

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES Y SU EFECTO GENOTÓXICO EN EL SAPO GIGANTE (*Rhinella horribilis*) DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO

Evaluation of the exposure to persistent organic pollutants and its genotoxic effect on the giant toad (*Rhinella horribilis*) from the Huasteca Potosina, Mexico

Claudia CASTILLO¹, Alejandra BERUMEN-RODRÍGUEZ¹, Omar CRUZ-SANTIAGO², César ILIZALITURRI-HERNÁNDEZ¹, Rogelio FLORES-RAMÍREZ¹, Amparo VERA-CERDA¹ y Guillermo ESPINOSA-REYES^{1*}

¹ Facultad de Medicina, Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Sierra Leona 550, 78210 San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

² División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, km 9 carretera Irapuato-Silao núm. 311, 36500 Irapuato, Guanajuato, México.

*Autor para correspondencia: guillermo.espinosa@uaslp.mx

(Recibido: octubre de 2023; aceptado: abril de 2024)

Palabras clave: COP, genotoxicidad, micronúcleos, suelo, tejido hepático.

RESUMEN

El estudio se realizó en dos zonas indígenas de la Huasteca Potosina (Cuatlamayán y Tocoy) en México. El propósito de esta investigación fue evaluar los contaminantes orgánicos persistentes (COP) en el suelo y en tejido hepático del sapo gigante (*Rhinella horribilis*), así como el daño a su ADN. La determinación de COP en suelo y en tejido hepático de sapos se realizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. La genotoxicidad se evaluó mediante la prueba de micronúcleos. Se contó un total de 3000 células por individuo y se informó como MN/1000. Los resultados obtenidos de las muestras de suelo mostraron que los niveles totales de COP fluctuaron entre 28.83 y 34.90 µg/kg. Los resultados de la exposición en sapos indican la presencia de atrazina, hexaclorobenceno (HCB), isómeros alfa, beta, gamma y delta del hexaclorociclohexano (HCH), y los metabolitos DDE y DDD de dicloro difenil tricloroetano (DDT). Hubo frecuencia de micronúcleos para dos comunidades indígenas de la Huasteca Potosina en el estado de San Luis Potosí. Cuatlamayán (1.9) y Tocoy (0.7). Este estudio proporciona una línea base de exposición a COP y su efecto genotóxico en diferentes zonas indígenas y rurales de la región de la Huasteca en México.

Key words: POPs, genotoxicity, micronuclei, soil, liver tissue.

ABSTRACT

This study was conducted in two Indigenous areas of the Huasteca Potosina (Cuatlamayán and Tocoy) in Mexico. The purpose of this research was to evaluate persistent organic pollutants (POPs) in the soil and liver tissue of the giant toad (*Rhinella horribilis*), as well as DNA damage. The determination of POPs in soil and liver tissue of toads was performed by gas chromatography-mass spectrometry. Genotoxicity was assessed

by micronucleus test. A total of 3000 cells per individual were counted and reported as MN/1000. Results obtained from soil samples showed that total POP levels ranged from 28.83 to 34.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Exposure results in toads indicate the presence of atrazine, hexachlorobenzene (HCB), alpha, beta, gamma, and delta isomers of hexachlorocyclohexane (HCH), and DDE and DDD, both metabolites of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). There was a micronucleus frequency for two indigenous communities in the Huasteca Potosina region of the state of San Luis Potosí: Cuatlamayán (1.9) and Tocoay (0.7). This study provides a baseline of POP exposure and genotoxic effects in different indigenous and rural areas of the Huasteca region in Mexico.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales amenazas ambientales a escala mundial es la pérdida de biodiversidad debido a diversos factores como la explotación de los recursos naturales, la ganadería, la agricultura, la minería, la pesca inmoderada, la urbanización, la industrialización, el consumismo, la explosión demográfica, el cambio climático, la deforestación, las especies introducidas y la contaminación.

La región de la Huasteca Potosina se ubica al este de San Luis Potosí y se caracteriza por tener una gran biodiversidad (CONABIO 2021). Los principales usos del suelo en muchas comunidades de la Huasteca Potosina son la agricultura y la ganadería, por lo que se aplica una gran cantidad de insecticidas y herbicidas. Además, los sitios se encuentran en una zona endémica de paludismo y dengue. A partir de 1999 se prohibió el uso de DDT con fines agrícolas y posteriormente para el control de vectores. Diversos estudios han reportado niveles de su metabolito DDE en muestras biológicas de suero, tejido adiposo y leche materna en población ocupacionalmente no expuesta (Torres-Sánchez y López-Carrillo 2007, Rodríguez-López et al. 2020). Otros problemas reportados en los sitios de estudio son el uso de leña para cocinar y la quema de basura orgánica e inorgánica (Rentería-Guzmán 2011). Además, se produce una importante degradación ambiental debido principalmente a las actividades agrícolas y ganaderas, así como al constante crecimiento poblacional, por lo que se requiere una mayor cantidad de áreas para la construcción de viviendas. Con base en la información anterior se puede suponer que existe un riesgo potencial para las especies de flora y fauna silvestres de la región.

