diversas especies de peces, algunas nativas de la zona, como el charal y la tilapia, otras introducidas con fines comerciales como la carpa herbívora, lobina negra y carpa común estas especies pudieran verse afectadas por la contaminación de la presa. La presa tiene un papel importante en el ámbito socioeconómico del municipio, en ella se lleva a cabo pesca de autoconsumo y comercial, favoreciendo a la economía local y promoviendo el desarrollo turístico. Específicamente, *Cyprinus carpio*, una especie bioindicadora, caracterizada por ser resistente y de fácil mantenimiento en laboratorio, perteneciente a la familia de los ciprínidos, un grupo de peces cultivados con fines comerciales. En este estudio su importancia radica en ser una especie presente en la presa Villa Victoria y que se consume de manera local.

Para evaluar la inocuidad del agua es de utilidad llevar a cabo estudios de la toxicidad en organismos bioindicadores, los estudios en peces resultan efectivos para comprender los efectos de los contaminantes en los sistemas acuáticos, ya

que los peces desempeñan un papel importante en las cadenas alimentarias acuáticas y son fuente de alimento para los seres humanos. La respuesta de los organismos ante esta exposición puede evaluarse mediante biomarcadores como estrés oxidativo, daño genotóxico e histológico, alteraciones en la expresión génica y cambios en el comportamiento.

La información obtenida permitirá sustentar propuestas de mejora regulatoria e infraestructura ambiental, como plantas de tratamiento de aguas residuales, que contribuyan a mejorar la calidad del agua del embalse

5. Hipótesis

El agua de la Presa Villa Victoria, debido a la presencia de mezclas de metales, pesticidas y fármacos, producirá alteraciones oxidativas, genotóxicas, histopatológicas, conductuales y de expresión génica en juveniles de *Cyprinus carpio*.

6. Objetivo general

Evaluar los efectos oxidativos, conductuales y celulares en organismos juveniles de *Cyprinus carpio* después de una exposición aguda al agua de la Presa Villa Victoria.

7. Objetivos específicos

- Caracterizar el agua en seis puntos de muestreo de la Presa Villa Victoria
- Evaluar el estrés oxidativo después de la exposición en sangre, hígado, cerebro y branquias de *Cyprinus carpio* (Lipoperóxidos, hidroperóxidos, proteínas carboniladas, SOD y CAT).
- Evaluar el daño genotóxico en células sanguíneas mediante el ensayo micronúcleos.
- Determinar el daño histológico en cerebro, branquias e hígado.

- Determinar alteraciones en la expresión de genes relacionados con apoptosis, homeostasis del calcio, señalización sináptica y respuesta a metales.

- Evaluar el comportamiento de peces juveniles de *C. carpio* expuestos a aguas de la presa Villa Victoria.

8. Metodología

8.1 Muestreo en la presa Villa Victoria.

La presa está localizada en el Estado de México, en las coordenadas 19.469898711475466, -100.01674447383269. Las muestras fueron recolectadas en una sola campaña en septiembre de 2023, se tomaron muestras a un metro de profundidad, 18 L por cada uno de los puntos de muestreo (**Figura 2**.), el agua se transportó y almacenó protegida de la luz en el laboratorio, el muestreo se realizó siguiendo los lineamientos de la NMX-AA-14-1980 Cuerpos receptores.- Muestreo (NMX-AA-14-1980 Cuerpos receptores.-Muestreo, 2023). En la **Tabla 1** se describen los sitios de muestreo y se justifica el interés por cada uno de ellos.

Tabla 1. Descripción de los sitios de muestreo.

Sitio	Coordenadas	Descripción ambiental	Justificación
1	19.456861, -99.998252	- Se encuentra el embarcadero - Aledaño a la población más grande del perímetro de Presa - Actividades de pesca	Las fuentes de contaminación en este sitio pueden ser variadas, debido a que es la zona más visitada, hay una población grande en la zona, es de interés en este estudio debido a que en esta área

			se realiza actividades de pesca.
2	19.448755, -99.987552	- Sitio cercano al desagüe principal del municipio, donde desemboca el agua residual doméstica de las tres comunidades más grandes del municipio	En este sitio también se llevan a cabo actividades de pesca, por lo que es importante determinar si los contaminantes presentes en los influentes del desagüe municipal afectan a los organismos
3	19.443625, -99.969273	- Este sitio se encuentra en una zona rural, donde se llevan a cabo actividades de cría de ganado a las orillas de la presa - Principal zona pesquera de la presa	- En esta zona los contaminantes pueden variar de los anteriores, ya que el tipo de actividades son principalmente de tipo agrícola - Al ser la zona de mayor pesca, es importante determinar los posibles efectos adversos de los contaminantes sobre los organismos
4	19.466211, -99.980048	- Localizado en la zona norte del municipio, que es la principal zona agrícola y ganadera del municipio	- El tipo de contaminantes presentes en este sitio pueden ser principalmente producto de la agricultura y ganadería - Además puede haber contaminantes de agua residual doméstica debido a

			que es una zona marginada y no existe drenaje - En este sitio también se llevan a cabo actividades de pesca, aunque son más limitadas
5	19.478848, -100.044712	- Se encuentra, igualmente, en la zona norte del municipio donde se llevan a cabo actividades agrícolas - En esta zona desemboca el principal afluente de la PVV que es el Río de la Compañía, el cual arrastra contaminantes de la zona noroeste del Estado, donde se llevan a cabo actividades agrícolas intensivas	- En esta zona ya no se cultivan ni habitan peces, por lo que no hay actividad pesquera - Sin embargo, es una zona cercana al río que más aporta al embalse y puede contribuir a conocer qué tipo de contaminantes y en qué concentraciones están entrando a la presa por esta vía - Es uno de los sitios más cercanos a la cortina de desembarque al Sistema Cutzamala
6	19.462739, -100.051342	- Zona más cercana a la compuerta de acceso de la Presa al Sistema Cutzamala - Es la zona con mayor profundidad del embalse - Cerca de esta zona se localiza la Pista de Canotaje de la presa,	- En esta zona no se realizan actividades de pesca - Es de suma importancia conocer el estado de contaminación de esta área ya el agua de este sitio es la que se incorpora al Sistema Cutzamala, es decir, el agua

		siendo una de las áreas de mayor afluencia turísticas	de este sitio es la que va a las plantas de tratamiento del sistema para potabilizarse y ser distribuida hasta el Valle de México

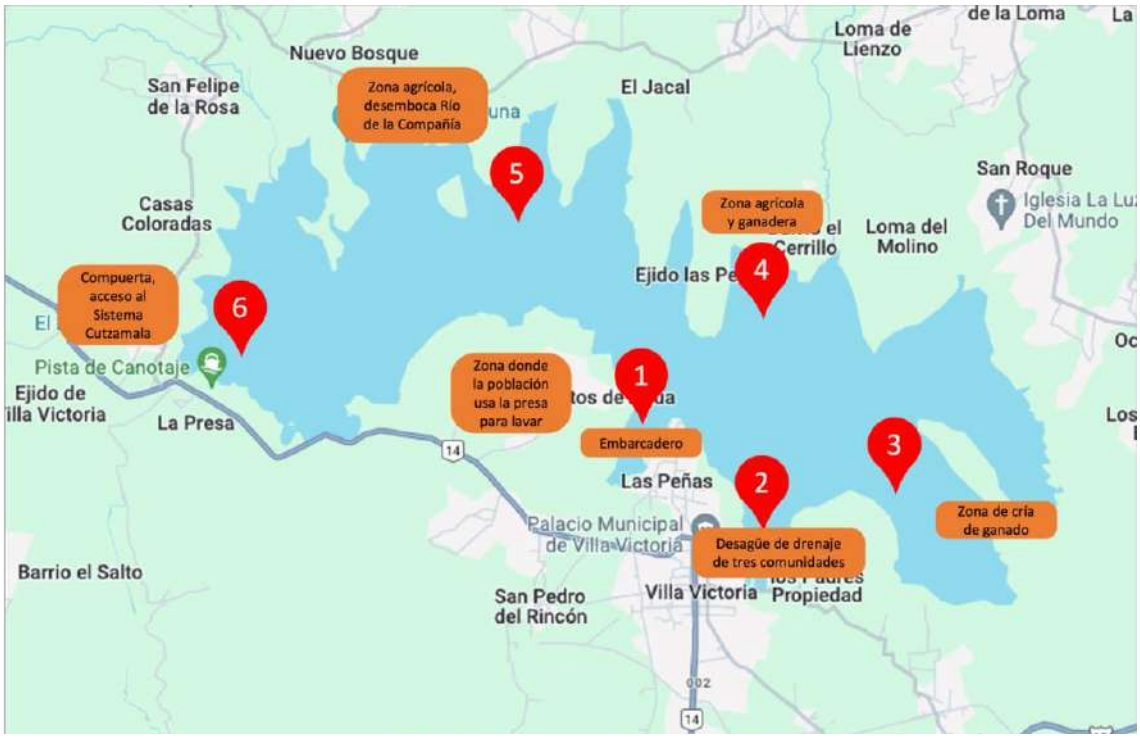


Figura 2. Sitios de muestreo en la presa Villa Victoria.

8.2 Análisis fisicoquímico del agua.

La caracterización fisicoquímica del agua se realizó de acuerdo con las metodologías establecidas en las normas mexicanas NOM-001-SEMARNAT-2021 y NOM-002-SEMARNAT-1996.

8.3 Cuantificación de metales

Se cuantificaron cinco metales: Fe, Cd, Cr, Pb y Al. El método elegido fue la espectrometría de absorción atómica. Antes del análisis, las muestras se mezclaron con ácido nítrico concentrado. Específicamente, se mezclaron 0.5 mL de la muestra de cada sitio con 2 mL de ácido nítrico concentrado, y la mezcla se esterilizó en un autoclave a 120 °C y 15 psi de presión durante 1 h. Posteriormente, las muestras se filtraron y diluyeron con agua desionizada. El equipo AAS utilizado fue un espectrofotómetro de absorción atómica Varian AA1475 (Melbourne, Australia), y los resultados se obtuvieron interpolando una curva con una solución estándar de absorción atómica para cada metal (1 mg/L). La **Tabla 2** contiene los parámetros de validación del método completos, como linealidad, recuperación, precisión, exactitud, límites de detección (LOD), límites de cuantificación (LOQ) y efectos de matriz.

Tabla 2. Parámetros de validación del método para la determinación de metales.

Metal	Longitud de onda de absorción (nm)	LOD (mg L^{-1})	LOQ (mg L^{-1})	Recuperación (%)	Precisión (%RSD)	Exactitud (%)	Efecto matriz (%)
Hierro (Fe)	238.204	0.5	1.5	90.1 ± 6.3	<9	91–100	−8 a +10
Cromo (Cr)	205.560	0.2	0.6	99.4 ± 7.1	<9	93–106	−5 a +12
Plomo (Pb)	220.353	0.8	2.0	89.2 ± 7.1	<9	88–103	−10 a +15
Cadmio (Cd)	228.802	0.1	0.3	95.8 ± 7.2	<9	92–103	−6 a +11
Aluminio (Al)	308.215	1.2	2.4	101.6 ± 6.2	<9	95–108	−12 a +18

8.4 Cuantificación de pesticidas.

Los cuatro pesticidas cuantificados en el agua fueron diazinón, dimetoato, malatión y endosulfán. Se realizó cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Se extrajeron diez mililitros de cada muestra, así como de las soluciones de calibración estándar y los blancos, utilizando un procesador de muestras SPE en línea automatizado, Prospekt-2, conectado en serie al instrumento LC-MS/MS. La determinación de pesticidas mediante LC-MS/MS se realizó debido a su elevada sensibilidad y selectividad, permitiendo la identificación y cuantificación simultánea de múltiples pesticidas presentes incluso a concentraciones muy bajas en mezclas ambientales. Para la separación cromatográfica, se utilizó una bomba HPLC binaria y una columna Purospher STAR RP-18e (125 × 2 mm, 5 µm), con elución en gradiente utilizando acetonitrilo y agua como fase móvil. Las condiciones del equipo MS/MS fueron las siguientes: voltaje capilar, 3.5 kV; temperatura de la fuente, 150 °C; temperatura de desolvatación, 450 °C; voltaje del extractor, 3 V; y lente RF, 0.1 V. Los parámetros detallados de validación del método, incluidos la linealidad, la recuperación, la precisión, la exactitud, los límites de detección (LOD), los límites de cuantificación (LOQ) y los efectos de la matriz, se proporcionan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Parámetros de validación del método para la determinación de pesticidas.

Contaminante	Rango lineal (µg L^{-1})	R^2	LOD (µg L^{-1})	LOQ (µg L^{-1})	Recuperación (%)	Precisión (%RSD)	Exactitud (%)	Efecto matriz (%)
Diazinón	2–100	>0.998	1.3	2.6	77.4	<15	77–85	−15 a +18
Dimetoato	2–100	>0.998	1.5	5.0	84.9	<15	85–92	−12 a +20
Malatión	2–100	>0.998	1.6	8.0	96.3	<15	93–102	−10 a +17

Endosulfán	2–100	>0.998	1.7	10.5	112.8	<15	105–115	−18 a +15

8.5 Determinación de la presencia de fármacos

La cuantificación de 14 fármacos en el agua de cada uno de los sitios se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se empleó HPLC para la determinación de productos farmacéuticos debido a su alta capacidad de separación, selectividad y sensibilidad, permitiendo la identificación y cuantificación precisa de productos farmacéuticos en una mezcla compleja como las muestras de agua de la presa. Se procesaron previamente las muestras mediante filtración al vacío con filtros de microfibra de vidrio GF/C de 10 µm. Para extraer, concentrar y refinar los compuestos objetivo, se realizó una extracción en fase sólida utilizando cartuchos marca Waters® Sep-Pak® vac 6 cc (1 g) C18, los cuales se acondicionaron aplicando 5 mL de metanol de grado cromatográfico (Fermont®, México) y 5 mL de agua Milli-Q (Millipore®); la muestra se pasó a una velocidad de 2-3 mL/ min utilizando 5 mL de metanol de grado cromatográfico. EL producto de la extracción se evaporó completamente y se reconstituyó en 1 mL de agua Milli-Q (Millipore®). Se filtraron las muestras utilizando acrodiscos de nailon con un tamaño de poro de 0.45 µm (Whatman, Cambridge, Reino Unido). El sistema HPLC que se usó fue del fabricante *Waters,* con un detector UV dual tipo ABS (modelo 2487), una bomba de flujo isocrático (modelo 1515) y un muestreador automático (modelo 4212). Se utilizó una columna Eclipse XDB-C18 de 5 µm con dimensiones de 4.6 × 250 mm y se aplicó un volumen de inyección de muestra de 20 µL. Se construyeron curvas de calibración para cada fármaco, utilizando soluciones estándar, todos presentaron coeficientes de regresión lineal superiores a 0.99 y los resultados se informaron como la concentración media. La **Tabla 4** incluye parámetros detallados para la validación del método, como linealidad, recuperación, precisión, exactitud, límites de detección (LOD), límites de cuantificación (LOQ) y efectos de matriz.

Tabla 4. Parámetros de validación del método para la determinación de fármacos.

Contaminante	Rango lineal (µg L^{-1})	R^2	LOD (µg L^{-1})	LOQ (µg L^{-1})	Recuperación (%)	Precisión (%RSD)	Exactitud (%)	Efecto matriz (%)
Paracetamol	1–5000	>0.995	3	10	92.4	<10	94.1	−10 a +12
Naproxeno	1–500	>0.998	10	100	88.7	<8	90.3	−12 a +15
Diclofenaco	1–500	>0.998	10	100	89.0	<8	90.0	−12 a +15
Dicloxacilina	1–500	>0.996	100	1000	83.5	<12	85.2	−15 a +18
Carbamazepina	1–500	>0.998	5	50	95.2	<10	97.0	−10 a +12
Trimetoprima	1–500	>0.999	2	100	97.1	<9	98.5	−8 a +10
Metformina	100–5000	>0.995	1000	1000	81.6	<12	83.9	−18 a +20
Cianoguanidina	1–500	>0.995	5	50	90.3	<10	92.0	−10 a +12
Etinilestradiol (EE2)	1–500	>0.997	100	1000	85.9	<12	87.5	−15 a +18
Ketorolaco	1–500	>0.996	10	100	91.5	<10	93.2	−10 a +15

Dexametasona	1–500	>0.996	10	100	93.8	<10	95.4	−10 a +15
Telmisartán	1–500	>0.995	10	100	87.6	<10	89.1	−12 a +16
Sulfametoxazol	1–500	>0.998	10	100	96.4	<9	97.8	−10 a +14
Ranitidina	1–500	>0.995	10	100	88.0	<8	90.0	−10 a +14

Los resultados se compararon con NOM-001-SEMARNAT-2021 como referencia de descargas y con NOM-127-SSA1-2021 cuando el parámetro corresponde a calidad de agua para uso y consumo humano.

8.6 Mantenimiento de los organismos

Los organismos de la especie *Cyprinus carpio* empleados para este estudio fueron obtenidos del Centro Acuícola de Tiacaque, Estado de México y se transportaron al laboratorio en bolsas con agua oxigenada. En el laboratorio se mantuvieron en un tanque de 150 L con agua de grifo, a temperatura ambiente, con oxigenación y filtración constante, con periodos de luz natural y alimentación diaria con alimento comercial, reemplazando ¾ del volumen de agua cada 3 días, durante un período de aclimatación de 14 días. Para el estudio fueron seleccionados solo los peces que mostraron actividad normal y en buen estado de salud. Siguiendo los lineamientos establecidos por la norma oficial mexicana para el cuidado y uso de animales de laboratorio, NOM-062-ZOO-1999, 2001.

8.7 Exposición de los organismos y obtención de muestras

Los organismos seleccionados para el estudio fueron del tamaño entre 12- 15 cm a los cuales se suspendió la alimentación 24 h antes del inicio del estudio. Los sistemas de exposición consistieron en 7 tanques cada uno con 10 L de agua, uno por cada sitio de la presa y un grupo control con agua corriente. Cada tratamiento se realizó por triplicado, con 6 peces por réplica, para un total de n = 18 organismos por sitio. La unidad experimental fue el tanque. Al término del tiempo de exposición de 96 horas se tomaron los peces para realizar las pruebas de conducta. Al finalizar las pruebas de conducta los peces se anestesiaron con eugenol a la concentración de 50 mg/L para la extracción de sangre de la vena caudal para las pruebas de estrés oxidativo y micronúcleos. Posteriormente se sacrificaron los organismos de acuerdo con las directrices de la Asociación Médica Veterinaria Americana (AVMA). La extracción de los órganos cerebro, branquias e hígado de los peces se realizó por disección, se pesaron y se colocaron en tubos Eppendorf hasta completar un volumen de 2 mL con buffer PBS pH 7.4, se homogenizaron las muestras y se centrifugaron a 12,500 rpm a -4°C durante 15 minutos para obtener el sobrenadante de cada muestra para las pruebas de estrés oxidativo. También se extrajeron los órganos cerebro, branquias e hígado para las pruebas de histología, los cuales se colocaron en frascos de 45 mL con una solución formalina al 10 %, tamponada neutra. Para las pruebas de expresión génica, se extrajeron los mismos órganos y las muestras se colocaron en tubos Eppendorf con solución salina tamponada con fosfato (PBS) a pH 7.4, se almacenaron en congelación.

8.8 Pruebas de comportamiento

8.8.1 Prueba de Novel Tank

Se realizó el ensayo de acuerdo con la metodología descrita por Sanchez-Aceves, et. al., 2024, con modificaciones para *C. carpio*. Los peces fueron transferidos de los sistemas de exposición a una pecera en un sitio aislado, se les permitió a los

organismos acostumbrarse al nuevo entorno durante una hora. Posteriormente, se seleccionaron organismos y uno a la vez fueron colocados en un tanque de 5 L durante 8 minutos. Los primeros 2 minutos se utilizaron para la aclimatación y los 6 minutos restantes para la prueba. Se utilizó el software Ethovision XT 13.0 para registrar el comportamiento de los peces y medir los siguientes parámetros: tiempo de inmovilidad, distancia total recorrida, velocidad media, latencia en la superficie, número total de transiciones de la parte superior a la inferior y viceversa.

8.8.2 Prueba de luz/oscuridad

Esta prueba se realizó en un tanque dividido en dos secciones iguales: un lado con paredes y suelo de color blanco y el otro con paredes y suelo negros, sin barreras físicas que separaran los dos compartimentos. Se fueron colocando en el tanque de manera individual seis organismos por sitio de exposición (triplicados, n = 18), se registró su actividad durante ocho minutos de videograbación. Posteriormente se analizaron 6 minutos de prueba, los primeros dos minutos fueron de aclimatación, con el software Tox Track Ink para medir el tiempo transcurrido en las zonas de luz y oscuridad, las transiciones entre ambas zonas y los periodos de inmovilidad. Este análisis se realizó de acuerdo con las metodología descrita por Sanchez-Aceves, et. al., 2024, con ligeras modificaciones por la especie los organismos.

8.9 Evaluación de biomarcadores de estrés oxidativo

Las muestras fueron previamente homogenizadas y centrifugadas y obtuvieron dos fases de estas, las cuales se separaron en tubos Eppendorf, uno de estos tubos se preparó combinando 300 µL de homogeneizado con 300 µL de ácido tricloroacético al 20% y se centrifugó a 11,495 rpm a 4.0 ◦C durante 15 min, el precipitado de este tubo se utilizó para cuantificar el contenido de proteínas carboniladas de acuerdo con la metodología de Levine, et.al., 1994. El producto del sobrenadante se empleó para medir el grado de lipoperoxidación y los niveles de hidroperóxidos según el

procedimiento descrito por Buege y Aust en 1978 y de Jiang, et. al., 1992, respectivamente. De la otra parte de la muestra, que fue colocada en un segundo tubo al inicio, se tomaron 700 µL de homogeneizado y se centrifugaron a 12,500 rpm a 4.0 °C durante 15 min, el sobrenadante de este tubo se utilizó para la determinación de la actividad de superóxido dismutasa y catalasa, de acuerdo con las metodologías de Misra, et. al., 1972 y Radi, et. al., 1991, respectivamente. Los resultados obtenidos de todos los biomarcadores se estandarizaron mediante el método de Bradford, 1976. Los resultados se normalizaron respecto a la concentración de proteína total determinada por Bradford.

8.10 Prueba de micronúcleos.

La sangre extraída de la vena caudal de 3 organismos por cada uno de los sistemas de exposición se utilizó inmediatamente para evitar la coagulación, se colocó una gota de sangre en un portaobjetos, se realizó un frotis y se tiñó con tinción de Giemsa al 10% durante 9 minutos, posteriormente se lavó con agua destilada y se dejaron secar en el ambiente. Se analizaron en un microscopio óptico, con un aumento de 1000x, 1000 células sanguíneas por portaobjetos, 3 portaobjetos por cada pez. El análisis se realizó de manera ciega por al menos dos observadores. Se determinó el contenido de micronúcleos mediante el método de Çavas & Ergene-Gozukara, 2005, se consideraron micronúcleos a los cuerpos de cromatina pequeños, no refractivos, circulares u ovoides, que mostraban el mismo patrón de tinción que el núcleo principal (Zalacain, 2005). Las frecuencias de micronúcleos se expresaron en porcentajes.

8.11 Daño histológico

La evaluación del daño histológico en cerebro, hígado y branquias se llevó a cabo de acuerdo con las metodologías propuestas por Onofre-Camarena, et. al., 2024 y Casas-Hinojosa, et.al., 2025. Los órganos se colocaron horizontalmente en casetes

de tejido SIMPORT Histosette dentro de frascos con formalina tamponada neutra al 10 % para ser fijados durante 7 semanas. Posteriormente se sometieron a una serie de pasos de deshidratación utilizando concentraciones crecientes de etanol (70 %, 80 %, 90 %, 95 % y 100 %) para eliminar el agua de los tejidos. Las muestras ya deshidratadas se aclararon con xileno para asegurar la correcta infiltración de parafina durante la inclusión. Posteriormente los tejidos incluidos en parafina se seccionaron en cortes de 5 µm de grosor utilizando un micrótomo rotatorio (CUT 5062 SLEE). Los cortes histológicos se recogieron en un baño de agua a temperatura controlada, mantenido a 37 °C, utilizando el equipo Slidetec Water/Hea SLEE, y se transfirieron a portaobjetos de vidrio limpios, los cuales se colocaron a una temperatura de 50 ◦ C hasta lograr la fusión de la parafina incluida. La tinción de las muestras se realizó con la técnica de hematoxilina y eosina. Las muestras se examinaron con un microscopio óptico modelo ZEISS Primo Star con aumentos de 10x, 40x y 100x para evaluar cualquier cambio histopatológico.

8.12 Análisis de la expresión génica

La extracción de RNA de cerebro, hígado y branquias de 3 peces por cada sistema de exposición, se realizó utilizando el RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania) y la calidad del RNA se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa y un espectrómetro NanoDrop 2000/2000c (Thermo Scientific, EE. UU.) y se almacenó el RNA a − 80 ◦C. Se realizó la transcripción inversa del RNA obtenido incubando muestras de ARN con tampón de eliminación de ADNg, agua libre de ARNasa, transcriptasa inversa Quantiscript, tampón RT y mezcla de cebadores RT (kit de transcripción inversa QuantiTect de QIAGEN) a temperaturas específicas. La calidad del ADNc se evaluó mediante electroforesis y espectrofotometría. El análisis de la expresión génica se realizó utilizando PCR QuantiTect SYBR Green (QIAGEN, Hilden, Alemania), cebadores, ADNc y agua libre de ARNasa en condiciones específicas utilizando qPCR QIAGEN Gene Q Rotor. La cuantificación relativa del gen diana normalizado a β-actina se realizó mediante el método 2^ − ΔΔ Ct (Pfaffl, 2001; Schmittgen y Livak, 2008; Zeng et al., 2022; Yu et al., 2024). Las secuencias

de cebadores utilizadas para la evaluación de la expresión génica se muestran en la **Tabla 5.**

Tabla 5. Secuencias de primers utilizadas para la evaluación de la expresión génica.

Gen	Número ID		Secuencia
β-actina	JQ619774.1	Forward	AGACCTGTATGCCAACACCG
		Reverse	AGGGCCAGACTCATCGTACT
ip3r	XM_042726217.1	Forward	TGGACATGTACACTCACTCAAGG
		Reverse	GGTGCAAAGAAATCCAGAGGG
ryr	XM_042743870.1	Forward	GAACTTCTGCGAGGACACCA
		Reverse	GTGCTGCTTCTCCATTCCCT
Receptor de adenosina tipo A1	XM_042725197.1	Forward	TTGTTTTCTCATCGTGCCGC
		Reverse	GCCAGTTGGTGCTCCTTTTG
Receptor de adenosina tipo A2a	XM_042740951.1	Forward	CCGTGTGCCTTCTGCTTCTA
		Reverse	CAAGCACAAAACCCGCCTAC
tp53	XM_042723802.1	Forward	GGGCAAGACCCCCTCTACTA
		Reverse	CCTTTTTACTGCCCTCGGGT
bcl2	XM_019067767.2	Forward	CACACGGTGCTACGGGAG
		Reverse	AAAGCGATGATTCTGCCCCA
mt2	XM_019095650.2	Forward	GGTATCTTCCCCATCAACGCA
		Reverse	TGCAAGTTCCAGTCTTGGCG
AChE	XM_042727470.1	Forward	CTCCTGGGACACTAGGCTGG
		Reverse	ATGTTGGGATTCCCGGTACG

8.13 Análisis estadístico.

Se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene, utilizando IBM SPSS Statistics versión 30.0. Debido a que los datos de comportamiento, estrés oxidativo y micronúcleos no cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba post hoc de Dunn para comparaciones múltiples. Para los datos de expresión génica, los valores de ΔCt cumplieron los supuestos paramétricos, por lo que se aplicó ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. En todos los casos se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

Se verificaron parámetros analíticos del método, incluyendo linealidad, recuperación, precisión, exactitud, LOD, LOQ y efecto matriz

9. Resultados

9.1 Análisis fisicoquímico del agua.

En el análisis fisicoquímico del agua de la PVV, en cada uno de los sitios, se encontraron valores dentro de la NOM-001-SEMARNAT-2021, a excepción del parámetro color verdadero que se encontró alterado en los sitios 2, 4 y 6, indicando una alta concentración de sustancias disueltas, como materia orgánica o metales, en estos sitios en particular. Ver **Tabla 6.**

Tabla 6. Resultados del análisis fisicoquímico del agua de la PVV por sitio.

Parámetro fisicoquímico	Unidades	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Sitio 6	LMP NOM-001-

								SEMARNAT-2021
Temperatura al muestrear	ºC	19.0	17.3	16.1	15.4	15.3	16.9	<35
Carbono orgánico total	mg/L	5.83	8.215	8.701	8.512	6.155	2.822	<35
Carbono total	mg/L	13.05	13.99	14.63	14.97	14.52	12.23	NE
Carbono inorgánico	mg/L	7.203	6.113	5.888	6.554	7.286	14.681	NE
Nitrógeno total	mg/L	1.803	1.975	2.023	1.921	1.567	1.498	NE
pH		7.0	7.0	7.0	7.5	7.5	7.0	6-9
Conductividad	S/cm	351	307	360	328	259	318	<3500
Oxígeno disuelto	mg/L	6.93	6.89	6.92	7.01	6.98	6.99	NE
Cloruros	mg/L	0.0229	0.0531	0.0292	0.0260	0.0263	0.0251	NE
Sólidos suspendidos totales	mg/L	6.667	7.273	7.018	10.792	7.406	3.704	<28
Color verdadero α (coeficiente de absorción espectral)	λ436/m	6.8	10.4	3.2	7.8	5.1	12.5	7.0
	λ525/m	4.1	6.6	2.2	5.7	3.0	8.8	5.0
	λ620/m	2.3	4.9	1.7	5.3	2.1	7.3	3.0
DQO	mg/L	30.220	51.252	35.134	34.141	40.224	33.873	<140
PO_4^{3-}	mg/L	0.0172	0.0138	0.0053	0.1079	0.0051	0.0008	NE

Na^+	mg/L	6.72	7.42	6.78	6.92	6.44	6.49	NE
K^+	mg/L	2.48	2.62	2.38	2.48	2.29	2.39	NE
Mg^{2+}	mg/L	6.48	6.33	6.39	6.41	5.39	5.39	NE
Ca^{2+}	mg/L	45.2	44.9	31.3	44.8	53.1	45.2	NE

9.2. Cuantificación de contaminantes

En cuanto a la presencia de compuestos contaminantes, se cuantificaron compuestos de tres principales grupos: metales, pesticidas y fármacos (**Tabla 7**). Los resultados mostraron la presencia de 5 metales: Fe, Cr, Pb, Cd y Al, destando que Fe y Al se encuentran por encima de los LMP por la norma, el hierro en 3 de los 6 sitios y el aluminio en todos, este último con valores muy por encima de los límites permisibles. Por otro lado, son 4 los pesticidas presentes en el agua de la presa diazinón, dimetoato, malatión y endosulfan, el único que está considerado en la norma con un LMP es dimetoato, y las concentraciones de este rebasan lo establecido en la norma en los sitios 4 y 5. Los compuestos farmacéuticos en el agua de la presa que, aunque no tienen un límite establecido en la legislación, se detectaron en concentraciones por encima del límite de detección del equipo fueron de distintos grupos como antiinflamatorios no esteroideos (naproxeno), anticonvulsivos (carbamazepina), antibióticos (trimetoprima y sulfametoxasol), antidiabeticos (metformina y su derivado cianoguanidina) y antihistaminicos (ranitidina). La presencia de cada uno de los contaminantes en los sitios de la presa se resume en la **Figura 3**.

Tabla 7. Contaminantes y sus concentraciones en cada sitio de muestreo de la PVV.

Tipo de contaminante	Contaminante	Unidades	Sitio de muestreo						LMP NOM 127-SSA1-2021
			1	2	3	4	5	6	
Metales	Hierro	mg/L	0.40	0.34	0.39	ND	ND	ND	0.30
	Cromo		0.025	0.019	0.008	0.0002	ND	ND	0.05
	Plomo		ND	ND	ND	0.003	0.003	0.003	0.01
	Cadmio		ND	0.0003	ND	0.0002	ND	ND	0.005
	Aluminio		0.47	0.73	0.66	0.63	0.53	0.35	0.2
Pesticidas	Diazinón	µg/L	ND	<LC	2.56	4.78	3.87	ND	NE
	Dimetoato		ND	ND	ND	12.4	10.3	ND	6.0
	Malatión		1.24	ND	5.96	2.65	6.24	ND	NE
	Endosulfán		ND	ND	8.11	5.10	1.63	<LD	NE
Fármacos	Diclofenaco	ng/L	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Paracetamol		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Naproxeno		2.62	4.17	2.87	2.64	<LD	<LD	NE
	Dicloxacilina		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Carbamazepina		1.6	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Trimetoprima		1.52	20.99	27.72	29.79	18.54	13.10	NE
	Metformina		3235	242.6	3365	3882	2911.8	3772.4	NE
	Cianoguanidina		0.6609	ND	ND	ND	10.79	ND	NE

	EE2		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Ketorolaco		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Dexametasona		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Telmisartán		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NE
	Sulfametoxazol		29.80	34.09	104.80	43.76	<LD	10.27	NE
	Ranitidina		5.71	9.66	8.38	7.88	7.44	3.72	NE

* LD= Límite de detección; LC= Límite de cuantificación; ND= No detectado; NE= No especificado.

** No comparar directamente concentraciones entre grupos sin convertir unidades.

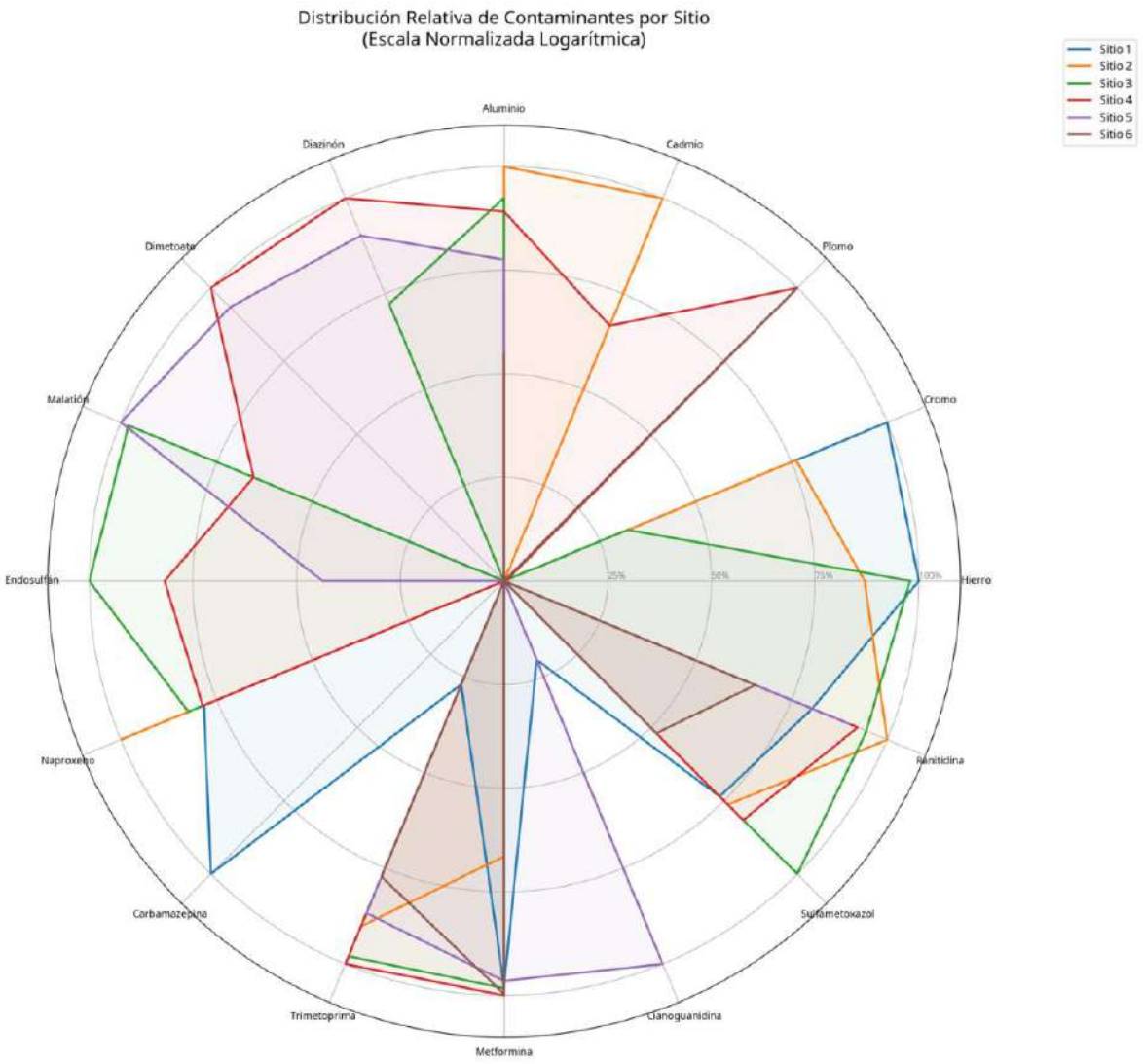


Figura 3. Contaminantes presentes en cada sitio de la PVV.

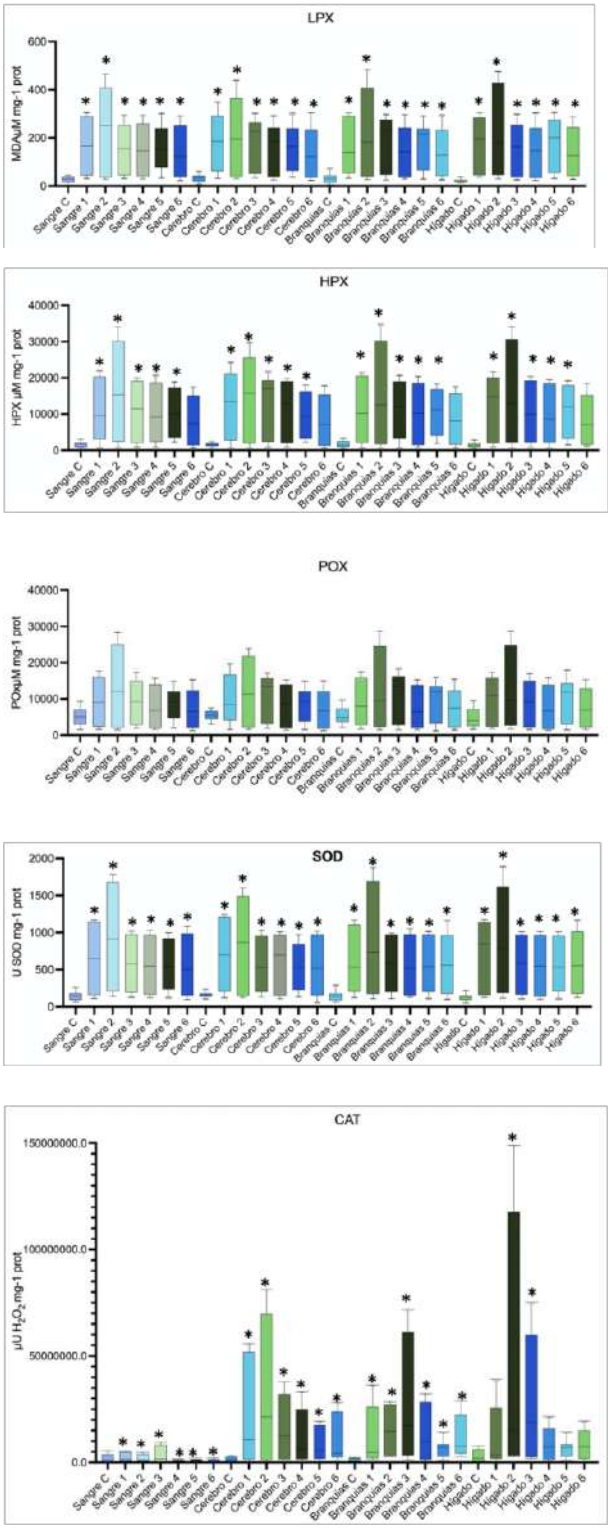


Figura 4. Resultados de las pruebas de estrés oxidativo.

9.3. Pruebas de estrés oxidativo

Los resultados de las pruebas de estrés oxidativo se muestran en la **Figura 4**, manifestándose principalmente como aumento de LPX, HPX y cambios en SOD/CAT. La lipoperoxidación aumentó significativamente ($p < 0.05$) en todos los órganos, sangre, cerebro, branquias e hígado en todos los sitios de exposición con respecto al grupo control; además la concentración de hidroperóxidos también aumentó en los cuatro órganos en los sitios 1-5, siendo el sitio 6 el único que no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control. En lo que se refiere a la cantidad de proteínas carboniladas no hubo diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los órganos ni en los sitios. La actividad de la enzima antioxidante SOD aumentó en todos los órganos y en todos los sitios con diferencia significativa con respecto al grupo control. Por su parte la actividad de CAT en sangre, cerebro y branquias presentó diferencias significativas en todos los sitios de exposición, mientras que en hígado su actividad solo mostró diferencias en los sitios 2 y 3. Destacando que el sitio 2 fue en el que se encontró un mayor aumento en todos los biomarcadores de estrés oxidativo en los cuatro órganos, lo cual podría relacionarse con la mezcla específica de contaminantes presentes en este sitio, en la que destacan las mayores concentraciones de Al, NPX y ranitidina de entre todos los sitios.

9.4. Histología

Las alteraciones histopatológicas observadas en hígado, branquias y cerebro reflejan un estado de daño tisular asociado a la exposición aguda a agua con mezclas de contaminantes, se resumen en la **Tabla 8**. El hígado presentó principalmente agregados celulares, cuerpos eosinofílicos e inflamación de los conductos biliares (**Figura 5**.), lo que sugiere procesos inflamatorios y estrés oxidativo relacionados con la biotransformación de xenobióticos. La presencia de necrosis, degeneración hepatocelular y núcleos picnóticos indica un daño celular progresivo, posiblemente vinculado a la citotoxicidad inducida por metales y

pesticidas. La detección esporádica de neoplasias y melanomacrófagos podría representar respuestas adaptativas frente a exposiciones prolongadas, siendo el sitio 1 el más afectado, lo que sugiere una mayor presión ambiental en esta zona.

En las branquias (**Figura 6.**), la fragmentación tisular y la hiperplasia apical evidencian respuestas defensivas frente a contaminantes disueltos, aunque estas alteraciones pueden comprometer funciones esenciales como la respiración y la osmorregulación. En conjunto, los resultados confirman que la exposición a mezclas de contaminantes puede inducir efectos adversos significativos en tejidos clave, aun cuando algunos compuestos se encuentren dentro de los límites normativos.

Los daños histológicos que se presentaron en el cerebro fueron variados, la necrosis y la infiltración de células inflamatorias fueron las alteraciones que se presentaron con mayor frecuencia, seguidas de incremento de vasos capilares, edema, agregados celulares, aumento de células gliales y espongiosis que se presentaron frecuentemente, y finalmente, degeneración del tejido conectivo, vacuolizaciones, perdida del tejido y distorsión de la arquitectura del tejido que fueron poco frecuentes. En cuanto a las variaciones entre sitios, fue en el sitio 5 donde se presentaron con mayor frecuencia de alteraciones al tejido cerebral, sin embargo, en todos los sitios se observaron lesiones con mucha mayor frecuencia que en el grupo control. En la **Figura 7** se muestran imágenes de los tipos de alteraciones observadas, señalando con flechas y figuras las lesiones que se encontraron y el sitio al cual corresponde la fotografía.