Muchos de los plaguicidas que se aplicaron en la Huasteca pertenecen a la familia de los organoclorados que se caracterizan por su toxicidad, largo tiempo de degradación y lipofilia. Los contaminantes orgánicos persistentes (COP) son sustancias

químicas sintéticas ubicuas que pueden persistir en el ambiente por varios años debido a sus características físicas y químicas una vez que son liberados. Los COP son muy solubles en grasas y tienden a acumularse en los tejidos grasos y a biomagnificarse a lo largo de la cadena alimentaria. Las pruebas sugieren que los COP representan un riesgo potencial para la salud humana y ambiental, razón por la cual han sido prohibidos y restringidos en varios países (Assey y Mogusu 2023).

Diversas especies de flora y fauna silvestres se han utilizado como biomonitores. Un biomonitor es una especie sensible a los cambios ambientales, los cuales se reflejan en su salud individual y poblacional, lo que las convierte en especies indicadoras de la salud de los ecosistemas, que en determinadas ocasiones pueden proporcionar un diagnóstico de riesgo y una alerta temprana sobre la salud de la población humana. Los biomonitores suelen tener periodos de latencia más cortos para ciertas enfermedades o pueden estar expuestos a concentraciones más altas debido a sus hábitos de comportamiento. Además, los mecanismos de acción de ciertas sustancias tóxicas son similares entre humanos y animales (García-Muñoz et al. 2023).

El uso de biomonitores puede incluir la monitorización ambiental, la identificación de rutas de exposición y el apoyo a la evaluación de riesgos durante el proceso de toma de decisiones. La información anterior se basa en los resultados obtenidos de la fauna silvestre; por ejemplo, los datos registrados pueden utilizarse para establecer líneas de evidencia orientadas a lograr un enfoque correcto en la evaluación de riesgos no sólo sobre la población humana, sino también sobre la salud del ecosistema (Scaramozzino et al. 2019).

Para evaluar la calidad ambiental, los anfibios son uno de los grupos de animales más utilizados debido a las características asociadas con su metabolismo, ciclo de vida y hábitat; sin embargo, también tienen una mayor vulnerabilidad de extinguirse en comparación

con otros grupos de vertebrados (Sparling 2010). Las pruebas demuestran que la contaminación ambiental influye directamente en el declive de las poblaciones de anfibios en todo el mundo (Catenazzi 2015).

El sapo gigante (*Rhinella horribilis* antes conocido como *Rhinella marina* o *Bufo marinus*) es una especie ampliamente distribuida en México. Combina varias vías de exposición porque es un omnívoro oportunista que puede ingerir una gran variedad de alimentos. En comparación con otras especies de anfibios, los sapos tienen una piel altamente permeable, un alto índice de lípidos somáticos y un elevado índice hepatosomático. Además de su biología reproductiva, esta especie es propensa a la bioacumulación de contaminantes orgánicos y efectos toxicológicos relacionados. El sapo gigante se ha utilizado como biomonitor en varios estudios realizados en ecosistemas acuáticos y de humedales: se han evaluado plaguicidas organoclorados (Linzey et al. 2003, Cruz-Santiago et al. 2018), aire contaminado (Dohm et al. 2008), disruptores endocrinos (McCoy et al. 2008), niveles de plomo (Ilizaliturri-Hernández et al. 2013) y actividad de enzimas asociadas con una zona industrial (Cruz-Santiago et al. 2021).

Un agente genotóxico es una sustancia capaz de alterar el material genético, incluyendo aquellas sustancias que afectan directa o indirectamente al ADN, y las que intervienen en procesos enzimáticos y en la generación o síntesis de material proteico implicado en la segregación cromosómica (Lodish 2002).

La prueba de micronúcleos (MN) es una técnica ampliamente utilizada para la detección de daños genotóxicos producidos por agentes físicos o sustancias tóxicas (Hayashi 2016). La prueba de MN in vivo se utiliza para detectar lesiones causadas en los cromosomas o en el aparato mitótico de los eritroblastos mediante el análisis de eritrocitos extraídos de la médula ósea o de la sangre periférica de animales, lo que indica daño cromosómico en un sistema vivo. Por lo tanto, esta técnica es muy útil para determinar si dichos individuos estuvieron expuestos a sustancias que les causaron daños citogenéticos que conducen a la formación de MN con fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros retrasados (Hayashi 2016). Estos biomarcadores de efecto pueden utilizarse para determinar si los organismos de la fauna silvestre están expuestos a sustancias tóxicas en cada ecosistema.