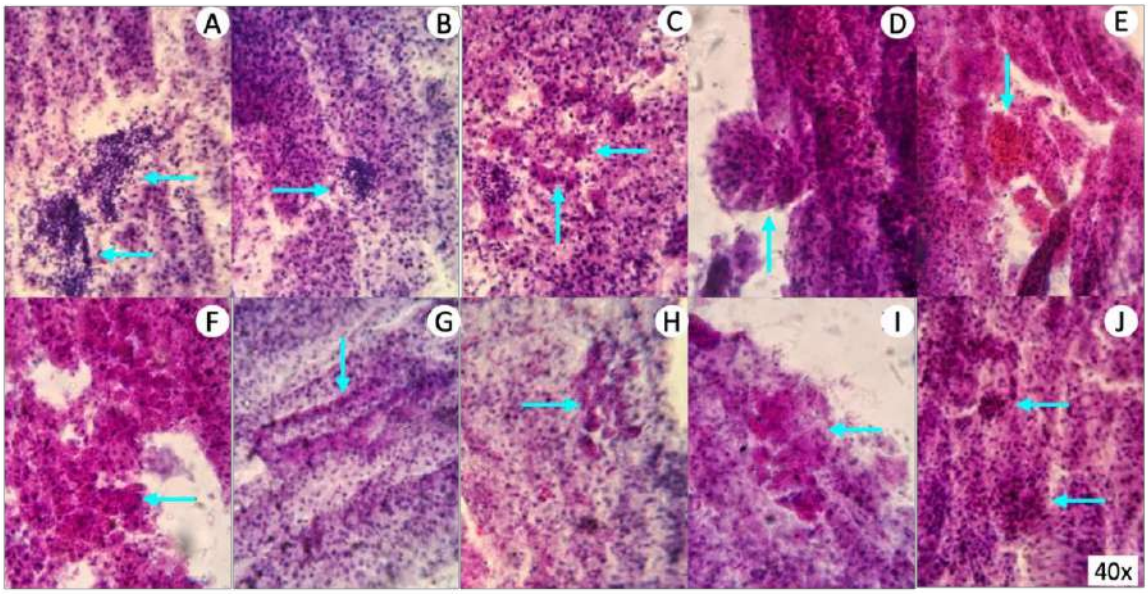


Figura 5. Tejido hepático.

En la **Figura 5** se puede observar en las fotos A) y B) Agregados celulares, sitio 1; C) Cuerpos eosinofílicos, sitio 2; D) Neoplasia, sitio 3; E) Melanomacrófagos, sitio 4; F) Cuerpos eosinofílicos, sitio 5; G) Degeneración hepatocelular eosinofílica, sitio 5; H) Cuerpos eosinofílicos, sitio 5; I) Cuerpos eosinofílicos, sitio 5; J) Agregados celulares, sitio 6.

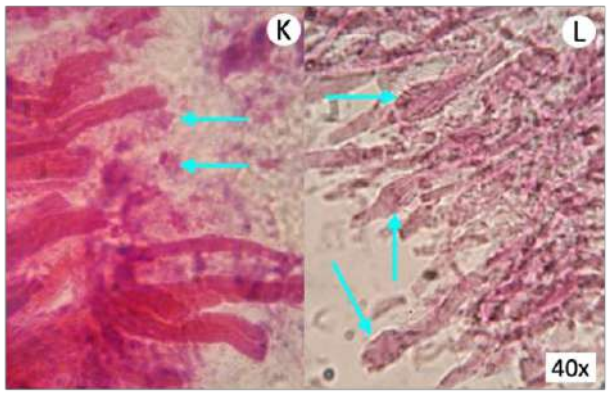


Figura 6. Tejido branquial.

En la **Figura 6** se observa lo siguiente: en la imagen K) Tejido fragmentado, sitio 1. L) Hiperplasia apical, sitio 1.

En la **Figura 7** se observa lo siguiente: M) Células inflamatorias, sitio 1 N) Células inflamatorias y gliales, sitio 1 O) Células gliales, sitio 3 P) Pérdida de la arquitectura, sitio 3 Q) Incremento en capilares, sitio 4 R) Vasos sanguíneos y microglia, sitio 5 S) Células gliales, sitio 6 T) Necrosis licuefactiva, sitio 2.

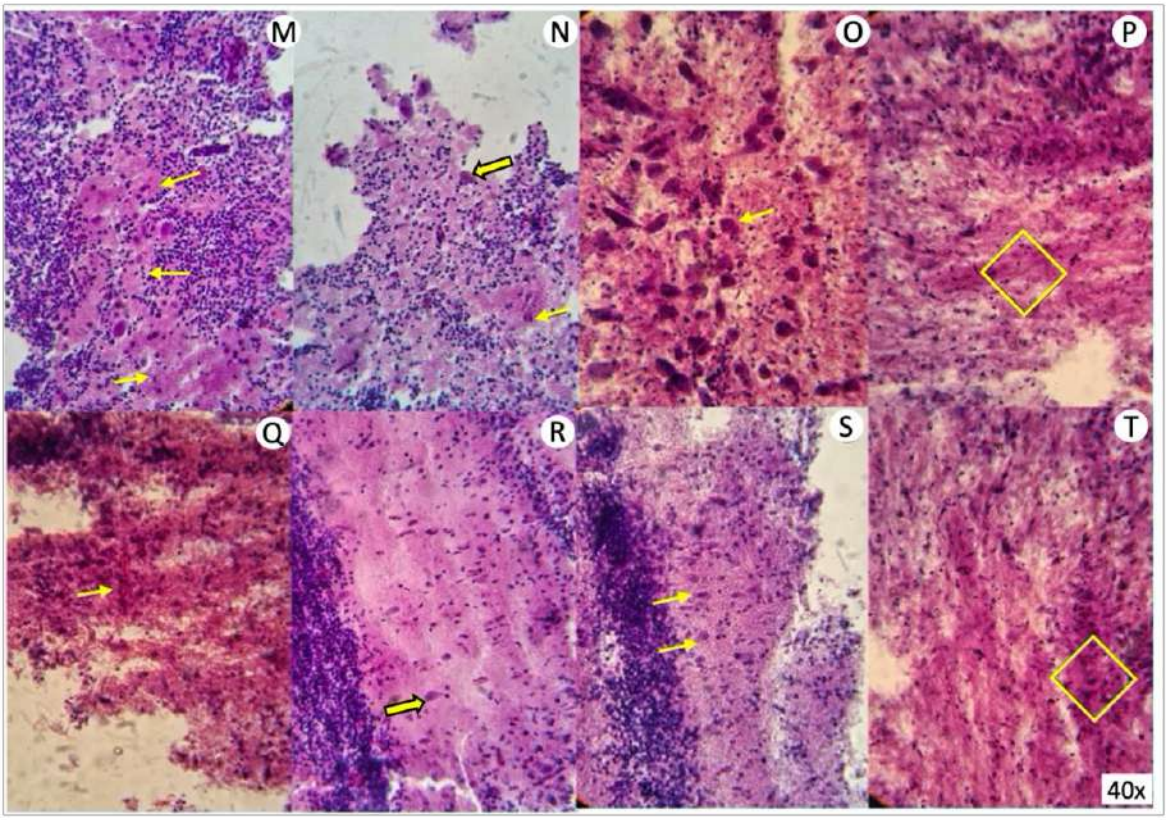


Figura 7. Tejido cerebral.

Tabla 8. Frecuencia de las alteraciones histopatológicas presentadas por cada sitio.

Tejido	Tipo de daño histológico	Control	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Sitio 6
Cerebro	Espongiosis	-	+	+	+	-	+	+
	Infiltración células inflamatorias	-	++	-	+	++	++	++
	Necrosis	-	+++	+++	+++	+	++	+
	Distorsión de la arquitectura del tejido	-	-	+	-	-	-	-
	Pérdida de tejido	-	-	+	-	-	-	-
	Edema	-	+	++	-	+	+	-
	Vacuolización	-	+	+	-	-	-	-
	Incremento vasos capilares	-	-	-	+	++	++	++
	Degeneración tejido conectivo	-	-	-	+	-	+	-
	Agregados celulares	-	-	-	+	+	++	+
	Aumento células gliales	-	-	-	-	-	++	++
Hígado	Agregados celulares	-	+++	++	+	-	+	++
	Necrosis	-	++	-	-	+	+	+
	Pérdida de la arquitectura celular	-	++	+	-	+	+	-
	Inflamación de los ductos biliares	-	+	+	++	+	++	-
	Núcleos picnóticos	-	-	-	-	++	+	+
	Neoplasia	-	-	-	+	-	-	-
	Melanomacrófagos	-	-	-	-	-	-	+
Branquias	Fragmentación	-	++	+	++	+	+	+
	Hiperplasia	-	++	+	-	+	-	+

Frecuencia

Muy frecuente +++ >5

Frecuente ++ 3 a 5

Poco frecuente + 1 a 2

Sin presencia - 0

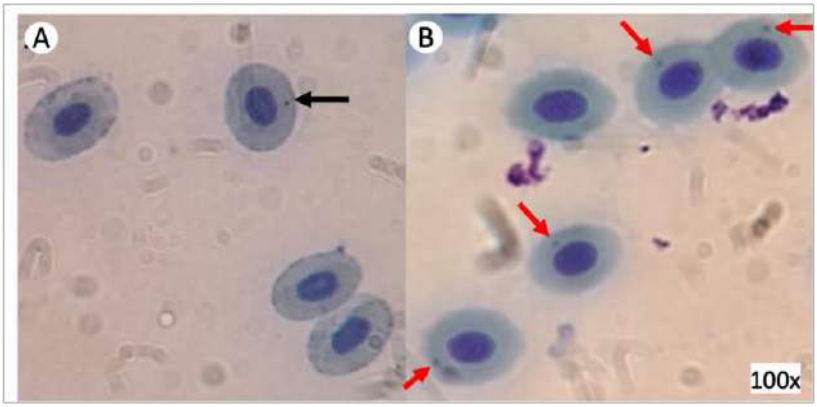


Figura 8. Micronúcleos.

9.5 Micronúcleos

En el ensayo de micronúcleos se presentó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en el porcentaje de células micronucleadas en los sitios 1-5, solo el sitio 6 no presentó diferencias con respecto al grupo control, es decir, que el potencial genotóxico del agua de la presa es distinto de acuerdo con la mezcla heterogénea de contaminantes presentes em cada uno de ellos. También se puede observar que el sitio 2, en la **Figura 8.** A) Micronúcleo (flecha negra), sitio 4. B) Micronúcleos (flechas rojas), el sitio 2 presentó un porcentaje mucho mayor con respecto a los demás sitios, lo cual indica que la mezcla de contaminantes presente en este sitio de muestreo es la que más efecto genotóxico presenta en las células sanguíneas de *C. Carpio.* Ver **Tabla 9**.

Tabla 9. Células MN por sitio, $p < 0.05$.

Sitio	MN/1000 células, media ± DE	% Células micronúcleadas
Control	2.11	0.21
Sitio 1 *	60.11	6.01
Sitio 2 *	146.56	14.66
Sitio 3 *	70.00	7.00
Sitio 4 *	73.89	7.39
Sitio 5 *	71.11	7.11
Sitio 6	11.11	1.11

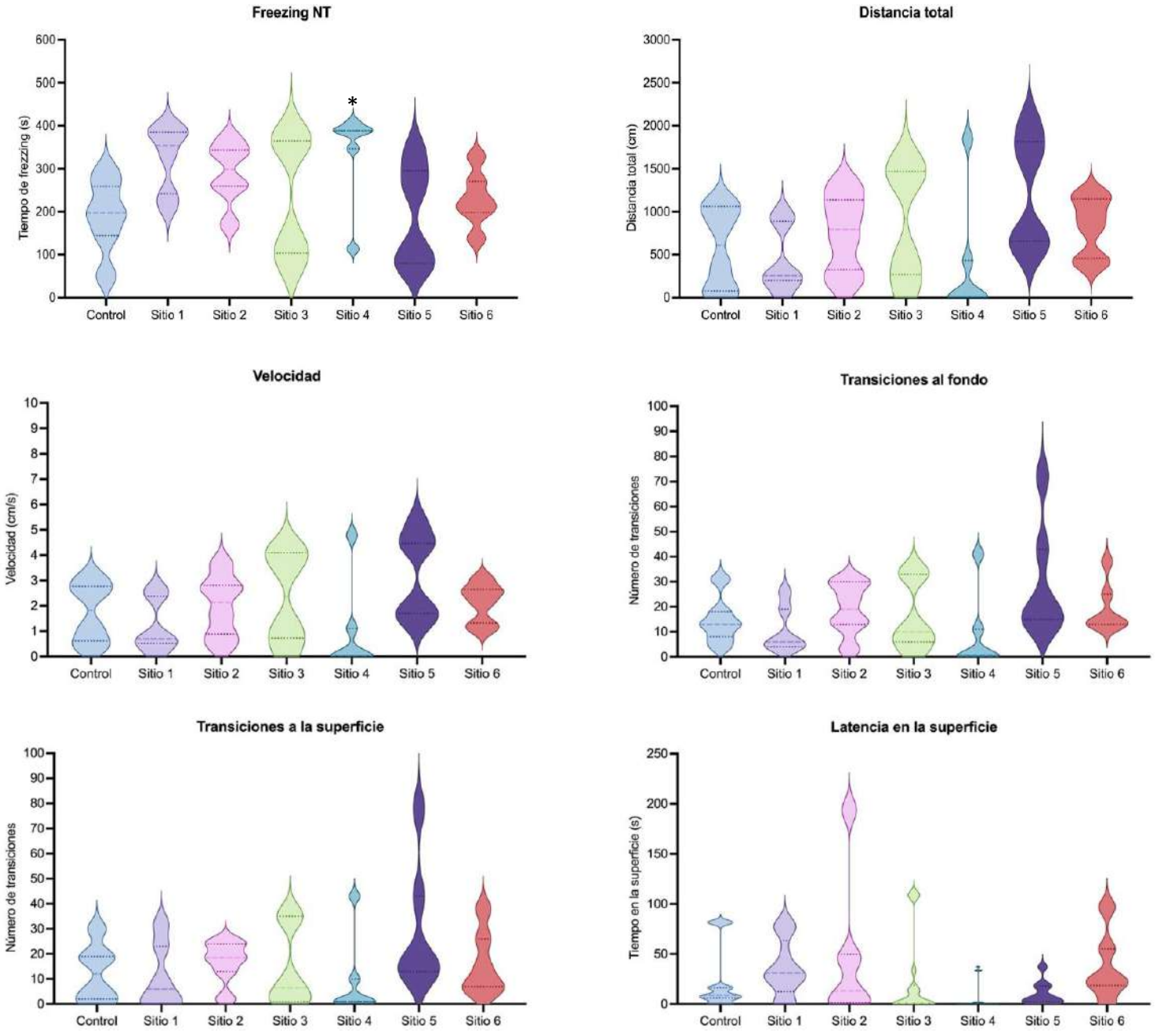


Figura 9. Prueba Novel Tank.

9.6 Pruebas de conducta

9.6.1 Novel Tank

En el estudio etológico los resultados fueron los siguientes. En la prueba Novel Tank, se analizaron los siguientes parámetros: transiciones al fondo, transiciones a la superficie, tiempo en la superficie, velocidad, tiempo de inmovilidad (freezing) y distancia total recorrida, en cuanto a los resultados, que se muestran en la **Figura 9**, únicamente hubo variaciones en el tiempo de inmovilidad los peces del sitio 4, que mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

9.6.2 Prueba Dark & Light

Para la prueba de Dark & Light se analizó el tiempo en la zona clara, tiempo en la zona oscura, transiciones entre ambas zonas y tiempo de inmovilidad (freezing), siendo en este último donde, al igual que en la prueba Novel Tank, se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), en los sitios 1, 4 y 5 (**Figura 10**). La trayectoria de nado de los peces en la prueba NT se muestra en la **Figura 11**, donde la conducta de los peces del grupo control presentó poca ansiedad, puesto que exploraron el tanque, pero se permanecieron la mayor parte del tiempo en el fondo; en los peces expuestos el patrón exploratorio, los resultados sugieren un patrón compatible con conducta tipo ansiedad, principalmente evidenciado por aumento de inmovilidad.

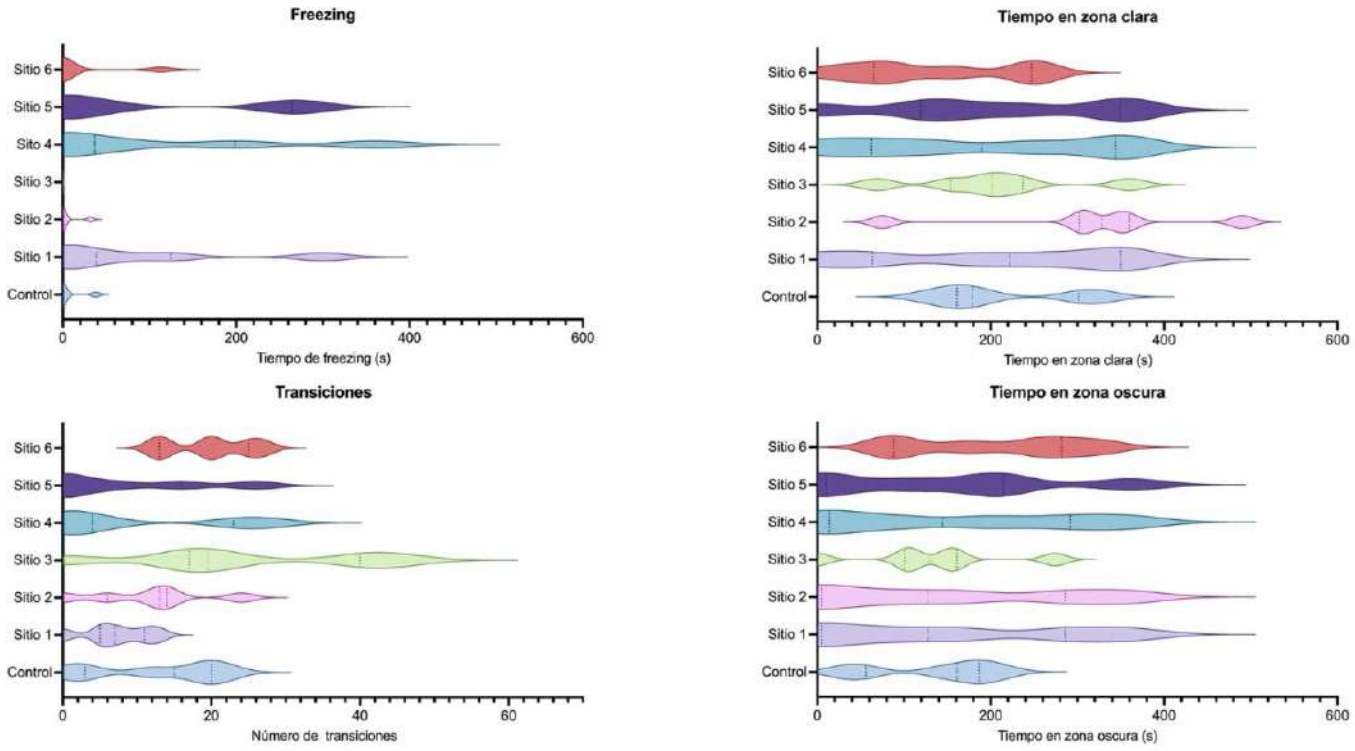


Figura 10. Prueba Dark & light.

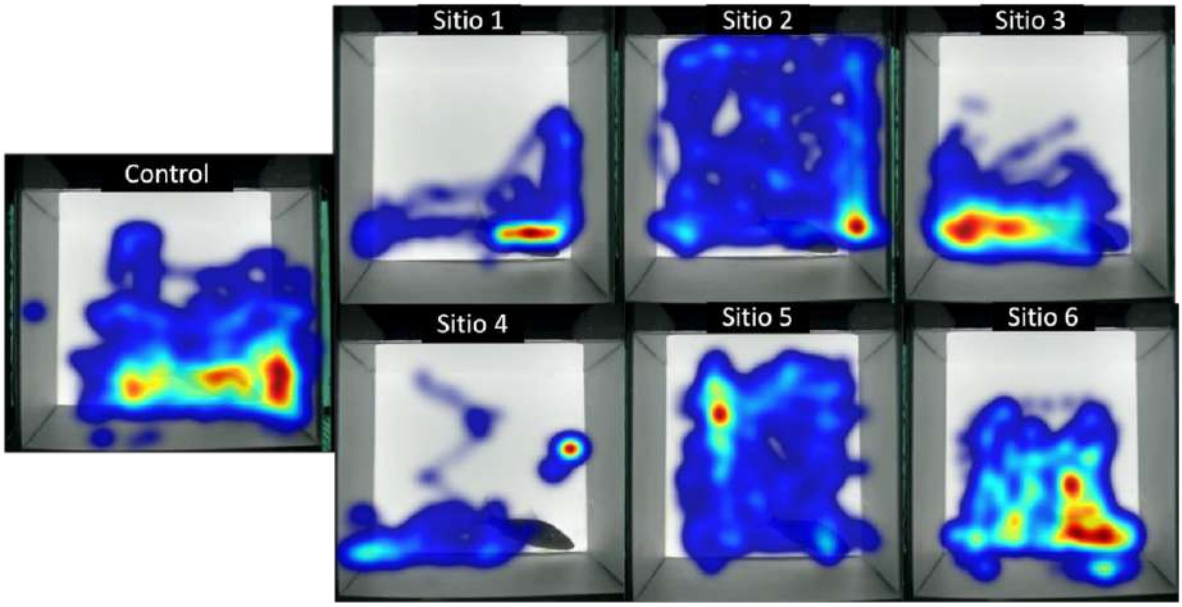


Figura 11. Novel Tank, gráficos representativos de la trayectoria de los peces.