El propósito de este estudio fue determinar el nivel de exposición a COP en el sapo gigante (*Rhinella horribilis*), así como evaluar la genotoxicidad mediante la prueba de micronúcleos en dos zonas indígenas (Cuatlamayán y Tocoy) de la Huasteca Potosina, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en dos comunidades indígenas, Cuatlamayán (CUA) y Tocoy (TOC) ubicadas en la zona conocida como Huasteca Potosina en el estado de San Luis Potosí (SLP), México (**Fig. 1**). Cuatlamayán se localiza en las coordenadas 21° 35' 21" N, 98° 56' 13" O en el municipio de Tancanhuitz con una altitud media de 170 msnm. El clima es semicálido con fuertes lluvias durante el verano. La temperatura media anual es de 23.4 °C y la precipitación media anual es de 2267.2 mm. Tocoy se encuentra en el municipio de San Antonio en las coordenadas 21° 38' 21" N y 98° 52' 14" O, con una altitud media de 200 msnm. El clima es semicálido húmedo, con una temperatura media anual de 22 a 24 °C y una precipitación media anual de 1800 a 2000 mm (CNA 2025). El escenario en ambas comunidades es muy similar, siendo los cítricos en Cuatlamayán y la caña de azúcar en Tocoy los usos agrícolas predominantes de la tierra. En ambos cultivos se aplican grandes cantidades de insecticidas y herbicidas. Ambas son zonas endémicas de paludismo y dengue. Se utiliza leña para cocinar y la quema de basura orgánica e inorgánica es una práctica habitual.

Muestras ambientales

Se recolectaron muestras compuestas de suelo superficial, nueve de ellas en Cuatlamayán y seis en Tocoy. Se delimitó un área de 1 m² y se obtuvieron los primeros 5 cm de suelo en cada una de las cuatro esquinas, así como del centro. Después se homogenizaron y se colocaron en recipientes ámbar, para posteriormente ser transportadas dentro de un refrigerador (≈ 4 °C) al laboratorio de cromatografía, donde se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Muestras biológicas

Se capturaron nueve organismos sexualmente maduros en Cuatlamayán, siete más en Tocoy y siete testigos capturados en Tamasopo, San Luis Potosí, México. Se mantuvieron en cautiverio en condiciones controladas durante un mes antes de extraerles sangre. La mayor parte fueron capturados a mano y en algunos casos se utilizaron redes. Se cubrió un área aproximada de 5000 m² cuando se realizaron los recorridos nocturnos. Tras ser capturados, los sapos fueron anestesiados con benzocaína. Se obtuvieron muestras de sangre (≈ 4 mL) mediante punción cardiaca utilizando una aguja y jeringa previamente heparinizadas. Posteriormente cada ejemplar fue disectado para obtener muestras de tejido hepático.

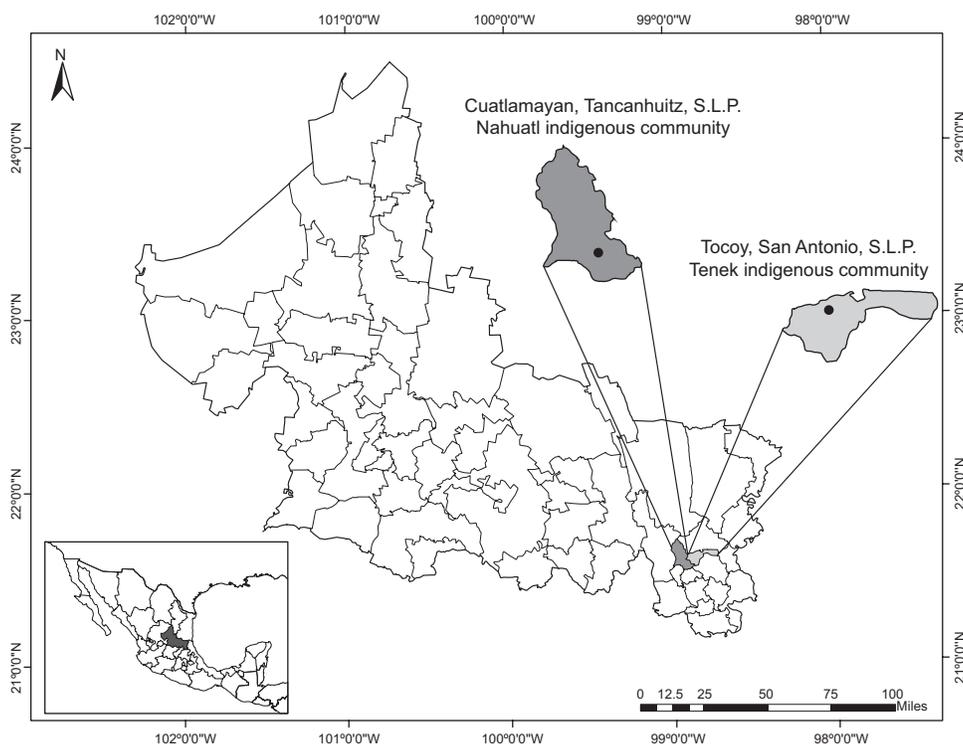


Fig. 1. Sitios de estudio: Cuatlamayán y Toco en la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México.

Todos los sapos fueron capturados en 2012 y recolectados con el permiso de colector científico expedido por la SEMARNAT con el número: FAUT-0262. El manejo de los ejemplares en el laboratorio se realizó siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA 2001), con fines éticos y de conservación de las muestras.

Análisis de la concentración de COP

Se analizaron los siguientes contaminantes orgánicos persistentes en las muestras de tejido y suelo: plaguicidas COP (α , $-\beta$, $-\gamma$, $-\delta$ HCH, 4,4' DDD; DDE; DDT; aldrin; heptacloro; heptacloro epóxido; $-\alpha$, $-\beta$ endosulfán; sulfato de endosulfán; atrazina, y mirex), COP (hexaclorobenceno [HCB]) y bifenilos policlorados (BPC) (41 congéneres para las muestras de suelo núm. 17, 18, 28, 31, 33, 44, 49, 52, 70, 74, 82, 87, 95, 99, 101, 105, 110, 118, 128, 132, 138, 149, 151, 153, 156, 158, 169, 170, 171, 177, 180, 183, 187, 191, 194, 195, 201, 205, 206, 208, 209 y sólo 14 congéneres para las muestras de tejido no. 28, 52, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 187, 180, 183, 170).

Para tejidos, el método de extracción consistió en homogeneizar la muestra y extraer los analitos con hexano:dietiléter (9:1 v/v). El extracto se filtró y evaporó a un volumen de 0.5 mL. Posteriormente

se eluyó en gel de sílice con una mezcla de cloruro de metileno:hexano (3:1 v/v) y se concentró a 100 μ l para su análisis (González-Mille et al. 2010). El contenido de lípidos en la matriz se determinó mediante análisis gravimétrico, el cual se verificó mediante varias pesadas hasta obtener un peso constante. Los contaminantes orgánicos persistentes en suelo se determinaron siguiendo el método descrito por Espinosa-Reyes et al. (2010): se colocó 1 g de muestra junto con 10 mL de hexano:diclorometano (75:25) y se sonicó a una potencia de 60 % durante 1 min. El sobrenadante se centrifugó durante 5 min a 3500 rpm y se evaporó a 1 mL bajo corriente de nitrógeno. El extracto se sometió a un procedimiento de limpieza en columnas de florisil y se evaporó a 100 μ l para su análisis. Se utilizaron γ -HCH-C13, endrin-C13 y BPC 14-C13 como patrón interno, y se añadieron a todas las muestras. Se trabajó con un cromatógrafo de gases 6890 (Agilent) equipado con un automuestreador 7683 (Agilent) acoplado a un detector de masas 5975 (Agilent). El control de calidad interno y la validación del método se realizaron con base en la Guía de validación de métodos analíticos para la determinación de compuestos orgánicos en niveles traza (Alder et al. 2000). El método fue validado en matriz fortificada. Los límites de detención (LD) y

límites de cuantificación (LQ) para cada compuesto fueron de 1.7-4.8 y 3.5-7.5 ng/mL, respectivamente. Los resultados se corrigieron por tasas de recuperación situadas entre el 80 % y el 116 %.

Evaluación de la genotoxicidad (micronúcleos)

La prueba se realizó con la metodología descrita por Schmid (1976). Se preparó una gota de sangre (200 µL) obtenida por punción cardíaca y frotis sanguíneo en portaobjetos limpios. Las muestras se generaron por duplicado. A continuación se fijaron con metanol durante 5 min y se tiñeron inmediatamente con Giemsa durante 10 a 15 min. Los portaobjetos se enjuagaron con agua desionizada y se dejaron secar a temperatura ambiente (20 a 30 min). Los portaobjetos se analizaron con un microscopio Olympus (BX41) acoplado a la cámara de adquisición (Rolera Evolution VF), utilizando el software de adquisición Image ProPlus. Se contó un total de 3000 células por individuo y se informó como MN/1000. La lectura se realizó con el método de zigzag para garantizar aleatoriedad. Para realizar el recuento de micronúcleos, se siguieron los criterios descritos por Fenech et al. (2003), quienes mencionan que el diámetro del micronúcleo debe ser inferior a un tercio del núcleo principal, debe estar separado o superpuesto

marginalmente del núcleo principal siempre que haya una clara identificación del borde nuclear, y debe tener un tinte similar al del núcleo principal.