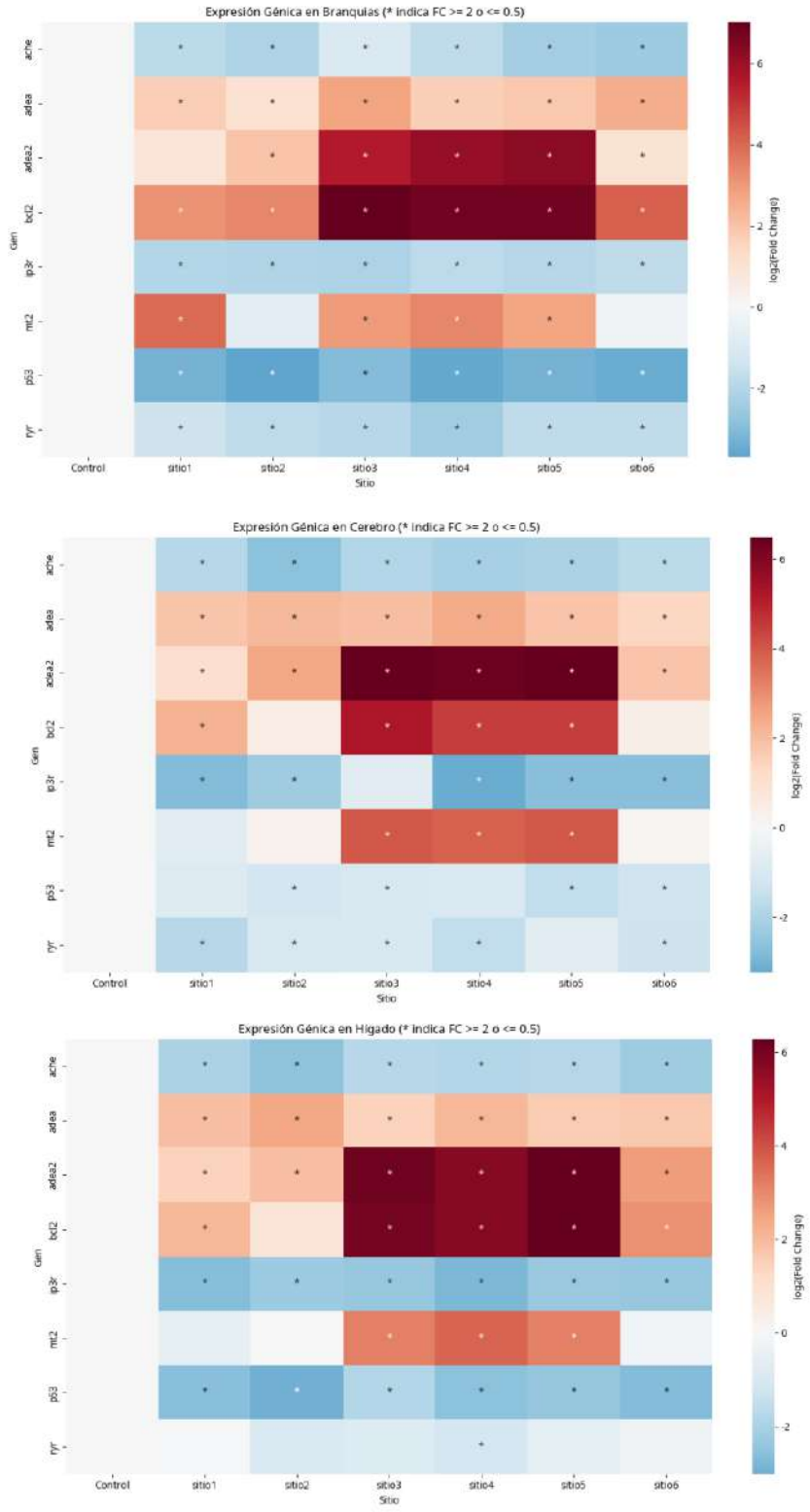


Figura 12. *Patrones de expresión génica de cada uno de los genes analizados en los órganos branquias, cerebro e hígado por sitio.*

9.7 Expresión génica

En los resultados del análisis de la expresión génica se determinó el patrón de transcripción de 8 genes. En la **Figura 12** se observa que los genes en colores azules se subexpresaron, mientras que los genes en rojo se sobreexpresaron, las muestras con asterisco son aquellas que presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control ($p < 0.05$), para esta gráfica los nombres de los genes para los receptores de adenosina se sintetizaron como adea (receptor de adenosina de tipo A1) y adea2 (receptor de adenosina de tipo A2a). En el caso de los genes que codifican para las vías de señalización de calcio ip3r y ryr se observó un patrón de represión en la expresión génica de ambos con respecto al grupo control en todos los órganos ($p < 0.05$), lo cual sugiere una alteración sostenida de la homeostasis de Ca^{2+} inducida por contaminantes ambientales. La expresión génica del receptor de adenosina tipo A1 presentó una inducción en todos los sitios evaluados con respecto al grupo control ($p < 0.05$), lo que indica la presencia de un estrés ambiental capaz de activar rutas de catabolismo de nucleótidos y señalización, también hubo inducción significativa ($p < 0.05$) en la expresión del receptor de adenosina de tipo A2a, que es el más destacado pues mostró una respuesta masiva en los sitios 3, 4 y 5, lo que sugiere un estado de estrés fisiológico capaz de activar rutas de control del eje adenosinérgico y de remodelación metabólica. En cuanto a los resultados de los genes tp53 y bcl2, claves el control de células dañadas y en la respuesta apoptótica, respectivamente, la combinación de la expresión de p53 de reprimida y la de bcl2 sobreexpresada con respecto al grupo control ($p < 0.05$), implica que hay un desplazamiento del balance hacia supervivencia celular y la acumulación de lesiones o la supervivencia de células con alteraciones, además la diferencia en la expresión de los genes por sitio implica que no todos los puntos de muestreo tienen la misma carga/mezcla de contaminantes. En los resultados para el gen mt2, el patrón observado fue el aumento significativo ($p <0.05$) de la transcripción de este gen en cerebro e hígado de los sitios 3, 4 y 5 y en las branquias del sitio 1, 3, 4 y 5, lo cual es consistente con la presencia de metales en el agua de la presa, activando vías de defensa

celular asociadas a detoxificación y homeostasis metálica como mt2. Mientras que, en las muestras de hígado y cerebro de los sitios 1, 2 y 6 no se encontraron diferencias con respecto al grupo control, ni en las branquias de los sitios 2 y 6, lo cual nuevamente nos indica que la toxicidad no es homogénea en todos los sitios de la presa. Finalmente, el patrón de expresión del gen AChE muestra represión significativa ($p < 0.05$) en todos los sitios y en todos órganos, con lo cual disminuye la producción de la enzima AChE, favoreciendo la acumulación de acetilcolina y una sobreestimulación continua de los receptores colinérgicos, su inhibición es un biomarcador de exposición a pesticidas. En los cambios en los patrones de expresión por sitio se observó un incremento coordinado de los genes receptor de adenosina de tipo A2a, bcl2 y mt2 en los sitios 3, 4 y 5; mientras que en los sitios 1, 2 y 6 los genes se comportaron de manera más similar al grupo control, aunque con ligeras variaciones. Finalmente, el sitio 6 es el que más se asemeja al grupo control, con menores alteraciones en la expresión génica.

10. Discusión

En la presa Villa Victoria se encuentra una mezcla compleja de compuestos contaminantes, entre ellos metales como Cr, Pb, Cd, Al y Fe, estos dos últimos en concentraciones superiores a las permitidas por la NOM-127-SSA1-2021, se ha reportado la toxicidad en estudios individuales de estos metales para la vida acuática. Además, su toxicidad depende del pH, la temperatura y la presencia de ligandos inorgánicos y orgánicos como los otros contaminantes que se encuentran en la presa. En aguas con pH cercano a 6 su toxicidad aumenta debido a su polimerización (Das & Ray, 2022), en el momento del muestreo en el embalse el pH del agua en 4 de los sitios fue de 6.5. También se cuantificaron 4 pesticidas: malatión, diazinón, endosulfán y dimetoato, este último es el único que tiene un LMP en la norma y lo supera en dos de los sitios. Los compuestos farmacéuticos cuantificados fueron: naproxeno, carbamazepina, trimetoprima, sulfametoxazol, ranitidina, metformina y su derivado, cianoguanidina. Haciendo la comparación por sitios de muestreo los resultados indican que el sitio 4 presentó la mayor carga de

contaminantes en general, en este sitio se presentan las concentraciones más altas de los plaguicidas diazinón y dimetoato, así como de los fármacos metformina y trimetoprima. Los sitios 3 y 5 son segundos con mayor carga contaminante, estos mostraron concentraciones elevadas de pesticidas y contaminantes farmacéuticos, en algunos casos siendo las mayores del estudio. Por su parte el sitio 2 destacó principalmente por la presencia de metales, mientras que el sitio 1 presentó una carga contaminante moderada. Finalmente, el sitio 6 registró la menor carga contaminante general. La mezcla de estos compuestos es compleja y varía entre los sitios de muestreo, la exposición de los organismos a esta mezcla provocó aumento en el tiempo de inmovilidad, estrés oxidativo, aumento de células micronucleadas, daño histológico y cambios en los patrones de expresión de genes relacionados con las vías de apoptosis, homeostasis del calcio y procesos sinápticos.

El metabolismo de los metales tiene además diferentes interacciones entre ellos mismos. Una de estas relaciones es que el Fe estimula la expresión del transportador de Zn, lo que aumenta su absorción (Andrews, 1999), sin embargo, el exceso de Fe puede inhibir la absorción de Zn mediante competencia directa. De manera similar, el Fe puede influir en la toxicidad del Cr, dependiendo de su forma química, ya que participa en la reducción del Cr(VI), altamente tóxico, a Cr(III), que es relativamente no tóxico (Ouahb et al., 2025). Por su parte, el hierro (Fe), aunque esencial para la respiración celular en los animales y catalizador de ciertas reacciones bioquímicas, es tóxico en dosis altas. En el estudio de (Ouahb et al., 2025), se encontraron altos niveles de Fe en *Cyprinus carpio* (46.77 mg/kg), estos altos niveles, a su vez podrían afectar la biodisponibilidad de zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mn), cromo (Cr) y aluminio (Al). Estas interacciones se han estudiado en ecosistemas acuáticos, ya que podrían influir en la absorción, toxicidad y acumulación de metales en los tejidos de los peces, puesto que el hierro compite con Zn^{2+}, Mn^{2+} y Cu^{2+} por transportadores intestinales como el Transportador de Metales Divalentes 1 (DMT1), responsable de la absorción de metales esenciales en vertebrados (Andrews, 1999; Ouahb et al., 2025). En nuestro estudio no se midió la concentración de metales directamente en los órganos, pero los efectos como

estrés oxidativo y cambios en la expresión génica podrían estar relacionados con la exposición a la mezcla de metales presente en el agua de la presa.

Entre los contaminantes presentes en la PVV se encuentran metales pesados como Cd, este metal como contaminante juega un rol en las vías de señalización de calcio, ya que su radio atómico, cuando se encuentra en su forma catiónica libre, es bastante similar al del calcio. Esta característica facilita su captación en los ionocitos branquiales a través de los canales de calcio, al ser el cadmio un potente inhibidor de la bomba Na+, K+-ATPasa en la membrana basolateral del enterocito y en las células de cloruro del epitelio branquial. La inhibición de la bomba impide la entrada de calcio en el sistema circulatorio y aumenta la concentración intracelular de calcio, lo que provoca una retroalimentación negativa que reduce la ingesta de más calcio, este mecanismo resulta en una fuerte hipocalcemia en los peces (Ferro et al., 2021), la actividad de la Ca^{2+}-ATPasa se inhibe como resultado de la disminución de la concentración de Ca^{2+} en sangre, lo que puede deberse a que el Cd se une competitivamente a los canales de calcio en las branquias tras la exposición al Cd (Y. Liu et al., 2022). En la Presa Villa Victoria las concentraciones de Cd, se encuentran por debajo del límite permisible por la normativa, su presencia en la mezcla podría explicar los efectos en la expresión génica en los genes relacionados con el metabolismo del calcio como es *ryr, ip3r* y *bcl2*, sobre todo en branquias donde en todos los sitios se presentaron diferencias significativas con respecto al grupo control.

Otro de los metales que afecta esta vía de señalización es el Al, el cual aumenta la incapacidad de la célula para regular la entrada y salida de iones puede aumentar los niveles intracelulares de calcio, lo anterior está ligado a la expresión de los genes *ip3r, ryr,* ambos genes se subexpresaron en mayor medida en los órganos de los peces expuestos al agua de la PVV. La activación de estos receptores facilita la liberación de calcio de los depósitos intracelulares, alterando de la homeostasis del calcio intracelular (Casas-Hinojosa et al., 2025). Las concentraciones de Al presentes en la presa superan el límite permisible por la norma en todos los sitios,

por lo que su presencia en la mezcla podría estar contribuyendo a los efectos sobre los canales de calcio.

Por otro lado, la desregulación del calcio es un factor clave en la neurotoxicidad. La disminución en la expresión de genes involucrados en la señalización del calcio *ip3r* y *ryr* observada en los organismos estudiados podría alterar la homeostasis del calcio intracelular, impidiendo que este catión salga del retículo endoplásmico al citosol y despolarice la membrana de la neurona, evitando así la salida de los neurotransmisores, interrumpiendo la sinapsis y finalmente alterando el comportamiento en las pruebas de conducta. Además, las alteraciones en la homeostasis del calcio intracelular estimulan a las enzimas generadoras de ROS, como las NADPH oxidasas, lo que exacerba el estrés oxidativo, manifestándose principalmente como aumento de LPX, HPX y cambios en SOD/CAT (Fredholm et al., 2017), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en los biomarcadores de estrés oxidativo de los peces expuestos. El mecanismo de toxicidad propuesto para los estrés oxidativo se describe en la **Figura 15**.

El receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, IP3R, está codificado por el gen *ip3r,* es un componente central de la señalización de Ca^{2+} desde el retículo endoplásmico, integrando estímulos neuroendocrinos y respuestas a estrés celular, en los resultados obtenidos en este estudio se presentó un patrón de represión en la expresion del gen *ip3r* en los peces expuestos, lo cual sugiere una alteración sostenida de la homeostasis de Ca^{2+} inducida por la presencia de contaminantes ambientales y este efecto, al presentarse en todos los sitios indica que se trata del efecto robusto del efluente, más que una variación aleatoria. La represión de ip3r puede interpretarse de diferentes maneras, podría ser como mecanismo adaptativo para limitar liberaciones excesivas de Ca^{2+} y prevenir activación de rutas proapoptóticas dependientes de Ca^{2+}, o bien ser un indicador de disfunción por daño en retículo endoplásmico y/o mitocondria. En hígado, encargado de la detoxificación, hubo represión en la expresión de este gen, siendo esto relevante porque el hígado integra el procesamiento de xenobióticos y el metabolismo energético, ambos altamente dependientes de señales de Ca^{2+}, por lo que la

disminución marcada de *ip3r* es compatible con un estado de estrés del retículo endoplásmico y reprogramación transcripcional asociada, respuestas comunes ante exposición a contaminantes. En el caso de las branquias, que están directamente implicadas en el intercambio iónico con el exterior, por lo que los peces podrían estar presentando estrés fisiológico por exposición a la mezcla compleja de contaminantes en la PVV provocó la reducción de la expresión de *ip3r* (Ahumada-Castro et al., 2021; Parys et al., 2012; Wu & Chen, 2023). En la neurotoxicidad, la vía de homeostasis del calcio está relacionada con la presencia de pesticidas organofosforados y organoclorados, como el endosulfán, presente en la presa, el cual es neurotóxico por esta vía, ya que altera la excitabilidad de las membranas celulares a nivel de proteínas transportadoras de iones de K, Na^+ y Ca^{2+} (Arrova-Gonzales & Moreira-Chiriap, 2022). La presencia de este tipo de contaminantes, como los organofosforados y organoclorados, podría contribuir mediante este mecanismo de toxicidad a las alteraciones en la expresión de genes relacionados con la homeostadsis del calcio, así como en las alteraciones en las pruebas conductuales en los peces expuestos a la mezcla de contaminantes presentes en el agua de la presa.

El otro receptor clave es el de rianodina (*ryr*), el cual codifica un canal de liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico, esencial para la integración de señalización intracelular en procesos de excitabilidad, contracción, secreción y respuestas al estrés, la represión transcripcional de ryr observada en los peces expuestos sugiere una alteración de la homeostasis del Ca^{2+}, un eje mecanístico común en toxicología ambiental y la disminución de RYR puede interpretarse como un mecanismo compensatorio para limitar eventos de liberación exagerada de Ca^{2+} y prevenir sobrecarga cálcica, un disparador reconocido de disfunción bioenergética y señalización proapoptótica. La mayor represión del gen se presentó en branquias, que al ser el tejido más expuesto al ambiente acuático experimenta el impacto primario del efluente, la disminución sostenida de *ryr* podría traducirse en alteraciones de la señalización Ca^{2+} dependiente que regula transporte iónico, dinámica celular epitelial y respuestas neuroendocrinas locales. En contraste, hubo

un patrón más moderado en hígado y cerebro, lo que sugiere una respuesta amortiguada por capacidad de biotransformación; sin embargo, incluso cambios modestos en *ryr* pueden tener consecuencias sistémicas al modular red de Ca^{2+} que coordinan metabolismo, inflamación y respuestas adaptativas al estrés. Por otro lado, la variabilidad en la expresión del gen entre sitios, respalda la hipótesis de heterogeneidad espacial en la composición o concentración de contaminantes del efluente (Fill & Copello, 2002; Kobayashi et al., 2021; Van Petegem, 2012). Este hallazgo sugiere que *ryr* podría funcionar como biomarcador sensible para priorizar áreas de mayor riesgo biológico. El mecanismo de toxicidad propuesto para los contaminantes sobre los canales de calcio se describe en la **Figura 16**.

Como se mencionó anteriormente la alteración de la homeostasis del calcio favorece la formación de ROS. Sin embargo, los metales también son precursores de la formación de especies reactivas de oxígeno, como es el caso del aluminio, el cual se encuentra en altas concentraciones con respecto a lo establecido por la normativa en todos los sitios de la presa. El Al es considerado un metal no redox, pero en su forma oxidada Al (III) ejerce actividad prooxidante significativa (Capriello et al., 2021), causando estrés oxidativo mediante la producción de especies reactivas de oxígeno, a través de la reacción de Fenton y la inhibición de enzimas antioxidantes (Das & Ray, 2022). Además tiene la capacidad de desplazar el hierro intracelular, mediante la reacción de Fenton, desencadenando la producción de radicales hidroxilos, induciendo la oxidación de bases nitrogenadas del ADN (Quiroga-Santos et al., 2021). La presencia de este metal en la mezcla podría contribuir a la formación de especies reactivas de oxígeno y por lo tanto dicho efecto tóxico podría reflejarse en los biomarcadores de estrés oxidativo, como LPx, HPx y la actividad de SOD y CAT que aumentaron en los peces expuestos a la mezcla de compuestos del agua de la presa de manera significativa con respecto al grupo control en la mayoría de los sitios.

El Fe(II), como compuesto contaminante, es inestable en medios acuosos y tiende a reaccionar con el oxígeno molecular para formar Fe(III), en este proceso el oxígeno se reduce de forma incompleta para formar especies reactivas de oxígeno

(ROS), como el superóxido ($O_2 \cdot -$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($OH \cdot$) altamente reactivo, mediante la reacción de Fenton, lo que resulta en daño celular, estrés oxidativo y lesión tisular (Mohanty & Samanta, 2018). En un estudio, la exposición de *N. notopterus* a $FeCl_3$ a la concentración de 0.75 mg/L, durante 7 y 28 días indujo un aumento en los niveles de LPx, PC y producción de malondialdehído (MDA) en branquias e hígado, lo que sugiere que la presencia de este compuesto potenció la generación de ROS, causando daño oxidativo a los constituyentes celulares y a la integridad celular y disminuyendo la actividad de las enzimas antioxidantes, SOD, CAT, GPx, GR y GST, en ambos tiempos, en los tejidos hepático y branquial (Mohanty & Samanta, 2018). Aunque la concentración de Fe es menor en el agua de la presa, su presencia aunada al resto de compuestos contaminantes en la mezcla podría contribuir a la formación de especies reactivas de oxígeno a través de las reacciones Fenton.

Por otro lado, el Cd, otro metal presente en la PVV, produce una gran cantidad de radicales de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), lo que provoca una serie de reacciones de daño oxidativo como cambios estructurales en macromoléculas biológicas y, finalmente, cambios patológicos como daño estructural de la membrana celular por la reacción de peroxidación lipídica de la membrana celular donde se produce malondialdehído (MDA) (Y. Liu et al., 2022). Como mecanismo de defensa contra el estrés, se induce la expresión de múltiples tipos de genes bajo estrés por Cd, como los genes GR, CYP1A, MT y HSP relacionados con el estrés oxidativo, genes de enzimas antioxidantes, como CAT, SOD y GSH-Px, y genes relacionados con la vía de la apoptosis y como genes enzimáticos, como CAT, SOD y GSH-Px. En el estudio de Liu et al., 2022 se midieron los niveles de expresión de los genes de enzimas antioxidantes en el hígado de *Takifugu obscurus* expuestos a 0.001, 0.005 y 0.010 mg/L Cd, durante 7 semanas, los resultados mostraron que los niveles de expresión de los genes MN-SOD, MN-SOD, Cu/Zn-SOD y CAT en el hígado aumentaron significativamente, esto puede explicarse porque la toxicidad del cadmio inhibe las actividades de múltiples enzimas que contienen zinc y sulfhidrilo como SOD y GR, formando un complejo Se-Cd con selenio (Se) en la glutatión peroxidasa (GPx), o reemplaza al

Zn, el Cd también puede unirse a la metalotioneína favoreciendo el daño oxidativo (Liu et al., 2022). En los resultados de este estudio la concentración de Cd en el sitio 6 es igual a la concentración de 0.005 mg/L, por lo que podríamos atribuir que la presencia de este compuesto a concentraciones tanto menores, iguales y mayores a las presentes enn la mezcla de contaminantes presentes en el agua de la presa podrían causar un aumento en los biomarcadores de estrés oxidativo. En otro estudio, las enzimas antioxidantes, CAT, SOD y GPx de *C. carpio* aumentaron significativamente en respuesta a la exposición a cloruro de cadmio a la concnetración de 1.5 mg/L, lo que podría ser una respuesta antioxidante para reducir el estrés oxidativo, además reportaron un incremento significativo en los niveles de MDA con respecto a los peces control. El MDA es bien conocido como el principal indicador de estrés oxidativo (Al-Shawi et al., 2022). Las concentraciones de cadmio presentes en la presa son inferiores a la que se expusieron los organismos en el estudio mencionado, sin embargo su presencia en la mezcla, incluso a concentraciones menores, podría contribuir en la formación de especies reactivas de oxígeno.

Uno de los metales de mayor preocupación ambiental es el Pb, aunque se encuentra presente en la presa en concentraciones por debajo del límite permisible, Curcio, 2022, reportó ser causante de efectos moleculares y morfológicos inducidos por dos concentraciones ambientalmente relevantes **(**0.0025 y 0.005 mg/L) en las branquias de *Danio rerio*, además de cambios en la actividad de SOD confirmando que la producción de especies reactivas de oxígeno es un importante mecanismo de toxicidad del Pb. En los resultados de la presa, las concentraciones aunque están por debajo del límite de la norma, están dentro del rango de exposición en el estudio anterior, por lo que incluso a concentraciones dentro de la normativa la presencia de este metal podría contribuir a los efectos tóxicos de la mezcla.