Estimación de riesgo

Se calculó el cociente de riesgo (HQ), que es la relación entre la exposición potencial de una sustancia y el nivel en el que no se prevén efectos adversos. Es un valor toxicológico de referencia para la fauna silvestre. Un HQ menor o igual a 1 indica que probablemente no se produzcan efectos adversos para la salud.

$HQ = \text{concentraciones promedio en suelo/niveles de referencia.}$

Las concentraciones de COP en suelo se compararon con los HQ para la salud de fauna salvaje en las directrices canadienses de calidad ambiental (CEQGs) (CCME 2023) en suelo. Los resultados se muestran en el **cuadro I**.

Análisis estadístico

Dado que los resultados no mostraron una distribución normal, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Los datos se expresaron

CUADRO I. CONCENTRACIONES ANALIZADAS DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES (COP) EN SUELO (µg/kg) POR SITIO DE LA HUASTECA POTOSINA.

COP	Cuatlamayán (n = 9)	Tocoy (n = 6)	CEQGs
β-HCH	89.74 ± 57.26 (3.11 - 657.28)	80.84 ± 26.05 (6.43-369.31)	-
γ-HCH	47.96 ± 14.05 (4.37-160.74)	120.27 ± 42.03 (7.77-816.67)	0.1
β-Endosulfan	480.27 ± 216.57 (4.18-2517.10)	216.58 ± 53.35 (1.33-689.10)	-
Sulfato de endosulfán	27.98 ± 9.93 (3.39-107.84)	59.42 ± 26.11 (1.80-449.10)	-
DDT	96.82 ± 52.72 (4.05-573.19)	22.18 ± 8.25 (1.83-132.25)	0.7
DDE	130.88 ± 29.55 (5.60-294.11)	235.05 ± 172.15 (2.79-3127.20)	-
DDD	137.19 ± 79.14 (3.69-895.66)	61 ± 29.92 (3.22-548.70)	-
ΣCOP	1010.84	795.34	-

CEQGs: directrices canadienses de calidad ambiental.

como media \pm la desviación estándar y el rango. Se consideró significativo un nivel < 0.05 . Todos los datos se analizaron con el software Statística v. 7. Las concentraciones de plaguicidas organoclorados se sumaron para obtener las cantidades totales de estos compuestos (Σ -COP). En muestras con valores no detectables se consideró el valor de LD/2 para el análisis estadístico, siempre y cuando la variable tuviera al menos el 50 % de datos detectables (Cohen y Ryan 1989). Las concentraciones en peso seco (p.s.) se estandarizaron por el contenido en lípidos (g de lípidos).

RESULTADOS

COP en suelo

Las concentraciones de COP en el suelo se muestran en el **cuadro I**. De los compuestos analizados se encontraron siete plaguicidas organoclorados. El patrón de concentraciones de compuestos en Cuatlamayán fue β -endosulfán $>$ DDD $>$ DDE $>$ DDT $>$ β -HCH $>$ γ -HCH $>$ sulfato de endosulfán. El patrón de concentración hallado en Toco y fue DDE $>$ β -endosulfán $>$ γ -HCH $>$ β -HCH $>$ DDD $>$ sulfato de endosulfán $>$ DDT.

COP en tejido de sapo gigante (*Rhinella horribilis*)

Las concentraciones de COP en muestras de tejido hepático de sapos se muestran en el **cuadro II**. Se detectaron nueve plaguicidas organoclorados. Se registraron los siguientes contaminantes y se ajustaron los lípidos en las muestras de tejido seco de los sapos capturados en Cuatlamayán: Σ -DDT $>$ Σ -HCH $>$ atrazina $>$ HCB. El DDT y su metabolito DDE se observaron en el 100 % de las muestras, en tanto que el DDD sólo se encontró en el 12 % de ellas. En la Σ -HCH los isómeros se presentaron en orden descendente: α -HCH $>$ γ -HCH $>$ β -HCH $>$ δ -HCH.

En la comunidad de Toco y se identificaron los siguientes contaminantes: Σ -DDT $>$ Σ -HCH $>$ HCB $>$ atrazina. El DDT y sus metabolitos DDE y DDD se obtuvieron en el 100 % de las muestras. Los isómeros de HCH, por su parte, mostraron el siguiente orden: α -HCH $>$ β -HCH $>$ δ -HCH $>$ γ -HCH.

Genotoxicidad

La **figura 2** muestra la frecuencia de MN en sapos testigo (0.2), sapos capturados en Toco y (0.7) y Cuatlamayán (1.9). A pesar de haber una mayor frecuencia de MN en Cuatlamayán no hay diferencia estadísticamente significativa con lo registrado en los sapos capturados en Toco y y los sapos testigo, debido a que el escenario de exposición es el mismo

CUADRO II. CONCENTRACIONES DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES (COP) EN TEJIDO HEPÁTICO (ng/g) DE SAPOS (*Rhinella horribilis*) CAPTURADOS EN LA HUASTECA POTOSINA.