Un importante grupo de contaminantes presentes en la PVV fue el de los pesticidas, debido a que este cuerpo de agua se encuentra en una zona rural, donde se llevan a cabo actividades agrícolas en las zonas aledañas al embalse. Es importante mencionar que, los pesticidas presentes en la PVV se encuentran en

concentraciones menores a su nivel de saturación, que tiene un rango de disolución entre 1 a 100,000 mg/L, por lo que permanecen en el agua, en el caso de los pesticidas organoclorados, como endosulfán, por su carácter apolar son menos solubles en el agua. Se ha estudiado que estos compuestos son causantes de estrés oxidativo, a través de favorecer el aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno (Arrova-Gonzales & Moreira-Chiriap, 2022). Diazinón ha sido reportado como causante de estrés oxidativo, al generar ROS (Sánchez-Aceves et al., 2024). El daño al ADN también puede atribuirse a la capacidad del endosulfán para generar ROS de forma dependiente del tiempo y de la concentración (Khisroon et al., 2021). En los resultados de nuestro estudio se cuantificó la presencia de 4 pesticidas en la mezcla, de los cuales solo dimetoato está regulado por la normativa y se encuentra en dos de los sitios en concentraciones superiores a las establecidas por la norma, este tipo de compuestos, de acuerdo con estudios previos, podrían causar estrés oxidativo y genotoxicidad tanto de manera individual como en este caso formando parte de la compleja mezcla del agua de la presa.

Los fármacos como contaminantes de ambientes acuáticos han demostrado ser causantes de efectos adversos en peces. Algunos de los que mayormente se consumen en el mundo están presentes en el agua de la PVV, como sulfametoxazol (SMX). Este fármaco indujo estrés oxidativo en branquias, intestinos e hígado de *Cyprinus carpio* después de 14 días de exposición a concentraciones de 10-100 µg/L; los efectos en los sistemas de defensa antioxidante enzimáticos se relacionaron con la sobreexpresión de algunas actividades enzimáticas de estrés oxidativo, en las branquias, el estrés oxidativo fue más intenso debido a que este tejido es el primer órgano en contacto con el medio; en hígado solo se detectaron algunas actividades enzimáticas antioxidantes y también la sobreexpresión de la enzima transaminasa, involucrada en los procesos de desintoxicación, lo que sugiere alteraciones en los hepatocitos (Gheorghe et al., 2021). En otro estudio realizaron una exposición a SMX y TRIM donde encontraron un aumento significativo en la actividad de CAT y GST después de la exposición a todas las concentraciones de SMX, pero aumentó con la concentración, lo cual indica que las enzimas de defensa antioxidante previenen eficazmente la peroxidación lipídica a

bajas concentraciones de SMX; sin embargo, su actividad fue insuficiente a mayores concentraciones, con respecto a los resultados de TRIM, se observó una disminución significativa en la actividad de CAT (Diogo et al., 2024). En comparación con los resultados obtenidos en nuestro estudio, las concentraciones de este fármaco están en el rango de las empleadas en el estudio de Gheorghe et al., 2021, las cuales, aunque el tiempo de exposición en ese estudio fue mayor, podríamos atribuir parte de los efectos oxidativos de la mezcla a la presencia de SMX. Además, TRIM, demostró causar menor impacto tóxico en estudios individuales, sin embargo, ambos fármacos inmersos en una mezcla conpleja como la de la presa podrían contribuir a la toxicidad del agua.

Uno de los fármacos más comunes para el tratamiento de diabetes en México es metformina, la cual en un estudio realizado en el organismo *Clarias gariedepinus* demostró que a la concentración de 50 mg/L indujo estrés oxidativo en las células al reducir las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y la capacidad antioxidante total (CAT) (Zheng et al., 2024). Por otro lado, este fármaco ha sido reportado como causante de estrés oxidativo en *Labeo rohita*, a las concentraciones de 40 y 80 µg/L (Sibiya et al., 2023). A pesar de que las concentraciones presentes en la PVV son menores los efectos de esta en la mezcla podrían verse potenciados.

En los resultados de este estudio se presentaron diferencias estadísticamente significativas (p <0.05) en las pruebas de estrés oxidativo, en la cantidad de LPX se presentaron diferencias en todos los sitios y en todos los órganos, la actividad de las enzimas SOD y CAT aumentaron y se presentó un incremento en la cantidad de HPX en los sitios 1-5, siendo el sitio 6 el más cercano al grupo control en otras pruebas de este estudio. Estos datos son de interés ya que las pruebas de estrés oxidativo han demostrado ser de utilidad en la toxicidad acuática, como un posible mecanismo de acción para varios contaminantes (Capriello et al., 2021) que, al encontrarse en mezclas complejas como en el agua de la PVV, podrían ser causantes de los efectos oxidativos en los peces. El mecanismo de toxicidad propuesto para estrés oxidativo se observa en las **Figuras 13 y 15**.

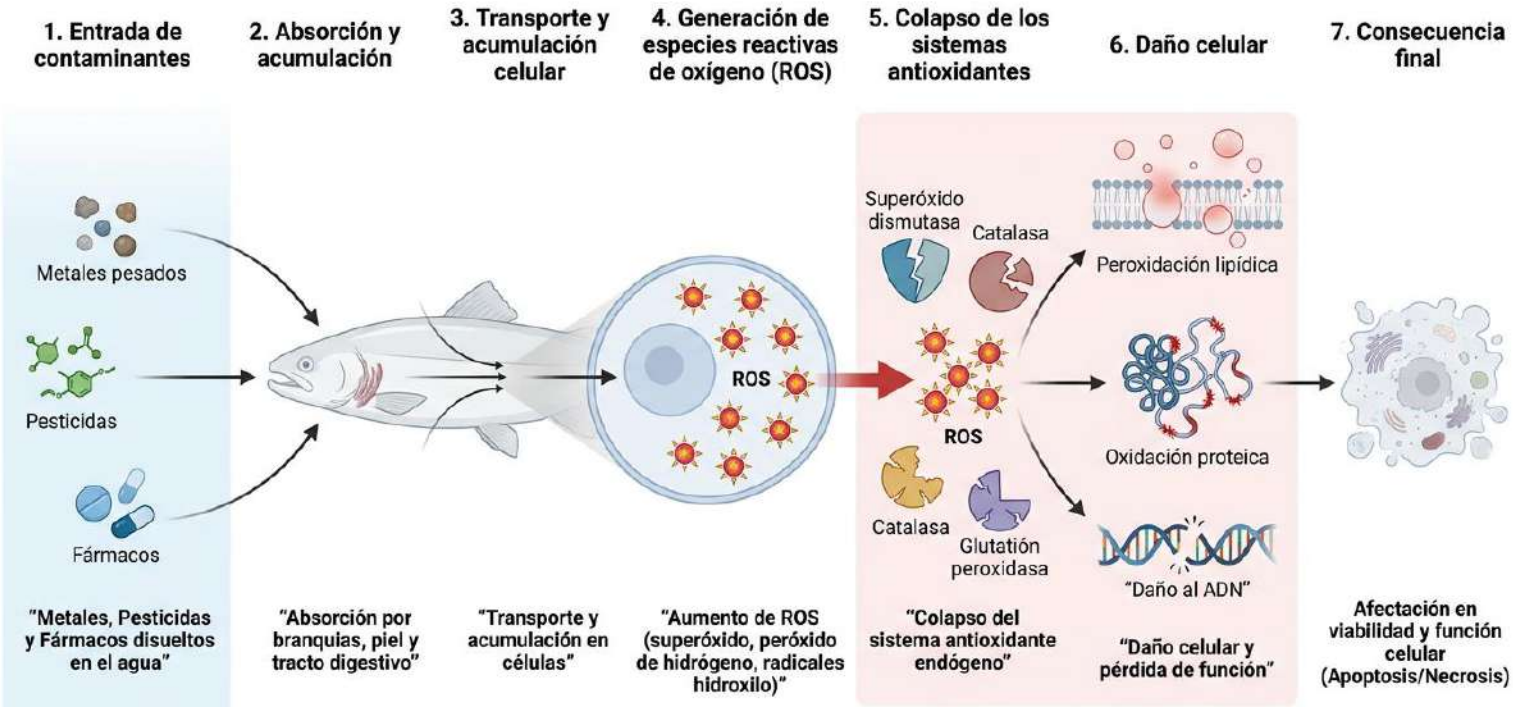


Figura 13. Mecanismo de estrés oxidativo en peces expuestos a contaminantes.

Además de los efectos anteriormente reportados, uno de los bioindicadores específicos para los metales como causantes de efectos tóxicos, es la expresión del gen de la enzima metalotioneína 2 (*mt2*), todos los metales parecen estimular la inducción del gen MT2 como mecanismo de defensa, ya que esta enzima participa en el transporte y almacenamiento de metales y desempeña un papel protector contra sus efectos tóxicos al reducir la concentración de iones metálicos libres (Castaldo et al., 2020), también es un efector clásico de respuesta a estrés oxidativo. El patrón observado en el presente estudio evidencia que la exposición a efluentes de la PVV podría inducir la transcripción de MT2 en branquias, cerebro e hígado, lo cual es consistente con una señal ambiental que activa vías de defensa celular asociadas a detoxificación y homeostasis metálica. La respuesta en branquias destaca por una inducción extrema en el sitio 1 y una inducción alta adicional en sitios 3, 4 y 5, esto es compatible con el papel de las branquias como órgano diana primario, donde el epitelio está expuesto directamente al agua y, por

ende, a la fracción biodisponible de metales y otros pro-oxidantes del efluente. Un pico tan marcado en un sitio específico sugiere heterogeneidad espacial en la carga contaminante o en su especiación, ligada a variaciones locales de descarga, materia orgánica disuelta o parámetros fisicoquímicos que modulan complejación/absorción. En cerebro la induccíon del gen *mt2* fue mayor en los sitios 3, 4 y 5 lo cual puede ser una respuesta compensatoria a los niveles elevados de ROS, ya que el aumento de la expresión de *mt2* permite que los metales presentes en la PVV se unan a ellos, protegiendo así a las células del daño (Yang et al., 2024). En cuanto a los resultados en hígado fueron similares a los presentados en cerebro, mostrando una inducción mayor en los peces expuestos a los sitios 3, 4 y 5, lo que sugiere un componente sistémico robusto asociado a captación, distribución y biotransformación de contaminantes, esto es compatible con un escenario donde el hígado responde a una carga interna de xenobióticos/metales suficiente para activar programas transcripcionales de protección, además la ausencia de un pico como el que se presentó en las branquias en sitio 1 podría reflejar diferencias en cinética: una exposición intensa y localizada puede manifestarse primero en branquias, funcionando como un sensor especialmente sensible de exposición puntual; mientras que el hígado refleja la fracción efectivamente absorbida y procesada, modulada por transporte y metabolismo.

La enzima MT2, codificada por el gen *mt2*, desempeña un rol importante en la desintoxicación de metales, por lo que el aumento en la expresión de este gen, sobre todo en los sitios 3, 4 y 5, puede ser una respuesta compensatoria ante la elevación de ROS en los tres órganos, ya que si aumenta la expresión de MT2 los metales presentes en la PVV se unen a esta y se protege a las células del daño (Yang et al., 2024). Por otro lado, si alguno de los metales contaminantes reemplaza al Zn de la metalotioneína se inhibe esta enzima, causando daño oxidativo (Liu et al., 2022). Castaldo et al., 2021, reportaron la inducción del ARNm de MT2 en branquias e hígado tras la exposición a Cd. En comparación, en los resultados de este estudio las carpas expuestas presentaron aumento en la expresión del gen *mt2* para tres de los sitios de la presa en las branquias y para cuatro sitios en el hígado,

lo cual indica que la mezcla de contaminantes presentes en estos sitios en particular podría desencadenar una respuesta para la desintoxicación por metales.

El aluminio (Al) es extremadamente tóxico para los peces, y se encontró en la PVV en concentraciones hasta tres veces superiores al límite permisible. Su presencia en agua dulce, induce hipoxia, provocando una disfunción reguladora y respiratoria iónica y osmorreguladora, debido a su acumulación en la superficie a polimerización del Al (Das & Ray, 2022), esto cuando el Al se acumula en las células cloradas de las láminas branquiales primarias y precipita en el citoplasma celular, en estas circunstancias, la proliferación celular aumenta para reemplazar las células dañadas, lo cual podría estar causando los efectos histopatológicos que se presentaron en las branquias como hiperplasias y fragmentación del tejido.

El Fe, al igual que el Al, causa problemas respiratorios en peces, porque tiene la capacidad de unirse a la superficie alcalina de las branquias y oxidarse a Fe(III) insoluble, este cubre las branquias e induce daño epitelial e interrupción de la respiración, lo cual podría causar el daño histológico en tejido branquial de este estudio.

El cromo (Cr) fue otro de los metales presentes en la presa, aunque en concentraciones que no superan el límite permisible, su importancia en este estudio radica en su potencial de acumulación en organismos acuáticos. La forma más tóxica es el cromo hexavalente (Cr(VI)), el cual atraviesa fácilmente las membranas celulares, para luego reducirse a la forma trivalente que se combina con varias macromoléculas, incluyendo material genético dentro del citosol, alterando el comportamiento, la fisiología, la citología, la histología y la morfología (Ali et al., 2021). En el estudio de Ali et al., 2021, expusieron organismos de *C. carpio* a $CrCl_3$ a 3.41 mg/L, se observó una diferencia significativa en el nivel de aspartato aminotransferasa (AST) y la alanina aminotransferasa (ALT), enzimas hepáticas que miden la hepatotoxicidad y los cambios histopatológicos, lo anterior es congruente con los resultados obtenidos en los tejidos de este estudio. Aunque la

concentración presente en la presa es inferior, al presentarse en mezcla con otros compuestos, como el Fe, puede aumentar su potencial tóxico (Ouahb et al., 2025).

Otro metal presente en la PVV es el Cd, la exposición a este metal en *Danio rerio* reportó daño en las branquias, al ser estas el primer órgano con el que tienen contacto los contaminantes, a través de éstas los peces absorben continuamente iones durante la respiración. Estos iones se acumulan primero en las células superficiales del tejido branquial y luego se transportan a través de la sangre a diversos órganos o tejidos; pero el efecto tóxico comienza en la estructura del tejido branquial, provocando inflamación, apoptosis, necrosis, incluso alterando la estructura de las células branquiales (Liu et al., 2022), lo cual también ocurrió en las carpas expuestas a agua de la presa, además de encontrarse en una mezcla compleja con otros metales y compuestos que podrían estar interactuando y potenciando estos efectos en otros órganos como el hígado.

El plomo (Pb), fue encontrado en la presa en concentraciones inferiores a la norma, sin embargo, en esta concentración se han reportado efectos tóxicos para organismos acuáticos, debido a su alta toxicidad y tendencia a la bioacumulación. En el caso de los peces de agua dulce, el Pb se absorbe principalmente a través de las branquias, donde se produce la mayor acumulación (Habib et al., 2024), causando estrés oxidativo, daño histológico y cambios en patrones de expresión génica. Curcio et al., 2022, en el análisis histológico reportaron cambios patológicos notables en branquias, dependientes de la dosis como del tiempo. En el estudio de Habib et al., 2024 reportaron un aumento en la actividad de las enzimas hepáticas ALT y AST, tras la exposición al Pb(NO3)2, estas enzimas suelen ser indicativas de estrés o daño hepático, las concentraciones fueron 19.33, 3.66 y 58.0 mg/L durante 10 y 20 días, ya que el hígado desempeña un papel crucial en la desintoxicación por exposición a metales al superar su capacidad se provoca daño celular y liberación de enzimas hepáticas. Lo cual coincide con los resultados de nuestro estudio, donde la presencia de plomo en la mezcla podría, aunado a los demás contaminantes presentes, causar el estrés oxidativo, daños histológicos y cambios en la expresión génica que se presentaron en los organismos expuestos.

Otro grupo de contaminantes presentes en la PVV es el de los pesticidas, entre ellos estuvo presente el organofosforado diazinón. En el estudio de Tang et al., 2021, expusieron peces de *C. carpio* a 300 mg/L de este pesticida, encontraron daño histológico como lesiones evidentes en las branquias y el hígado de las carpas, entre ellas una ligera fusión e hiperplasia en las branquias, desde el primer día de exposición, a partir del séptimo día las células de los peces tratados mostraron láminas branquiales, exfoliación de los filamentos branquiales, hiperplasia del epitelio y fusión de las láminas branquiales, en general los daños histopatológicos hepáticos, incluyeron necrosis, vacuolas grasas, hipertrofia de los e hinchazón de los hepatocitos. Estos daños histológicos fueron similares a los encontrados en el presente estudio, aunque las concentraciones de diazinón en la PVV son menores podrían aumentar por la mezcla presente en el cuerpo de agua.

En otro estudio evaluaron la toxicidad aguda del dimetoato en alevines de *Cyprinus carpio*, los cuales fueron expuestos durante 24, 48, 72 y 96 h para determinar los valores de CL50 que fueron 1.84, 1.78, 1.68 y 1.61 mg/L, respectivamente, concluyendo que el dimetoato es altamente tóxico para los alevines de carpa común y afecta gravemente su fisiología y comportamiento (Singh et al., 2009), estas concentraciones son mucho mayores a las reportadas en nuestro estudio, que fueron en el rango de 0.0124 - 0.006 mg/L, sin embargo su presencia en la mezcla puede contribuir a la toxicidad de la misma.

El grupo de fármacos con presencia en el agua de la PVV, fue amplio y entre ellos se encontró naproxeno, un AINE. La exposición a este fármaco ha demostrado ser causante de alteraciones histológicas en los tejidos hepático y renal de *C. carpio* expuestos, esto se puede explicar debido a que los cambios en la producción de NO podrían ser una causa que contribuya a la toxicidad, ya que el óxido nítrico desempeña un papel crucial en la energía mitocondrial, la regulación del estrés oxidativo y la respuesta inmunitaria, pues se ha demostrado que el NO influye en la función mitocondrial al modular la actividad de la citocromo c oxidasa y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), por otro lado, encontraron efectos histopatológicos en hígado, entre ellos, forma celular anormal, vacuolización

citoplasmática, degeneración citoplasmática y nuclear, ruptura celular, núcleo picnótico, necrosis, melanomacrofagos deslizantes, hipertrofia nuclear y celular (Shaalan et al., 2025), estos resultados demuestran que las carpas expuestas a 14.40 µg/L de naproxeno presentaron efectos histopatológicos en hígado similares a los presentados en los peces expuestos al agua de la PVV, esto, aunque las concentraciones de naproxeno en el agua de la presa son mucho menores, sin embargo, sus efectos en la mezcla pueden contribuir a la toxicidad general. En otro estudio, observaron alteraciones en el tejido de las branquias de *C. carpio* por exposición a NP en la concentración de 100mg/L, incluyendo hiperplasia apical, hiperplasia de la membrana basal, infiltración de células sanguíneas, acortamiento de las láminas secundarias, protrusión del epitelio, edema de células escamosas, fusión de láminas secundarias y aneurisma; la hiperplasia e hipertrofia de células epiteliales y la fusión de algunas láminas secundarias son mecanismos de defensa que generalmente conducen a un aumento de la distancia entre el ambiente externo y la sangre (Naderi et al., 2021), por otro lado la fusión y la hiperplasia se producen debido al aumento de las divisiones mitóticas en las capas epiteliales branquiales por la exposición a compuestos externos letales (Karlsson-Norrgren et al., 1985), además, la acumulación de glóbulos rojos en las láminas secundarias se debe a la destrucción de las células pilares capilares. Lo anterior es consistente con los resultados de este estudio, aunque los efectos también pueden deberse a la compleja mezcla de compuestos.

Metformina fue otro contaminante presente en la PVV, este compuesto, en un estudio en tejido hepático de alevines de trucha marrón expuestos a metformina reportaron hepatocitos pequeños con baja cantidad de glucógeno (Jacob et al., 2018). Lo anterior se relaciona con los efectos histológicos en tejido hepático presentes en los peces expuestos al agua de la presa, en la mezcla este fármaco podría estar contribuyendo a la toxicidad del agua.

En la PVV también se encontró la presencia de ranitidina, un fármaco altamente tóxico que incluso ya se ha prohibido alrededor del mundo. En organismos acuáticos se no se han reportado efectos adversos agudos en el desarrollo ni en el

comportamiento sobre los embriones de *D. rerio*, a las concentraciones habituales en aguas dulces superficiales (0.1, 1.0, 10 y 100 mg/L), las cuales son incluso superiores a las de la PVV, no obstante, no se puede descartar la contribución de estos fármacos a la toxicidad general de mezclas complejas presentes en los ecosistemas acuáticos (Godoy et al., 2019).

El daño histológico debido a la presencia de contaminantes se presentó de diferentes formas. Se observaron cambios en el tejido de cerebro en los peces expuestos como necrosis, infiltración de células inflamatorias, espongiosis, distorsión de la arquitectura del tejido y pérdida del tejido (en orden de frecuencia), esto concuerda con los resultados de Okogwu et al., 2022, que reportaron el mismo tipo de daños en peces juveniles de *C. gariepinus* expuestos a cuatro combinaciones de diferentes de cipermetrina con dimetoato: 0.75/ 6.25 µg/L; 0.9/ 7.5 µg/L y 1.13/ 9.3 µg/L, respectivamente. Por otra parte, se presentaron incremento de vasos capilares, edema, vacuolización y degeneración tejido conectivo (en orden de frecuencia), la vacuolización y el edema están asociados con alteraciones de la homeostasis del calcio y el estrés oxidativo, que a su vez desencadenan necrosis neuronal y apoptosis (Ye et al., 2020). En las lesiones del SNC se involucraban células granulares y células gliales asociadas a somas neuronales, los cuales presentan cambios degenerativos y muerte celular, posiblemente relacionados con fenómenos de apoptosis, corresponden a líneas celulares pertenecientes al sistema inmune y regulan la dinámica de reparación. Además, median algunos procesos vasculares importantes, generándose interrogantes sobre el efecto de dichos xenobióticos en el sistema inmune y su interacción con el tejido nervioso (Argüello-Rangel et al., 2015). En el cerebro de los peces expuestos se presentó un aumento de células gliales, posiblemente como resultado de la activación de una respuesta inmunitaria para la reparación de las lesiones. El daño histológico observado se alinea con alteraciones del comportamiento, incluyendo un aumento de la congelación y reducción de la actividad locomotora (De Carvalho et al., 2019; Santos et al., 2023); además de relacionarse con la sobre expresión del gen *bcl2* y la inhibición en la expresión *p53*,

ya que dicha combinación favorece la acumulación de lesiones y evita la apoptosis, de esta forma prevalecen en el tejido cerebral las células dañadas.

Los cambios histopatológicos identificados en hígado, tras la exposición a malatión (1.56, 3.12, y 6.25 µg/L) en el estudio de Ortiz-Delgado et al., 2021, fueron los siguientes: alteración de la arquitectura parenquimatosa, contracción hepatocelular y dilatación vascular severa, dan la apariencia de una estructura esponjosa con espacios vacíos que reemplazan el parénquima hepático, los hepatocitos perdieron su forma poligonal, adquiriendo una apariencia redondeada y basófila, también presentaron núcleos picnóticos, se observaron alteraciones de la vasculares, congestión de los vasos sanguíneos, así como necrosis y patrones de apoptosis en los hepatocitos, estos cambios en el tejido hepático, como necrósis y núcleos picnóticos también se presentaron en las carpas expuestas al agua de la PVV. En lo que se refiere a las anomalías en las branquias observaron una desorganización estructural del núcleo central del cartílago, la estructura anatómica branquial característica no se mantuvo debido a la desorganización del eje central de soporte del cartílago, los filamentos y láminas branquiales aparecieron conglutinados, inclusive se detectaron signos de hiperplasia, hipertrofia y fusión lamelar, las láminas secundarias perdieron su red típica de células pilares y capilares, también observaron evidencias de aneurismas y congestión de los vasos sanguíneos, levantamiento epitelial, dilatación e hinchazón del epitelio lamelar secundario, desprendimiento de células pilar. Estas alteraciones afectaron el epitelio respiratorio que recubre tanto las láminas primarias como secundarias y pueden tener diversas consecuencias en la capacidad de osmorregulación. Estos daños podrían estar mediados por vías de apoptosis y necrosis (Ortiz-Delgado et al., 2021), daños histológicos similares a los que se encontraron tanto en hígado como en branquias de las carpas expuestas al agua de la PVV, lo que es consistente con las concentraciones de malatión de ambos estudios, pues se encuentran dentro del mismo rango, aunque las especies y en etapas de desarrollo son diferentes.

Además, este tipo de contaminantes presentes en la PVV, como lo pesticidas organofosforados y organoclorados son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa

(AChE), la inhibición de esta provoca la acumulación del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en la sinapsis, interrumpiendo la transmisión normal de señales neuronales. En un estudio, analizaron los efectos a la exposición a tres concentraciones de malatión, 1.56, 3.12 y 6.25 µg/L, evaluando los patrones de inhibición de AChE inducidos por malatión a los 13, 20 y 30 días post-eclosión en larvas de *Solea senegalensis*. La exposición provocó una reducción del 49.02% en la actividad de AChE a la concentración más alta en todos los tiempos. La transcripción de AChE mostró aumentos en el día 11 a la exposición de 3.12 µg/L y el día 15 en las tres concentraciones de exposición. De forma contraria, hubo disminuciones transcripcionales en etapas postlarvales, el día 30 en la concentración más alta (Ortiz-Delgado et al., 2021). Comparado con este estudio, las concentraciones de malatión presentes en la presa se encuentran en el mismo rango de ese estudio, aunque los tiempos de exposición fueron menores, en contraste en nuestro estudio la transcripción del gen *ache* dismunuyó en todos los órganos y todos los sitios, lo cual podría atribuirse a que se trata de especies diferentes y en distintas etapas de desarrollo.

En estudios con donde se exponen organismos a este tipo de compuestos se ha presentado la disminución de la actividad de la AChE, lo cual podría ser consecuencia del control transcripcional, por lo que el gen que la codifica se ha utilizado como biomarcador específico para pesticidas, donde los resultados han demostrado que los niveles de ARNm de la AChE disminuyen significativamente tras la exposición a pesticidas, lo que sugiere que una disminución de la actividad de la AChE (Xing et al., 2010). La acetilcolinesterasa desempeña un papel crucial en la interrupción de la transmisión sináptica en las sinapsis entre neuronas del sistema nervioso central y en las uniones neuromusculares de vertebrados mediante la hidrolización del neurotransmisor acetilcolina, su inducción puede considerarse una respuesta adaptativa a un entorno alterado; por consiguiente, su inhibición podría provocar daño celular y toxicidad (Xing et al., 2013). En el estudio de Xing et al., 2013 reportaron una disminución en los niveles de ARNm del gen de AChE en hígado y branquias de *Cyprinus carpio* tratados con otro pesticida organofoforado clorpirifos. Los resultados del estudio mencionado anteriormente

sugieren que la alteración de la AChE por los mismos xenobióticos varia entre tejidos de los peces, por un lado, la alteración de la AChE en el hígado esté involucrada en la función fisiológica hepática, ya que el hígado transporta selectivamente compuestos endógenos y exógenos de la circulación para acumularlos, metabolizarlos o desintoxicarlos mediante diversos sistemas de transporte; los resultado de ese estudio indicaron que la toxicidad conjunta de la mezcla de atrazina y clorpirifos aumentó en comparación con la cada uno por separado, lo cual puede indicar que los efectos de estos pesticidas puede verse potenciado en mezclas con otro tipo de compuestos como lo están en la PVV. En los peces expuestos al agua de la presa, la expresión del gen AChE tanto en hígado como en branquias disminuyó con respecto al grupo control, lo que indica que esta subexpresión, como en el estudio de Xing et al., 2010, podría ser causada por la exposición a los pesticidas inhibidores de la AChE presentes en el agua y que también varia entre tejidos de los peces, se expresó ligeramente más en branquias que en hígado, y entre los sitios de exposición, siendo el sitio 2 en el que se presentó una menor expresión en el hígado y en el sitio 5 donde se presentó la menor expresión del gen en las branquias. Xing et al., 2010 evaluaron los efectos de ATR, CPF y su mezcla sobre los niveles de ARNm de AChE en el cerebro y observaron una disminución significativa (<0.05) en organismos de *C. carpio* expuestos a ATR (4.28, 42.8 y 428 mg/L), CPF (1.16, 11.6 y 116 mg/L) y su mezcla (1.13, 11.3 y 113 mg/L), por lo que el control transcripcional puede causar alteraciones en la actividad de la AChE, es decir, una disminución en la expresión de AChE podría estar implicada en el efecto inhibidor del tóxico. La AChE se ha utilizado como biomarcador específico para pesticidas, ya que la inhibición de la AChE por presencia de organofosforados y organoclorados provoca una sobreestimulación de los sistemas nerviosos central y periférico, produciendo efectos neurotóxicos nocivos en los organismos (Xing et al., 2010). Lo anterior concuerda con nuestros resultados, ya que también en cerebro se presentó una disminución en la expresión del gen que codifica para AChE, lo cual a su vez podría estar relacionado con los efectos visibles en los cambios en la conducta de los organismos reflejando así la neurotoxicidad de la mezcla.

Además de los pesticidas, también la presencia de metales puede tener efectos sobre AChE en peces, en el estudio de Al-Shawi et al., 2022, la actividad hepática de AChE redujo significativamente en *C. carpio* después de la exposición a cloruro de cadmio. Liu et al., 2024, examinaron los cambios en la actividad de AChE y descubrieron que la neurotoxicidad causada por Pb + As, es causante de daño cerebral y alteraciones en el sistema colinérgico, es decir, la combinación de metales es aún más tóxica que en su forma individual, lo cual está ocurriendo en los peces expuestos al agua de la presa.

También en la presencia de fármacos se han reportado cambios en la actividad de AChE, después de la exposición a SMX y TRIM la actividad de AChE disminuyó significativamente en todas las concentraciones a las que se expusieron los organismos (Diogo et al., 2024), los resultados obtenidos en ese estudio, aunque son en larvas de *D. rerio,* indican un efecto tóxico por la presencia en cada uno de los fármacos, pero en el caso del SMX las concentraciones son muy inferiores a las encontradas en la presa, pero en el caso de TRIM es lo contrario, las concentraciones de la presa son inferiores a las que se usaron en el estudio de Diogo, 2024, sin embargo la presencia de estos compuestos en el agua puede contribuir en la toxicidad de la mezcla. En el estudio de Yang et al., 2019, la actividad de la AChE se redujo drásticamente en peces *Carassius auratus* tratados con sulfametoxazol.

La presencia de contaminantes farmacéuticos y organofosforados en ecosistemas acuáticos reduce la actividad de AChE en el cerebro, y esta inhibición se correlaciona con la cantidad acumulada de contaminantes (Arrova-Gonzales & Moreira-Chiriap, 2022; Basha et al., 2012; J. Liu et al., 2017). La enzima acetilcolinesterasa (AChE), es responsable de la inactivación del neurotransmisor acetilcolina y desempeña un papel crucial en las sinapsis entre neuronas del sistema nervioso central y las uniones neuromusculares de vertebrados mediante la hidroxilación del neurotransmisor acetilcolina, su inhibición podría provocar daño celular y toxicidad (Deb & Das, 2013; Khan & Law, 2005; Xing et al., 2013), así como podría tener efectos sobre el comportamiento de los organismos. Cualquier

interrupción en la actividad de la AChE provoca la acumulación de acetilcolina y el consiguiente bloqueo de la transmisión de señales (Fulton & Key, 2001). Se han reportado interrupciones en el patrón de nado, alimentación y comportamiento reproductivo como consecuencias de la transmisión de señales interrumpida por acetilcolina (Dos Santos Miron et al., 2005; Kavitha & Rao, 2008; Pavlov et al., 1992). Lo anterior se relaciona con nuestros resultados ya que esta disminución en la expresión de AChE en cerebro podría relacionarse con la interrupción de señales sinápticas, posiblemente causando los episodios de freezing en las pruebas de conducta de los organismos expuestos.

El sistema nervioso y el mecanismo de respuesta neurológica de los organismos acuáticos son sensibles a diversos contaminantes, como pesticidas, metales pesados y algunos fármacos (Kim et al., 2010). Algunos autores han reportado modificaciones en la actividad reflejada y motora en peces dorados a consecuencia de la exposición a dosis subletales de organoclorados (Arrova-Gonzales & Moreira-Chiriap, 2022). Das and Ray, 2022, expusieron alevines de *C. carpio* a aluminio y reportaron diversos comportamientos anormales, como natación errática, actividad opercular rápida y secreción excesiva de moco. Sanna et al., 2021, observaron cambios en el comportamiento de *C. carpio* como pérdida del equilibrio corporal, hundimiento hasta el fondo, natación lateral, movimiento de natación rápido, hiperexcitabilidad, aumento del movimiento del opérculo, secreciones mucosas y debido al estrés, algunos peces intentaron saltar fuera del acuario, después de exponerlos a 9.58 μg/L de ensosulfán. Además, la disminución en la expresión de los genes de AChE y la consiguiente acumulación de ACh en las sinapsis exacerban la hiperexcitabilidad neuronal, lo que promueve comportamientos similares a la ansiedad y afecta la capacidad de los peces para responder a estímulos externos. Estos efectos son ecológicamente significativos, ya que la reducción de la actividad exploratoria, el aumento de la inmovilidad y las conductas de evasión podrían afectar funciones ecológicas clave de *C. carpio*, como la búsqueda de alimento, escape de depredadores y la reproducción en entornos contaminados (Costa et al., 2020). Los resultados de el presente estudio concuerdan en que se presentaron cambios en la conducta de los peces expuestos del sitio 4, donde el tiempo de

inmovilidad aumentó con respecto al grupo control, lo cual podría atribuirse a la mezcla compleja de metales, pesticidas y fármacos capaces de causar neurotoxicidad.

Los metales y sus compuestos tienen efectos negativos en el sistema nervioso de los peces, interfieren en los procesos de transmisión sináptica, así como en la plasticidad sináptica, además tienen la capacidad de interactuar con dianas específicas en las vías sinápticas; por ejemplo, el aluminio bloquea los canales de calcio dependientes de voltaje e inhibe la ATPasa de calcio, lo que provoca una disminución en la liberación de los neurotransmisores excitatorios glutamato y aspartato y provoca un aumento en la liberación del neurotransmisor inhibidor ácido γ-aminobutírico (GABA), lo cual se puede observar también en los resultados tanto de expresión génica de los canales de calcio y los receptores de adenosina, como en el aumento de tiempo de freezing en los peces expuestos (Basim et al., 2021).

Los fármacos también han provocado efectos en el comportamiento de peces expuestos. Zheng et al., 2024, expusieron especímenes de *Danio rerio* a 1, 10, 100, 1000 y 10 000 ng/L de metformina, que son concentraciones dentro del rango encontrado en el agua de la presa VV, la actividad motora se vio afectada y varios genes involucrados en el desarrollo neurológico y cardiovascular se expresaron de forma diferente tras la exposición. Sin embargo, Jacob et al., 2018, no reportaron cambios en el comportamiento natatorio de los peces por metformina. Godoy et al., 2019, también demostró que el comportamiento natatorio del pez cebra no se vio afectado por la metformina en concentraciones comparables de 50 y 500 µg/L. En los resultados de este estudio pudimos observar diferencias significativas en ambas pruebas de conducta, tanto Novel tank como Dark & Light, en el parámetro de freezing, en la primera hubo diferencia significativa en el sitio 4 únicamente, siendo este uno de los sitios mayormente afectado en las demás pruebas; mientras que en la segunda prueba las diferencias se presentaron en los sitios 1, 4 y 5, siendo el sitio 4 el más afectado en ambas pruebas. Atribuyendo esto a que es el sitio donde se presentó la concentración máxima reportada de 3 de los 4 pesticidas cuantificados, además de que los sitios 4 y 5 son los más cercanos a las zonas

agrícolas del municipio. Estos patrones de comportamiento son característicos de las respuestas ansiogénicas inducidas por contaminantes (Casas-Hinojosa et al., 2025). El mecanismo de neurotoxicidad propuesto se describe en la **Figura 17**.

Continuando con los efectos de los pesticidas como el endosulfán, presente en la PVV, el cual es un contaminante orgánico persistente (Khisroon et al., 2021). Sus efectos tóxicos en organismos acuáticos han sido reportados en diferentes estudios como el de Sanna et al., 2021, donde evaluaron la frecuencia de micronúcleos en los sangre de *C. carpio* que mostraron un aumento significativo ($p < 0.05$) en de los peces tratados en comparación con el grupo control, la mayor frecuencia de micronúcleos se registró en el grupo tratado con la concentración de 4.22 % de endosulfán (Sanna et al., 2021), la inducción de micronúcleos en las células sanguíneas se debe al efecto genotóxico de los contaminantes (Tripathy, 2020).

También los fármacos presentes en la PVV han causado efectos genotóxicos, en un estudio evaluaron citotoxicidad y la genotoxicidad de trimetoprima (TRIM), en células de gónada-2 de trucha arcoíris (RTG-2) en una exposición de 48 h, lo cual mostró una inducción dependiente de la concentración de daño al ADN, a la concentración de 100 µg ml/L, para el ensayo micronúcleos (MN) encontraron una correlación significativa entre la inducción de MN y la concentración de TRIMP, el estrés oxidativo podría contribuir a los efectos tóxicos observados, siendo las células de los peces en general más sensibles a los efectos genotóxicos (Papis et al., 2011). Peces expuestos a 80 µg/L de metformina presentaron daño grave al ADN, lo que implica que la metformina es bastante genotóxica (Sibiya et al., 2023).

En el estudio de Quiroga-Santos, 2020, reportaron incremento en la frecuencia de micronúcleos después de 48 h de exposición, esto debido a la capacidad de Al de establecer enlaces con grupos sulfhidrilo de enzimas y grupos fosfato de los ácidos nucleicos, este metal presente en el agua de la presa, en concentraciones superiores a las permitidas por la norma, puede contribuir en el potencial genotóxico de la mezcla. En los resultados de este estudio se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de células micronucleadas en los sitios 1-5, siendo mayor el procentaje en los peces expuestos al agua del sitio 2, lo cual puede

atribuire a la mezcla de compuestos que han demostrado ser genotoxicos en estudios previos. El mecanismo de genotoxicidad propuesto está descrito en la **Figura 14**.

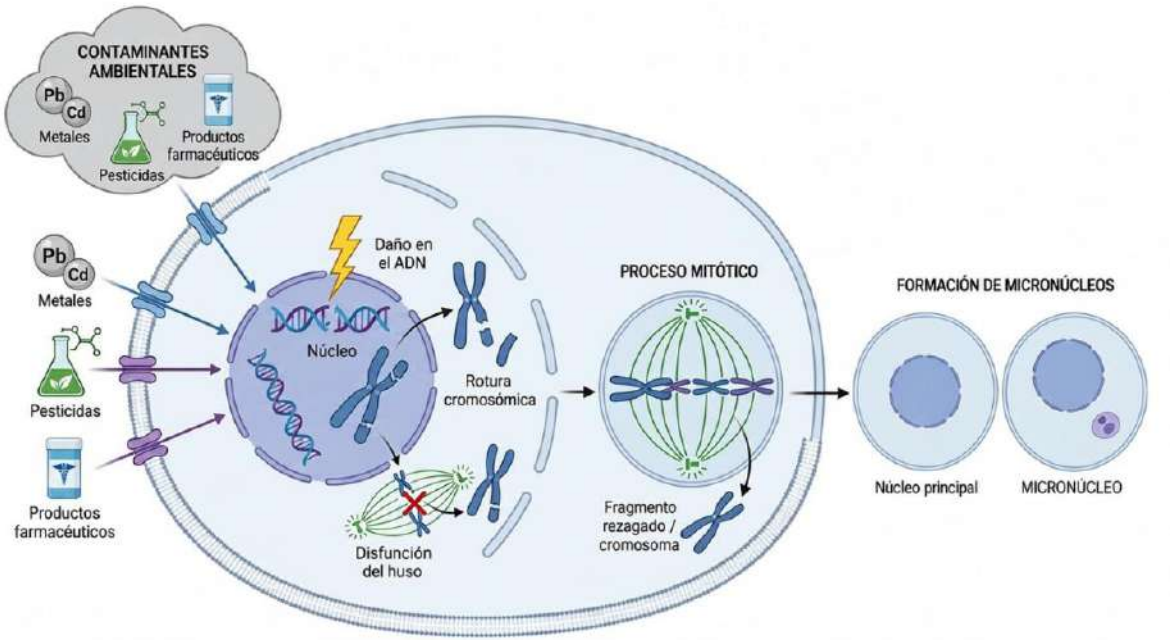


Figura 14. Mecanismo de genotoxicidad y formación de micronúcleos por exposición a contaminantes presentes en la PVV.

Los procesos de regulación de la apoptosis, mediados por los genes *p53* y *bcl2*, fueron evaluados mediante la expresión de los mismos en este estudio. Los compuestos presentes en el agua de la presa podrían ser causantes de la desregulación de este proceso. Chen et al., 2006, reportaron citotoxicidad y aumento de los procesos apoptóticos en líneas celulares de carpa tratadas con malatión en un rango de concentraciones de 0.62 a 95 mg/L, superiores a las encontradas en la PVV que van en el rango de 0.00124- 0.00624 mg/L.

En los resultados se encontró una respuesta en el patrón de expresión de los genes *p53*, reprimido y *bcl2*, sobreexpresado, lo cual tiene implicaciones importantes: 1) Desplazamiento del balance hacia supervivencia celular, la caída de *p53* reduce la capacidad de detener el ciclo y eliminar células dañadas, mientras que el aumento de *bcl2* refuerza una señal antiapoptótica, esto es compatible con una respuesta

adaptativa a exposición crónica: el tejido prioriza mantener integridad estructural y funcionalidad metabólica, incluso bajo estrés químico persistente; 2) Riesgo de persistencia de daño subletal, si el efluente induce estrés oxidativo/daño al ADN un eje *p53* deprimido puede favorecer la acumulación de lesiones o la supervivencia de células con alteraciones, en un marco de salud ambiental, esto se asocia a efectos subletales y potencial incremento de susceptibilidad a patologías proliferativas a largo plazo; 3) Evidencia de heterogeneidad espacial del impacto, es decir, los picos de expresión en *bcl2* que fueron muy marcados en sitios 3, 4 y 5 apuntan a que no todos los puntos de muestreo tienen la misma mezcla de contaminantes, por otro lado, el hecho de que branquias presenten los máximos más extremos respalda su rol como órgano diana primario y como buen sensor de exposición. Estos resultados sugieren que el efluente de la PVV no solo altera genes aislados, sino que podría reprogramar ejes centrales de homeostasis celular. En conjunto, el perfil observado es consistente con un estado de estrés donde predomina la citoprotección y la supervivencia sobre la eliminación de células potencialmente dañadas (Jordan et al., 2012; NCBI, 2025).

Capriello et al., 2021, reportaron que la exposición a Al indujo un aumento en la apoptosis a nivel de la cabeza y la cola, especialmente en los organismos expuestos a la concentración más baja (50 µM AlC3), mientras que aquellos expuestos a dosis más altas exhibieron una disminución en el número de células apoptóticas, lo que concuerda con los resultados obtenidos en los organismos expuestos al agua de la PVV, ya que incluso en la presa las concentraciones de Al son superiores. Sanchez-Aceves et al., 2024, mostraron que el agua de la presa PVV afecta al desarrollo embrionario del pez cebra afectando el equilibrio redox celular y la expresión génica de *p53, bcl-2, bax, nrf1, nrf2* y *casp-3*.

En este estudio también se evaluaron los genes receptor de adenosina tipo A1 y receptor de adenosina de tipo A2a, relacionados con las rutas de control del eje adenosinérgico. El receptor de adenosina tipo A1, cataliza la conversión de adenosina a inosina, actúa como mediador extracelular asociado a estrés metabólico, hipoxia, inflamación y daño tisular; por ello, cambios en la transcripción

de receptor de adenosina tipo A1 pueden reflejar una reprogramación que integra metabolismo energético e inmunorregulación. En este estudio, la inducción consistente de receptor de adenosina tipo A1 en branquias e hígado en todos los sitios evaluados apoya la presencia de un estímulo ambiental persistente capaz de activar rutas de catabolismo de nucleótidos y señalización asociada a estrés. La respuesta más intensa fue branquias, en el sitio 3, lo que es coherente con el papel de este tejido como principal interfaz con el medio acuático, la elevada inducción en branquias sugiere que receptor de adenosina tipo A1 podría servir como biomarcador sensible de exposición y de impacto temprano en el órgano diana primario. Mientras que en hígado, la inducción, que fue máxima en sitio 2, es consistente con el rol hepático en biotransformación y detoxificación, procesos que incrementan la demanda energética y pueden generar especies reactivas de oxígeno, el metabolismo de purinas y la regulación de adenosina se integran estrechamente con el estado redox y la inflamación; por tanto, el aumento de receptor de adenosina tipo A1 en hígado sugiere una respuesta sistémica que acompaña al procesamiento de xenobióticos y a la reorganización metabólica inducida por el efluente. Por otro lado, en cerebro también hubo un aumento en la expresión del receptor, la cual fue mayor en el sitio 4. La discrepancia entre el sitio de máxima respuesta en branquias (sitio 3), en hígado (sitio 2) y cerebro (sitio 4) apoya que los efectos del efluente no solo dependen de la exposición, sino de la composición química local y de la cinética tisular. Esta sobreexpresión de receptor de adenosina tipo A1 puede interpretarse como una respuesta adaptativa para modular señales de adenosina vinculadas a estrés e inmunidad y para sostener el recambio de nucleótidos asociado a reparación y remodelación tisular. En conjunto, los resultados sitúan a receptor de adenosina tipo A1 como un candidato plausible para integrar un panel de genes centinela para monitoreo ecotoxicológico de efluentes, especialmente en combinación con marcadores de estrés oxidativo y disrupción celular (Sheth et al., 2014).