Sitio	Σ DDT		Σ HCH		Atrazina		HCB		Σ COP	
	Peso seco	Peso en lípidos	Peso seco	Peso en lípidos	Peso seco	Peso en lípidos	Peso seco	Peso en lípidos	Peso seco	Peso en lípidos
Toco y (n = 7)	943.0 \pm 406.6	2179.5 \pm 973.5	502.8 \pm 271.8	1129.7 \pm 585.0	2.4 \pm 0.4	5.5 \pm 0.9	0.7 \pm 0	1.6 \pm 0.1	1448.9 \pm 520.2	3316.4 \pm 1203.2
	(83.4-2710.3)	(204.5-6562.3)	(6.8-1779.5)	(14.6-3851.6)	(1.6-3.9)	(3.4-8.5)	(0.7-0.7)	(1.5-1.8)	(92.5-3168.4)	(226.8-7671.6)
Cuatlamayán (n = 9)	236.2 \pm 65.6	566.5 \pm 153.0	100.6 \pm 34.3	287.4 \pm 126.3	7.3 \pm 5.3	18.8 \pm 13.4	5.1 \pm 2.9	15.8 \pm 10.5	392 \pm 66.6	888.5 \pm 177.9
	(41.2-536.3)	(98.6-1270.9)	(13.1-315.8)	(31.3-1131.7)	(1.1-44.3)	(2.4-111.9)	(0.7-24.7)	(1.5-88.7)	(56.6-656.9)	(135.4-1556.7)

DDT: dicloro difenil tricloroetano; HCH: hexaclorociclohexano; HCB: hexaclorobenceno.

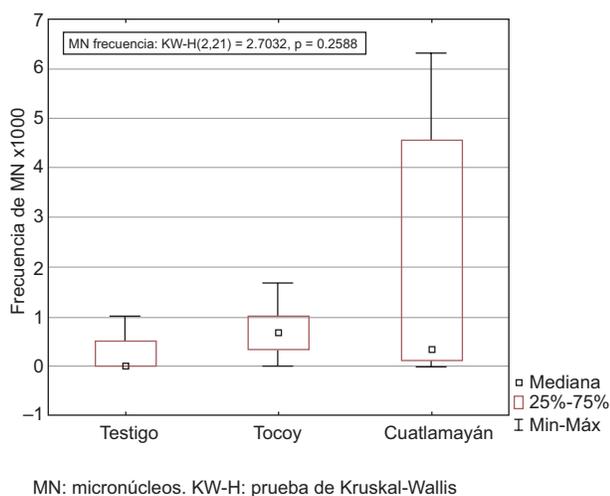


Fig. 2. Frecuencia de micronúcleos en sapos testigo y sapos capturados en Tocoy y Cuatlamayán.

en ambas comunidades. No se registró una asociación entre las concentraciones de COP en tejidos y la frecuencia de MN. Es importante mencionar que en Cuatlamayán y Tocoy se realizan otras actividades que agregan contaminantes genotóxicos (hidrocarburos aromáticos policíclicos [HAP], ftalatos, organofosforados, carbamatos), como cocinar con leña, quema de basura y agricultura, las cuales no han sido consideradas en el presente estudio. Por lo tanto, el efecto observado en los sapos podría ser el resultado de una mezcla de contaminantes que no fueron evaluados.

Diversos autores han encontrado concentraciones similares de compuestos orgánicos persistentes e insecticidas a las reportadas en la Huasteca Potosina, en sitios ubicados cerca de zonas agrícolas (Gauthier et al. 2004, Matson et al. 2005, Peltzer et al. 2008). Sin embargo, los mismos autores han reportado que en los sitios donde la actividad principal era industrial, se observó daño al ADN de dos a tres veces mayor, mientras que en las comunidades de la Huasteca Potosina evaluadas la actividad principal es agrícola. Estudios en que se ha realizado exposición in vitro de anfibios, han demostrado que a dosis bajas de varios tipos de insecticidas se genera genotoxicidad (Lopes et al. 2023).

Este estudio se realizó en sapos silvestres y se muestran niveles de daño similares a los mencionados por los autores citados. La genotoxicidad registrada en sapos gigantes indica exposición a xenobióticos responsables de daños cromosómicos y el nivel de estrés ambiental al que están expuestos los organismos de la región. Los estudios de genotoxicidad en especies silvestres pueden tener una relevancia ecológica

significativa, dependiendo del grupo celular afectado. Por ejemplo, si se dañan células somáticas y germinales, los efectos pueden reflejarse en la salud del organismo, su reproducción y, en consecuencia, en sus poblaciones.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los límites establecidos en las CE-QGs en suelo (CCME 2023), los contaminantes que suscitaron mayor preocupación por sus cocientes de riesgo son los siguientes: en Cuatlamayán: γ -HCH (479.6) y DDT (138.31); en Tocoy: γ -HCH (1202.7) y DDT (31.68), lo que sugiere que los organismos terrestres de la región están en riesgo de sufrir un efecto a la salud.

Es importante mencionar que para algunos compuestos orgánicos que también fueron registrados (β -HCH, β -endosulfán, sulfato de endosulfán, DDE, DDD y Σ COP) en los sitios de estudio, no existen niveles de referencia en suelo. La Huasteca Potosina se caracteriza por ser una zona agrícola y ganadera, así como endémica de paludismo y dengue; por esta razón, es posible que estos compuestos hayan sido utilizados para el control de plagas y vectores (Torres-Sánchez y López-Carrillo 2007). Concretamente, los niveles de HCH y endosulfán podrían estar asociados a las actividades agrícolas y ganaderas de la región (ATSDR 2015, 2023). Por su parte, el DDT se encontró en los suelos debido a su uso como control de vectores (Munyinda 2022). Diversas investigaciones muestran que este plaguicida se utilizó en la Huasteca Potosina por ser ésta una región agrícola (Yáñez 2000, Torres-Sánchez y López-Carrillo 2007). Sobre la base de la relación DDT/DDE obtenida en este estudio, podría confirmarse que se trata de DDT residual. Es decir, aunque el insecticida ya no se emplea, puede detectarse en diferentes medios debido a su alta persistencia (Ortiz et al. 2001, Pryce et al. 2022).

Estos resultados son comparables con lo que se ha detectado en diferentes emplazamientos agrícolas de todo el mundo (Russell et al. 2002, Fellers et al. 2004, Pastor et al. 2004, Loveridge et al. 2007). El patrón de exposición corresponde con lo mencionado en la literatura sobre otras especies de fauna silvestre (p. ej., invertebrados, peces, aves y mamíferos). Este modelo está determinado por la persistencia, vía de exposición, metabolismo de la especie y nivel trófico (González-Mille et al. 2010). Los datos de la biovigilancia sugieren una exposición a formulaciones de lindano de grado técnico (α -HCH, 60-70 %; β -HCH, 5-12 %; δ -HCH 6-10 %, y γ -HCH 10-15 %)

(Yim et al. 2005, Jofré et al. 2008). Las diferencias en las proporciones de isómeros de HCH pueden indicar diferentes fuentes, rutas y momentos de exposición, y la influencia de procesos como la ingestión, la distribución, el metabolismo y el almacenamiento, que aún no se comprenden claramente para muchas especies en lo que respecta a las diferencias en la distribución de isómeros en los tejidos (Willett et al. 1998, Espinosa-Reyes et al. 2010).

Estos resultados son consistentes con lo registrado en las muestras de suelo. Las concentraciones encontradas de atrazina se deben principalmente a su uso en cultivos de caña de azúcar y maíz de la zona (ATSDR 2016).

Los anfibios tienen un alto contenido de tejido graso que se utiliza para el propósito biológico de la reproducción; sin embargo, también favorece la acumulación de contaminantes lipofílicos como los COP (González-Mille et al. 2013, Cruz-Santiago et al. 2021). En un estudio realizado en Coatzacoalcos, Veracruz, México (sitio urbano-industrial) en la misma especie de anfibio (*Rhinella horribilis*), en el que se registraron HCB, HCH (α -HCH > β -HCH > γ -HCH), DDT y BPC, se encontró que dichos compuestos fueron principalmente de origen industrial, contrario a lo reportado en este estudio (compuestos de origen agrícola). Un patrón similar de sustancias fue reportado en diversos estudios en diferentes partes del mundo (Glennemeier y Begnoche 2002, Russell et al. 2002, Pastor et al. 2004, Karasov et al. 2005).

La mayoría de los estudios sobre carga corporal de COP en anuros han detectado una proporción significativamente mayor de metabolitos (DDE y DDD) de DDT (Gilliland et al. 2001, Fellers et al. 2004, Jofré et al. 2008), lo que coincide con lo registrado en el presente estudio.

Por otro lado, se encontró exposición a HCB, el cual fue usado como plaguicida en el pasado, sin embargo, dentro de las fuentes actuales se encontró que puede provenir de varios procesos industriales y/o de manufactura que involucran cloro. Además, ha sido reportado como un producto de combustión incompleta donde el cloro está presente. Sin embargo, en comunidades rurales de la Huasteca Potosina la fuente de este compuesto aún no es clara.