Por otro lado el gen receptor de adenosina de tipo A2a, encargado de la desaminación de adenosina. En este contexto, puesto que la adenosina extracelular tiende a acumularse bajo condiciones de hipoxia, estrés oxidativo, daño tisular e

inflamación, actuando como señal pleiotrópica que regula permeabilidad vascular, quimiotaxis y tono inmunológico, la fuerte inducción de receptor de adenosina de tipo A2a observada tras la exposición al efluente sugiere que los peces están experimentando un estado de estrés fisiológico capaz de activar rutas de control del eje adenosinérgico y de remodelación metabólica (Stockwell et al., 2017). El patrón es particularmente informativo en los sitios 3, 4 y 5 donde se muestra la mayor inducción en ambos tejidos, lo cual sugiere una heterogeneidad espacial de la carga o composición del efluente. En branquias, la inducción marcada de receptor de adenosina de tipo A2a puede reflejar activación de programas de defensa y renovación tisular del epitelio respiratorio/osmorregulador ante insulto químico continuo mientras que en hígado, la respuesta del mismo orden de magnitud respalda que el impacto se extiende más allá del sitio de entrada, involucrando procesos sistémicos asociados a detoxificación, demanda energética elevada y señalización inflamatoria. En cerebro la tendencia fue la misma, se presentó una mayor expresión en los sitios 3, 4 y 5. La diferencia con sitios donde hubo una inducción moderada y la respuesta diferencial en sitio 6 en los tres órganos sugieren que el nivel de receptor de adenosina de tipo A2a no solo depende de la concentración ambiental, sino también de la biodisponibilidad de los contaminantes y de la cinética tisular. Además, la coincidencia de inducción máxima en sitios 3–5 en ambos tejidos refuerza su utilidad para priorizar zonas de mayor impacto biológico dentro del sistema de muestreo.

Por otro lado, estos receptores son particularmente importantes en el cerebro, por lo que la sobreexpresión de los genes de los receptores de adenosina ade1a y ade2a, ambos receptores modulan la liberación de neurotransmisores en la sinapsis entre neuronas del SNC y motoneuronas, si estos se sobren activan no se lleva a cabo la sinapsis inhibiendo la actividad motora y modificando el comportamiento de los organismos. En los peces expuestos a efluentes de la PVV el gen con mayor expresión fue receptor de adenosina de tipo A2a, mostrando una respuesta importante en el cerebro de los peces expuestos al agua de los sitios 3, 4 y 5, siendo el marcador más sensible al cambio entre sitios, con una diferencia de magnitud muy superior al resto, mientras el gen ade1a también presentó un incremento

moderado en los mismos sitios. Investigaciones previas han sugerido que dicha sobreexpresión es una adaptación compensatoria para contrarrestar el bloqueo del receptor de adenosina (Stockwell et al., 2017). A nivel fisiológico, el aumento en la actividad del receptor de adenosina A1 disminuye la excitabilidad neuronal, deprimiendo al sistema nervioso simpático, inhibiendo la liberación de neurotransmisores excitatorios como el glutamato. Esta cascada puede provocar estrés oxidativo, disfunción neuronal y alteraciones del comportamiento (Chang et al., 2020).

Además, debemos destacar las diferencias presentadas en los biomarcadores de toxicidad observados de acuerdo con los sitios de exposición, siendo los sitios 3, 4 y 5 donde se observó un incremento en la expresión de receptor de adenosina de tipo A2a, *bcl2* y *mt2*, lo cual sugiere que estos sitios comparten una característica ambiental que dispara estos genes específicos. Mientras que los sitios 1, 2 y 6 se comportaron más similar al control, con ligeras variaciones, como un ligero aumento de receptor de adenosina de tipo A2a en el sitio 2. Precisamente, es en los sitios 2, 3 y 4 donde se cultiva *C. carpio* en el embalse con fines comerciales, por lo cual resulta de gran importancia atender la contaminación presente antes de que se vean afectadas las poblaciones de peces que ahí habitan. Finalmente, el sitio 6 es el que más se asemeja al control, lo que podría indicar que esta zona es la menos afectada, al ser la zona más profunda del embalse la concentración de los contaminantes disminuye, es la más cerca de la compuerta que la conecta al Sistema Cutzamala, sin embargo, de manera natural no habitan organismos de *C. carpio* en este sitio de la PVV. Esta interpretación sugiere que los sitios 3, 4 y 5 son los puntos de mayor interés biológico.

En cuanto a los efectos de acumulación de contaminantes en los tejidos de las carpas, diversos estudios han reportado que algunos de los metales y pesticidas presentes en la PVV se acumulan en peces. Por ejemplo, el aluminio, cuya presencia en los tejidos de los peces podría representar un riesgo a largo plazo para la salud pública (Ouahb et al., 2025). Por otro lado, el agroquímico endosulfán mostró una acumulación total de 0.0509, 0.0753 y 0.0800 ppm en las branquias de

C. carpio, en el tejido hepático de fue de 0.0833, 0.1184 y 0.1213 ppm durante 10, 20 y 30 días de exposición a una concentración de 0.005 ppm., de manera simultánea se observó una reducción del contenido proteico en el tejido muscular, con un porcentaje de reducción de 12.0, 11.9 y 13.9 durante 10, 20 y 30 días de exposición, respectivamente (Rajesh et al., 2023). Por lo que es importante continuar realizando estudios que complementen la información obtenida hasta ahora en los peces expuestos y determinar los posibles efectos adversos de la mezca de contaminantes presente en el agua de la presa.

La mezcla compleja de contaminantes presentes en el agua de la presa pudo ser causante de la generación excesiva de especies reactivas de oxígeno y superar los mecanismos antioxidantes celulares, promoviendo la oxidación de lípidos, proteínas y ADN, causando estrés oxidativo. Por consiguiente, el daño al material genético puede manifestarse mediante un incremento en la frecuencia de micronúcleos, evidenciando posibles efectos genotóxicos de la mezcla. Por otro lado, a nivel tisular, el daño oxidativo puede desencadenar alteraciones histopatológicas en branquias, hígado y cerebro. Estas afectaciones celulares y tisulares, a su vez, pueden reflejarse en cambios conductuales relacionados con la actividad locomotora y la respuesta al estrés. Finalmente, como mecanismo de respuesta y adaptación a la exposición química, los organismos pueden presentar modificaciones en la expresión de genes, lo que proporciona evidencia molecular de los efectos biológicos asociados a la contaminación ambiental observada en los sitios de estudio.

Aunque los estudios en cuerpos de agua en México son limitados, los resultados de este trabajo pueden contrastarse con aquellos reportados en otros sistemas acuáticos a nivel mundial caracterizados por la presencia de mezclas complejas de contaminantes. En el estudio de Drobac Backović et al., 2023, reportaron alteraciones histológicas en hígado, branquías y gonadas, además de parámetros de estrés oxidativo en carpa común después de la exposición a agua del estanque Hídvégi, en Hungría; las alteraciones hepáticas más pronunciadas observadas fueron una intensa vacuolización, pérdida de glucógeno y aclaramiento del

citoplasma. En algunos casos, se observaron alteraciones leves de la estructura parenquimatosa. Esta intensa vacuolización provocó un aumento significativo del tamaño de los hepatocitos, es decir, hipertrofia. En algunos hepatocitos, los núcleos estaban condensados y parecían picnóticos. En las branquias, las alteraciones más pronunciadas fueron la proliferación del epitelio interlamelar, que en muchos casos condujo a la fusión completa de las láminas, así como a la hipertrofia y elevación epitelial; en el hígado se presentó alteración de la estructura del parénquima hepático, el redondeo de los hepatocitos, la vacuolización, la hipertrofia y picnosis del núcleo del hepatocito, que puede estar asociada a la actividad genotóxica del agua y a la disminución de la capacidad de la proteína quinasa dependiente de ADN, estos efectos están causados por contaminantes que están constantemente presentes en el agua y potencialmente podrían tener un efecto crónico en los peces (Drobac Backović et al., 2023). En otro estudio, Nogueira et al., 2010, realizaron un análisis histopatológico del hígado de *D. labrax* y *L. Aurata*, y reportaron vacuolización citoplasmática de los hepatocitos, vacuolización de los hepatocitos con picnosis nuclear o cariomegalia, inflamación y degeneración de los conductos biliares asociada a un centro melanomacrófago y degeneración del tejido hepático asociada a un centro melanomacrófago, tras la exposición al agua de la zona costera del océano Atlántico en Portugal.

En cuanto a los estudios en la PVV, existen muy pocos, uno de ellos es el de Sánchez, 2024, cuyos resultados muestran que el agua de la presa afectó el desarrollo embrionario del pez cebra, afectando el equilibrio redox celular y la expresión génica de *p53, bcl-2, bax, nrf1, nrf2* y *casp-3*, los valores de CL50 a 96 h de los efluentes oscilaron entre el 44.04 % y el 93.73 %, los valores de CE50 entre el 35.12 % y el 76.10 % y los valores de índice teratogénico entre 1.03 y 1.47, lo que indica propiedades teratogénicas y una alta letalidad embrionaria, ese estudio concluyó que, si bien las sustancias individuales pueden presentar efectos mínimos, su presencia combinada en mezclas puede provocar una toxicidad considerable (Sánchez-Aceves et al., 2024). El otro estudio de la PVV es el de Hernández, 2024, que se realizó en el organismo *Cyprinus carpio* en su etapa embrionaria, donde se observó un aumento en la oxidación de lípidos y proteínas, así como una

modificación de la actividad enzimática CAT, SOD y GPx; además el GMS indicó un bajo desarrollo embrionario y un índice teratogénico inferior a 1, también observaron efectos teratogénicos como edema vitelino, malformación de las aletas, malformación de la cabeza y escoliosis; los organismos presentaron un aumento en la actividad de la AChE y su expresión génica y esto se refleja en el comportamiento de las larvas con cambios en la distancia recorrida, la actividad locomotora basal y la tigmotaxis en los puntos de muestreo (Hernández Díaz et al., 2024). Este último estudio permite contrastar los efectos tóxicos de la presa en diferentes etapas de desarrollo de una misma especie, *C. carpio*, en ambas se presentó un aumento en las pruebas de estrés oxidativo, mientras que difieren en la expresión de AChE que disminuyó en los organismos juveniles, además en las pruebas de conducta el parámetro que presentó alteraciones fue el de freezing, no así en las larvas.

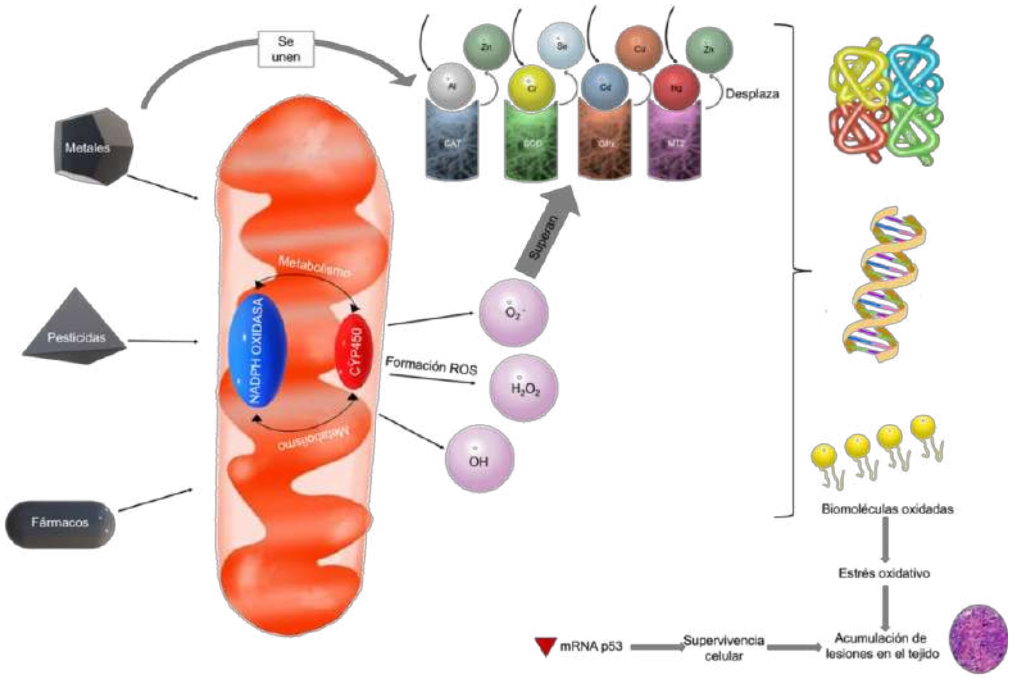


Figura 15. Mecanismo de toxicidad de estrés oxidativo.

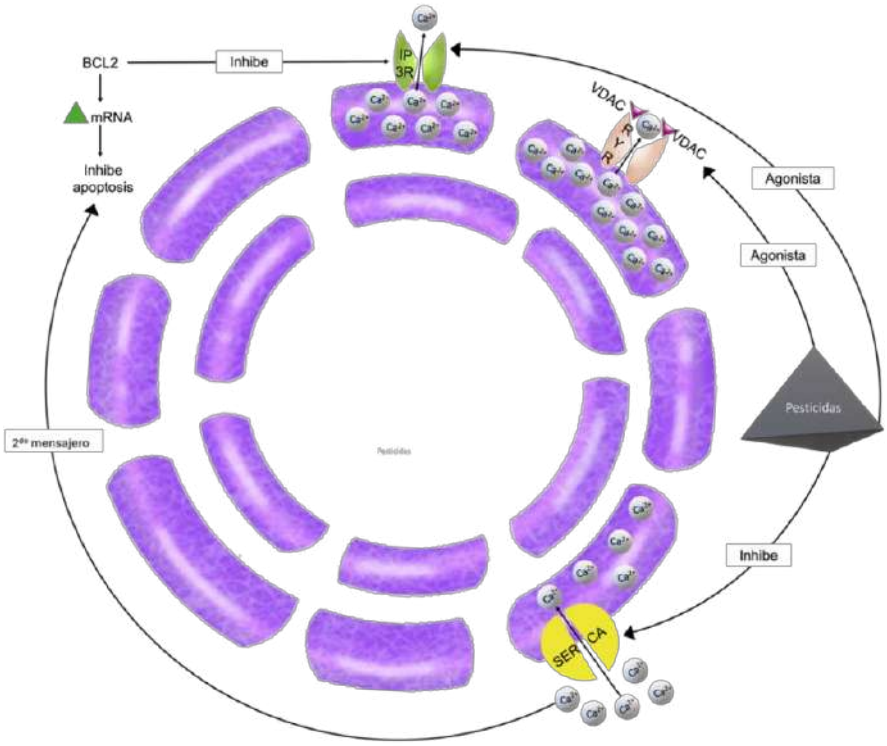


Figura 16. Mecanismo de toxicidad de los contaminantes sobre los canales de calcio.

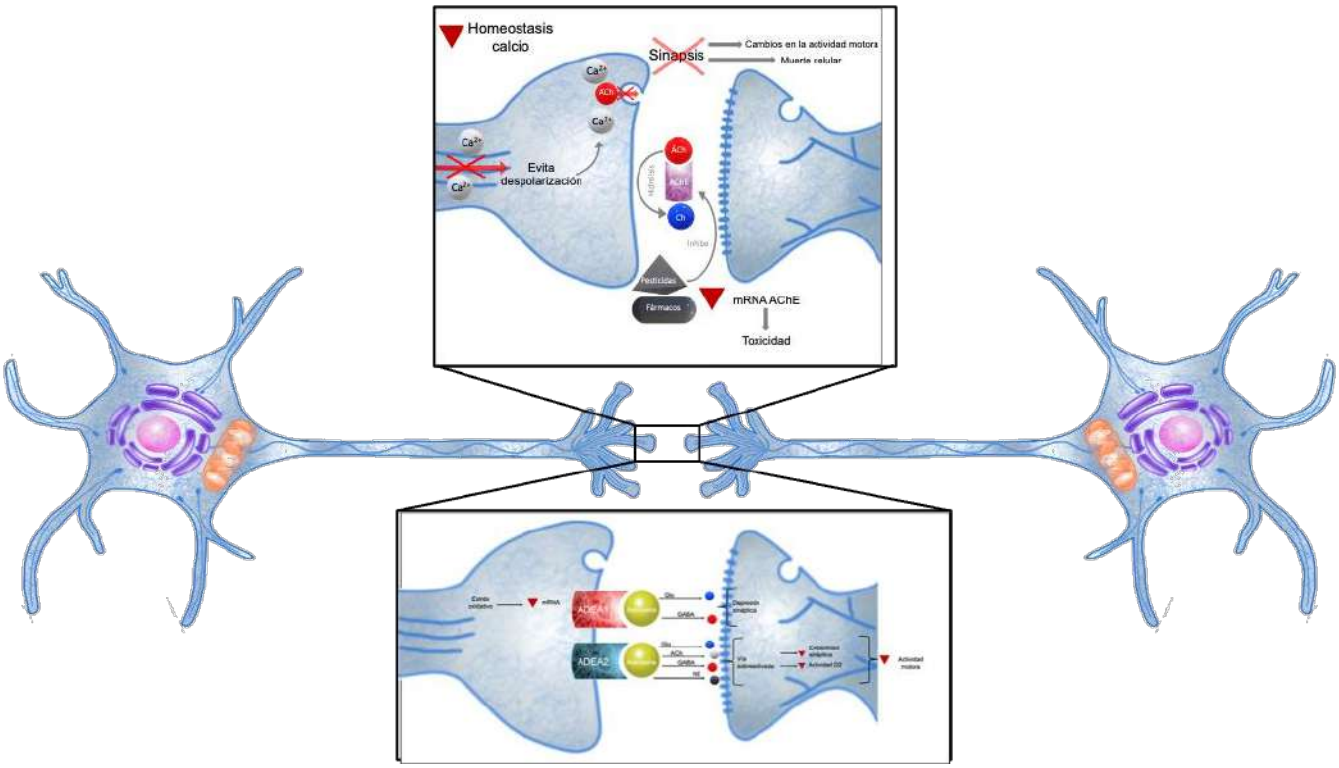


***Figura 17**. Mecanismo de neurotoxicidad de los contaminantes de la PVV.*

11. Conclusiones

La presa Villa Victoria es un cuerpo de agua destinado al abastecimiento público y de importancia económica por las actividades pesqueras que en ella se desarrollan, particularmente la carpa común (*Cyprinus carpio*), especie introducida al embalse por su relevancia en la alimentación de la población local.

La evaluación de la calidad del agua reveló la presencia de diversos contaminantes, incluyendo metales, plaguicidas y fármacos, en todos los sitios de muestreo analizados. Aunque la mayoría de los metales se encontraron por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-127-SSA1-2021, se detectaron concentraciones elevadas de aluminio en todos los sitios. Además, se identificó la presencia de pesticidas y fármacos, destacando los sitios 3, 4 y 5 por presentar las mayores concentraciones y diversidad de compuestos. Siendo el sitio 4 el que registró la mayor carga contaminante global y el sitio 6 presentó la menor.

Los resultados evidencian una contaminación química heterogénea entre los sitios de muestreo, todo el conjunto de compuestos presentes en la mezcla de agua de la presa podría representar un riesgo potencial para los organismos acuáticos y la salud humana.

Los resultados de este estudio muestran que el agua de la presa provoca efectos adversos a diferentes niveles biológicos, incluyendo daño oxidativo, en las pruebas de estrés oxidativo el órgano que presentó diferencias significativas en HPx, LPX, actividad de SOD y CAT fue el hígado, mientras que branquias, sangre y cerebro también presentaron diferencias significativas en las pruebas de HPx, LPx y SOD pero no en catalasa y ningún órgano presentó diferencias en la prueba de POx; en cuanto a las diferencias por sitio se presentaron en LPx, HPx, SOD y CAT en los sitios 1-5, destacando el sitio 2 con un mayor aumento de estrés oxidativo.

Por otro lado, el daño genotóxico en células sanguíneas tuvo un patrón similar al de estrés oxidativo presentando diferencias significativas en los sitios 1-5, destacando al 2 con mayor porcentaje de células micronucleadas.

Se presentó una mayor diversidad de lesiones histopatológicas en el tejido cerebral, seguido del hepático y fue menor la diversidad en tejido branquial, se presentaron mayor cantidad de lesiones en tejido cerebral en los peces expuestos al agua del sitio 5, mientras que para tejido hepático y branquial fue el sitio 1 el más afectado.

En cuanto a cambios en el comportamiento el sitio 4 fue el único que presentó diferencias significativas con el grupo control.

En los cambios en la transcripción de genes el órgano en el que más genes presentaron diferencias significativas con respecto al grupo control fueron las branquias, seguidas del cerebro y fue ligeramente menor para hígado; el sitio con mayor cantidad de genes con diferencias significativas fue el sitio 4, los sitios 3, 5 y 6 presentaron similitud y los sitios 1 y 2 tuvieron menos genes con diferencia significativa.

Los efluentes de los seis sitios de muestreo de la presa Villa Victoria generan efectos tóxicos medibles en los organismos expuestos, pero los biomarcadores empleados en este estudio permiten identificar zonas con mayor impacto biológico dentro del embalse, lo que representa una herramienta útil para el monitoreo ambiental y la protección del ecosistema. Desde el punto de vista ecotoxicológico, los sitios 3, 4 y 5 mostraron mayor preocupación en expresión génica y conducta; sin embargo, el sitio 2 destacó por mayor respuesta oxidativa y genotóxica.

En conjunto, estos hallazgos subrayan la importancia de evaluar los efectos de efluentes de cuerpos de agua y mezclas ambientales mediante enfoques que integren respuestas moleculares, histológicas y conductuales, ya que permiten una caracterización más precisa del riesgo ecológico y aportan evidencia científica relevante para el monitoreo ambiental y la toma de decisiones en la gestión de cuerpos de agua impactados por descargas antropogénicas.

12. Referencias

Ahumada-Castro, U., Bustos, G., Silva-Pavez, E., Puebla-Huerta, A., Lovy, A., & Cárdenas, C. (2021). In the Right Place at the Right Time: Regulation of Cell Metabolism by IP3R-Mediated Inter-Organelle Ca^{2+} Fluxes. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.629522

Ali, Z., Yousafzai, A. M., Sher, N., Muhammad, I., Nayab, G. E., Aqeel, S. A. M., Shah, S. T., Aschner, M., Khan, I., & Khan, H. (2021). Toxicity and bioaccumulation of manganese and chromium in different organs of common carp (*Cyprinus carpio*) fish. *Toxicology Reports*, *8*, 343–348. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.02.003

Al-Shawi, S. G., Yousif, A. Y., Al-Younis, Z. K., Shichiyakh, R. A., Zekiy, A. O., & Naserabad, S. S. (2022). Dietary silymarin, *Silybum marianum* extract ameliorates cadmium chloride toxicity in common carp, *Cyprinus carpio*. *Annals of Animal Science*, *22*(2), 741–750. https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0065

Andrews, N. (1999). Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine*, *341(26)*, 1986–1995. https://doi.org/https://doi.org/10.1056/NEJM199912233412607

Argüello-Rangel, J., Triana-García, P. A., & Eslava-Mocha, P. R. (2015). Células Granulares Eosinofílicas / Células Mast (CGE / MC) y su relación con los efectos de herbicidas: Caso del Glifosato y surfactantes acompañantes en peces Eosinophlic granular cells / Mast cells and their relation with the effects of herbicides: Case of glyphosate and accompaning surfactants on fish. *Orinoquia*, *19(1)*, 59–76. https://doi.org/10.22579/20112629.340

Arrova-Gonzales, K., & Moreira-Chiriap, J. (2022). Effects of Pesticides on Aquatic Fauna: A Literature Review. *ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, *2*(5), 1282–1300. https://doi.org/10.18502/espoch.v2i5.11733

Banaee, M., Paola, D. Di, Cuzzocrea, S., Cordaro, M., & Faggio, C. (2024). Biomarkers in Aquatic Ecotoxicology: Understanding the Effects of Xenobiotics on the Health of Aquatic Organisms. In M. Cordaro, R. Di Paola, & R. Fusco (Eds.), *Biochemical and Physiological Response During Oxidative Stress - From Invertebrates to Vertebrates* (9). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.1006063

Basha, D. C., Rani, M. U., Devi, C. B., Kumar, M. R., & Reddy, G. R. (2012). Perinatal lead exposure alters postnatal cholinergic and aminergic system in rat brain: reversal effect of calcium co-administration. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *30*(4), 343–350. https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2012.01.004

Basim, Y., Al-Khafaji, L., Awatif, A.-S., & Mansour, A. (2021). Behavioural effect of some heavy metals on common carp (*Cyprinus carpio* L.) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in Thi-Qar province, Iraq. *Iranian Journal of Ichthyology*, 9(1), 32-36. https://doi.org/ 10.22034/iji.v9i1.597

Capriello, T., Monteiro, S. M., Félix, L. M., Donizetti, A., Aliperti, V., & Ferrandino, I. (2021). Apoptosis, oxidative stress and genotoxicity in developing zebrafish after aluminium exposure. *Aquatic Toxicology*, *236*. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105872

Casas-Hinojosa, I., Gómez-Oliván, L. M., García-Medina, S., Orozco-Hernández, L. A., Jerónimo-Juárez, J. R., Onofre-Camarena, D. B., Rosales-Pérez, K. E., Gutierrez-Noya, V. M., Orozco-Hernández, J. M., Elizalde-Velázquez, G. A., Galar-Martínez, M., Hernández-Navarro, M. D., Dublán-García, O., & Islas-Flores, H. (2025). Environmental caffeine triggers oxidative stress and behavioral changes in *Cyprinus carpio*: Insights into neurotoxicity. *Behavioural Brain Research*, *493*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2025.115695

Castaldo, G., Delahaut, V., Slootmaekers, B., Bervoets, L., Town, R. M., Blust, R., & De Boeck, G. (2021). A comparative study on the effects of three different metals (Cu, Zn and Cd) at similar toxicity levels in common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Applied Toxicology*, *41*(9), 1400–1413. https://doi.org/10.1002/jat.4131

Chang, Y., Wang, Y., & Venton, B. J. (2020). A1 and A2A Receptors Modulate Spontaneous Adenosine but Not Mechanically Stimulated Adenosine in the Caudate. *ACS Chemical Neuroscience*, *11*(20), 3377–3385. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00510

Chen, X. Y., Shao, J. Z., Xiang, L. X., & Liu, X. M. (2006). Involvement of apoptosis in malathion-induced cytotoxicity in a grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) cell line. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *142*(1–2), 36–45. https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2005.10.010

Costa, B. P. D., Moura, L. A., Pinto, S. A. G., Lima-Maximino, M., & Maximino, C. (2020). Zebrafish models in neural and behavioral toxicology across the life stages. In *Fishes*, 5(3), 1–14. https://doi.org/10.3390/fishes5030023

Curcio, V., Macirella, R., Sesti, S., Ahmed, A. I. M., Talarico, F., Tagarelli, A., Mezzasalma, M., & Brunelli, E. (2022). Morphological and Functional Alterations Induced by Two Ecologically Relevant Concentrations of Lead on *Danio rerio* Gills. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(16). https://doi.org/10.3390/ijms23169165

Das, R. K., & Ray, N. (2022). Acute toxicity of fluoride and aluminium on the freshwater fish, *Cyprinus carpio* L. In *Indian Journal of Experimental Biology* (Vol. 60). https://orcid.org/0000-0002-6907-912X

Depledge, M. H. (1994). The Rational Basis for the Use of Biomarkers as Ecotoxicological Tools. In M. C. Fossi & C. Leonzio (Eds.), *Nondestructive Biomarkers in Vertebrates* (pp. 271–295). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9780367813703-20

De Carvalho, T. S., Cardoso, P. B., Santos-Silva, M., Lima-Bastos, S., Luz, W. L., Assad, N., Kauffmann, N., Passos, A., Brasil, A., Bahia, C. P., Moraes, S., Gouveia, A., De Jesús Oliveira Batista, E., Oliveira, K. R. M. H., & Herculano, A. M. (2019). Oxidative Stress Mediates Anxiety-Like Behavior Induced by High Caffeine Intake in Zebrafish: Protective Effect of Alpha-Tocopherol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. https://doi.org/10.1155/2019/8419810

Deb, N., & Das, S. (2013). Chlorpyrifos toxicity in fish: A Review. *Current World Environment Journal*, *8*(1). https://doi.org/10.12944/cwe.8.1.17

Diogo, B. S., Rodrigues, S., Golovko, O., & Antunes, S. C. (2024). From bacteria to fish: ecotoxicological insights into sulfamethoxazole and trimethoprim. *Environmental Science and Pollution Research*, *31*(39), 52233–52252. https://doi.org/10.1007/s11356-024-34659-y

Dos Santos Miron, D., Crestani, M., Shettinger, M. R., Morsch, V. M., Baldisserotto, B., Tierno, M. A., Moraes, G., & Vieira, V. L. P. (2005). Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*)

(Heptapteridae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *61*(3), 398–403. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2004.12.019

Drobac Backović, D., Tokodi, N., Marinović, Z., Ács, A., Šćekić, I., Lujić, J., & Svirčev, Z. (2023). *Histological alterations and oxidative stress parameters in common carp (Cyprinus carpio L. 1758) from blooming Hídvégi Pond, Hungary*. Zenodo (CERN European Organization for Nuclear Research). https://doi.org/10.5281/zenodo.7807933

Ferro, J. P., Ferrari, L., & Eissa, B. L. (2021). Acute toxicity of cadmium to freshwater fishes and its relationship with body size and respiratory strategy. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, *248*. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109109

Fill, M., & Copello, J. A. (2002). Ryanodine receptor calcium release channels. In *Physiological Reviews*, 82(4), 893–922. https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2002

Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental. (2023). *Agua.org*. Contaminación Del Agua. https://agua.org.mx/contaminacion-del-agua/

Fredholm, B. B., Yang, J., & Wang, Y. (2017). Low, but not high, dose caffeine is a readily available probe for adenosine actions. *Molecular Aspects of Medicine*, *55*, 20–25. https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.11.011

Fulton, M. H., & Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *20*(1), 37–45. https://doi.org/10.1002/etc.5620200104

Gheorghe, S., Stoica, C., Iancu, V. I., Lucaciu, I. E., Mitru, D., Pasa, T., Vaideanu, M., Mihalache, M., & Nita-Lazar, M. (2021). Effects of sulfamethoxazole on antioxidant defense system in *Cyprinus carpio* fish. *Book of Abstracts SIMI 2021*, 59–61. https://doi.org/10.21698/simi.2021.ab22

Godoy, A. A., de Oliveira, Á. C., Silva, J. G. M., Azevedo, C. C. de J., Domingues, I., Nogueira, A. J. A., & Kummrow, F. (2019). Single and mixture toxicity of four pharmaceuticals of environmental concern to aquatic organisms, including a behavioral assessment. *Chemosphere*, *235*, 373–382. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.200

Habib, S. S., Maqaddas, S., Fazio, F., EL Amouri, R., Shaikh, G. S., Rahim, A., Khan, K., Ullah, J., Mohany, M., Parrino, V., & Al-Eman, A. (2024). Evaluation of lead exposure effects on tissue accumulation, behavior, morphological and hemato-biochemical changes in common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *86*. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2024.127523

Jacob, S., Dötsch, A., Knoll, S., Köhler, H. R., Rogall, E., Stoll, D., Tisler, S., Huhn, C., Schwartz, T., Zwiener, C., & Triebskorn, R. (2018). Does the antidiabetic drug metformin affect embryo development and the health of brown trout (*Salmo trutta f. fario*)? *Environmental Sciences Europe*, *30*(1). https://doi.org/10.1186/s12302-018-0179-4

Jordan, J. J., Menendez, D., Sharav, J., Beno, I., Rosenthal, K., Resnick, M. A., & Haran, T. E. (2012). Low-level p53 expression changes transactivation rules and reveals superactivating sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(36), 14387–14392. https://doi.org/10.1073/pnas.1205971109

Karlsson-Norrgren, L., Runn, P., Haux, C., & Förlin, L. (1985). Cadmium-induced changes in gill morphology of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton–Buchanan), and rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. *Journal of Fish Biology*, *27*(1), 81–95. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1985.tb04011.x

Kavitha, P., & Rao, J. V. (2008). Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish,

Gambusia affinis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *26*(2), 192–198. https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2008.03.010

Khan, Z., & Law, F. (2005). Adverse effects of pesticides and related chemicals on enzyme and hormone systems of fish, amphibians and reptiles: A review. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences*, *42*. 315-323. https://www.researchgate.net/publication/241312982_Adverse_effects_of_pesticides_and_related_chemicals_on_enzyme_and_hormone_systems_of_fish_amphibians_and_reptiles_A_review

Khisroon, M., Hassan, N., Khan, A., & Farooqi, J. (2021). Assessment of DNA damage induced by endosulfan in grass carp (*Ctenopharyngodon idella Valenciennes*, 1844). *Environmental Science and Pollution Research*, *28*. https://doi.org/10.1007/s11356-021-12727-x

Kim, J. H., Rhee, J. S., Lee, J. S., Dahms, H. U., Lee, J., Han, K. N., & Lee, J. S. (2010). Effect of cadmium exposure on expression of antioxidant gene transcripts in the river pufferfish, *Takifugu obscurus* (Tetraodontiformes). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *152*(4), 473–479. https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2010.08.002

Kobayashi, T., Kurebayashi, N., & Murayama, T. (2021). The Ryanodine Receptor as a Sensor for Intracellular Environments in Muscles. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19). https://doi.org/10.3390/ijms221910795

Liu, J., Cai, Y., Lu, G., Dan, X., Wu, D., & Yan, Z. (2017). Interaction of erythromycin and ketoconazole on the neurological, biochemical and behavioral responses in crucian carp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *55*, 14–19. https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2017.08.002

Liu, M., Deng, P., Li, G., Liu, H., Zuo, J., Cui, W., Zhang, H., Chen, X., Yao, J., Peng, X., Peng, L., Liu, J., Zheng, W., Yan, W., & Luan, N. (2024). Neurotoxicity of Combined Exposure to the Heavy Metals (Pb and As) in Zebrafish (*Danio rerio*). *Toxics*, *12*(4). https://doi.org/10.3390/toxics12040282

Liu, Y., Chen, Q., Li, Y., Bi, L., Jin, L., & Peng, R. (2022). Toxic Effects of Cadmium on Fish. In *Toxics*, 10(10). https://doi.org/10.3390/toxics10100622

Mohanty, D., & Samanta, L. (2018). Dietary supplementation of Spirulina ameliorates iron-induced oxidative stress in Indian knife fish *Notopterus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *61*, 71–78. https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.05.007

Mothersill, C., & Seymour, C. (2016). Genomic Instability and the Spectrum of Response to Low Radiation Doses. Genome Stability: From Virus to Human Application, 601–614. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803309-8.00035-5

Naderi, I., Mehdipour, M., Firozbakhsh, F., & Kazempoor, R. (2021). Effect of *Oregano Vulgare* essential oil supplement on growth and histopathological changes of gill and spleen of koi fish (*Cyprinus carpio*) under long-term exposure to naproxen. *International Journal of Veterinary Research*, *2*(1). https://doi.org/https://doi.org/10.1155/are/4938650

NCBI. (2025, December 21). *NLM*. BCL2 Apoptosis Regulator [Homo Sapiens (Human)]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/596

Nevárez-Rodríguez, M. C., Moreno-López, M. V., & Leal-Quezada, L. O. (2013). *Metales pesados en peces de las presas del municipio de chihuahua durante las estaciones del año*.

Nogueira, P., Pacheco, M., Lourdes Pereira, M., Mendo, S., & Rotchell, J. M. (2010). Anchoring novel molecular biomarker responses to traditional responses in fish exposed to environmental contamination. *Environmental Pollution*, *158*(5), 1783–1790. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.11.007

Okogwu, O. I., Elebe, F. A., & Nwonumara, G. N. (2022). Combinations of cypermethrin and dimethoate alter behavior, hematology and histology of African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Environmental Analysis Health and Toxicology*, *37*(4). https://doi.org/10.5620/eaht.2022028

Ortiz-Delgado, J. B., Funes, V., Albendín, G., Scala, E., & Sarasquete, C. (2021). Toxicity of malathion during *Senegalese sole, Solea senegalensis* larval development and metamorphosis: Histopathological disorders and effects on type B esterases and CYP1A enzymatic systems. *Environmental Toxicology*, *36*(9), 1894–1910. https://doi.org/10.1002/tox.23310

Ouahb, S., Loubna, F., Meriem, B., Abdelfattah, B., Lahcen, M. O., Mohammed, E. B., & Mustapha, H. (2025). Human health risks assessment related to heavy metal bioaccumulation in the muscle tissues of *Cyprinus carpio, Sander lucioperca* and *Oreochromis niloticus* from Moroccan continental waters. *Journal of Ecological Engineering*, *26*(5), 170–180. https://doi.org/10.12911/22998993/200887

Papis, E., Davies, S. J., & Jha, A. N. (2011). Relative sensitivity of fish and mammalian cells to the antibiotic, trimethoprim: Cytotoxic and genotoxic responses as determined by neutral red retention, Comet and micronucleus assays. *Ecotoxicology*, *20*(1), 208–217. https://doi.org/10.1007/s10646-010-0572-2

Parys, J. B., Decuypere, J. P., & Bultynck, G. (2012). Role of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/Ca^{2+}-release channel in autophagy. In *Cell Communication and Signaling* (Vol. 10). https://doi.org/10.1186/1478-811X-10-17

Pavlov, D. D., Chuiko, G. M., Gerassimov, Y. V., & Tonkopiy, V. D. (1992). Feeding behavior and brain acetylcholinesterase activity in bream (*Abramis brama L.*) as affected by DDVP, an organophosphorus insecticide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, *103*(3), 563–568. https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90182-7

Quiroga-Santos, E. H., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Gasca-Pérez, E., Cano-Viveros, S., Ruíz-Lara, K., Gómez-Oliván, L. M., & Islas-Flores, H. (2021). Geno-cytotoxicity and congenital malformations produced by relevant environmental concentrations of aluminum, diclofenac and their mixture on

Cyprinus carpio. An interactions study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *82*. https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103555

Rajesh, M., Arumugam, M., & Prabakaran, V. (2023). Effect of Endosulfan on the Biodegradation and Bioaccumulation of Pesticides. *Asian Journal of Advances in Research*, *6*(1), 150–160. https://www.researchgate.net/publication/372430510

Rivera- Sánchez, G. (2011). *Evaluación de la contaminación de la presa La Purísima mediante el análisis de metales, hidrocarburos y plaguicidas en muestras de agua, sedimento y a través del uso de biomarcadores en peces*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Sánchez-Aceves, L. M., Gómez-Olivan, L. M., Pérez-Álvarez, I., Rosales-Pérez, K. E., Hernández-Navarro, M. D., Amado-Piña, D., Natividad, R., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Ramírez-García, J. J., Becerril, M. E., & Dávila-Estrada, M. (2024). Effects of effluents from the Villa Victoria Reservoir (Mexico) on the development of *Danio rerio* at early life stages through apoptotic response and oxidative-induced state. *Science of the Total Environment*, *957*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177581

Sanna, S., Ghayyur, S., Tabassum, S., Noreen, S., Mahmood, S., Rehman, M. U., Ahmad, B., Kabir, M., Sajid, M., & Khan, M. F. (2021). Biochemical, Endocrine and Genetic Impairments in Response to Agrochemicals Intoxication in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Agriculture and Biology*, *25*(6), 1255–1262. https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1787

Santos, N., Picolo, V., Domingues, I., Perillo, V., Villacis, R. A. R., Grisolia, C. K., & Oliveira, M. (2023). Effects of environmental concentrations of caffeine on adult zebrafish behaviour: a short-term exposure scenario. *Environmental Science and Pollution Research*, *30*(23), 63776–63787. https://doi.org/10.1007/s11356-023-26799-4

Shaalan, W. M., Idriss, S. K. A., Lee, J. S., Mohamed, N. H., & Sayed, A. E. D. H. (2025). Evaluating the effects of pharmaceutical pollutants on common carp

(*Cyprinus carpio*): histopathological and antioxidant responses. *Frontiers in Physiology*, *16*. https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1557647

Sheth, S., Brito, R., Mukherjea, D., Rybak, L. P., & Ramkumar, V. (2014). Adenosine receptors: Expression, function and regulation. In *International Journal of Molecular Sciences*, 15(2), 2024–2052. https://doi.org/10.3390/ijms15022024

Sibiya, A., Al-Ghanim, K. A., Govindarajan, M., Nicoletti, M., Sachivkina, N., & Vaseeharan, B. (2023). Biochemical Patterns and Genotoxicity of the Endocrine Disruptor Metformin in the Freshwater Fish *Labeo rohita*. *Fishes*, *8*(7). https://doi.org/10.3390/fishes8070380

Singh, R. N., Pandey, R. K., Singh, N. N., & Das, V. K. (2009). Acute Toxicity and Behavioral Responses of Common Carp *Cyprinus carpio* (Linn.) To an Organophosphate (Dimethoate). *World Journal of Zoology*, *4*(2), 70–75. https://idosi.org/wjz/wjz5(3)10/7.pdf

Stockwell, J., Jakova, E., & Cayabyab, F. S. (2017). Adenosine A1 and A2A receptors in the brain: Current research and their role in neurodegeneration. In *Molecules* 22(4). https://doi.org/10.3390/molecules22040676

Tang, J., Wang, W., Jiang, Y., & Chu, W. (2021). Diazinon exposure produces histological damage, oxidative stress, immune disorders and gut microbiota dysbiosis in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Environmental Pollution*, *269*. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116129

Tripathy, S. K. (2020). An anthology of cytogenetic end points like micronucleus test, comet assay and chromosomal aberration assay in pisces. In *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 13(2). https://www.ijans.org/index.php/ijans/article/view/502

Van Petegem, F. (2012). Ryanodine Receptors: Structure and Function. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(38), 31624–31632. https://doi.org/10.1074/JBC.R112.349068

Wu, L., & Chen, J. (2023). Type 3 IP3 receptor: Its structure, functions, and related disease implications. In *Channels* 17(1). https://doi.org/10.1080/19336950.2023.2267416

Xing, H., Han, Y., Li, S., Wang, J., Wang, X., & Xu, S. (2010). Alterations in mRNA expression of acetylcholinesterase in brain and muscle of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(7), 1666–1670. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.07.013

Xing, H., Wu, H., Sun, G., Zhang, Z., Xu, S., & Li, S. (2013). Alterations in activity and mRNA expression of acetylcholinesterase in the liver, kidney and gill of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *35*(1), 47–54. https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.11.004

Yang, R., Roshani, D., Gao, B., Li, P., & Shang, N. (2024). Metallothionein: A Comprehensive Review of Its Classification, Structure, Biological Functions, and Applications. In *Antioxidants*, 13(7). https://doi.org/10.3390/antiox13070825

Yang, X., Xu, X., Wei, X., Wan, J., & Zhang, Y. (2019). Biomarker effects in *Carassius auratus* exposure to ofloxacin, sulfamethoxazole and ibuprofen. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(9). https://doi.org/10.3390/ijerph16091628

Ye, C., Xu, S., Hu, Q., Hu, M., Zhou, L., Qin, X., Jia, J., & Hu, G. (2020). Structure and function analysis of various brain subregions and pituitary in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, *33*. https://doi.org/10.1016/J.CBD.2019.100653

Zheng, Y., Shao, Y., Zhang, Y., Liu, Z., Zhao, Z., Xu, R., Ding, J., Li, W., Wang, B., & Zhang, H. (2024). Metformin as an Emerging Pollutant in the Aquatic Environment: Occurrence, Analysis, and Toxicity. In *Toxics*, 12(7). https://doi.org/10.3390/toxics1207048