CONCLUSIÓN

Se encontraron concentraciones de COP en suelo por arriba de los límites establecidos por las directrices internacionales (CCME 2023), lo que representa un

riesgo potencial para los organismos terrestres de la región. No hay valores de referencia disponibles para establecer si las concentraciones de COP registradas en muestras de tejido hepático son altas; sin embargo, los resultados obtenidos son consistentes con estudios realizados en sitios agrícolas de otras regiones del mundo.

El daño genotóxico registrado en sapos capturados en la Huasteca Potosina es similar al registrado en otros estudios en anfibios de sitios agrícolas, lo cual es grave si se considera que los COP son compuestos sintéticos que no deberían estar presentes en ningún organismo. Con base en los resultados obtenidos, aunados a las características biológicas del sapo, se puede concluir que dicha especie podría funcionar como un buen biomonitor para el diagnóstico de la salud general del ecosistema en diferentes sitios impactados, permitiendo diseñar una estrategia de control y prevención temprana. Es importante considerar que este organismo puede evidenciar fuentes de exposición a COP en organismos de niveles tróficos superiores, como el humano.

Es necesario realizar estudios en lugares contaminados con COP. El biomonitoreo puede emplearse para evaluar la exposición en escenarios complejos que no están bien definidos, ya que revela una exposición global que incluye rutas biológicas y ambientales (p. ej., suelo, sedimento, atmósfera, semillas, frutos, hojas, alimentos de origen animal, etc.).

La información generada en este estudio es de gran importancia, ya que en México no existen normas ambientales relacionadas con los niveles de COP en matrices biológicas y sus efectos potenciales en la biota, de manera que este tipo de estudios favorece el establecimiento de normas y reglamentos ambientales en México.

REFERENCIAS

- Alder A., Hill A., Holland P.T., Lantos J., Lee S.M., MacNeil J.D., O Rangers J., van Zoonen P. y Ambrus A. (2000). Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals. En: Principles and practices of method validation (Fajgelj A., Ambrus A., Eds.). The Royal Society of Chemistry, 179-252. <https://doi.org/10.1039/9781847551757-00179>
- Assey G.E. y Mogusu E. (2023). Effects of persistent organic pollutants on environment, health and mountains: A review. *Journal of Environmental Engineering and Science* 19 (1), 1-8. <https://doi.org/10.1680/jenes.22.00089>

- ATSDR (2015). ToxFAQs-endosulfán. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta GA, EUA, 2 pp.
- ATSDR (2016). Toxicological profile for atrazine. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta GA, EUA, 262 pp.
- ATSDR (2023). Toxicological profile for hexachlorocyclohexane. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta GA, EUA, 479 pp.
- Catenazzi A. (2015). State of the world's amphibians. Annual Review of Environment and Resources 40 (1), 91-119. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102014-021358>
- CCME (2023). Canadian environmental quality guidelines (CEQGs) provide science-based goals for the quality of aquatic and terrestrial ecosystems. Canadian Council of Ministers of the Environment, Gatineau, Canadá, 1299 pp.
- CNA (2025). Base de datos climatológica nacional. Coordinación General del Servicio Meteorológico Nacional, Comisión Nacional del Agua [en línea]. https://smn.conagua.gob.mx/tools/RECURSOS/Normales_Climatologicas/Normales9120/slp/nor9120_24002.txt
- Cohen M.A. y Ryan P.B. (1989). Observations less than the analytical limit of detection: A new approach. Journal of the Air and Waste Management Association 39 (3), 328-329. <https://doi.org/10.1080/08940630.1989.10466534>
- CONABIO (2021). La biodiversidad en San Luis Potosí: estudio de estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [en línea]. https://www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/estudios/ee_sanluispotosi/29/04/24
- Cruz-Santiago O., González-Mille D., Espinosa-Reyes G., Flores-Ramírez R., Mejía J. e Ilizaliturri-Hernández C. (2018). The giant toad (*Rhinella marina*) as a biomonitor of different polluted scenarios in Mexico. En: Amphibians: Biology, ecology and conservation (Cannon L., Ed.). Nova, Science Publishers, Nueva York, EUA, 55-94.
- Cruz-Santiago O., Pérez-Maldonado I.N., González-Mille D.J., Espinosa-Reyes G., Martínez-Toledo Á e Ilizaliturri-Hernández C.A. (2021). Nondestructive biomarkers in giant toad (*Rhinella marina*) to assess the effect of complex mixture of pollutants in Coatzacoalcos River, Mexico. Environmental Toxicology and Pharmacology 82, 103558. <https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2020.103558>
- Dohm M.R., Mautz W.J., Doratt R.E. y Stevens J.R. (2008). Ozone exposure affects feeding and locomotor behavior of adult *Bufo marinus*. Environmental Toxicology and Chemistry 27 (5), 1209-1216. <https://doi.org/10.1897/07-388.1>
- Espinosa-Reyes G., Ilizaliturri C., González-Mille D., Costilla R., Díaz-Barriga F., Cuevas M.C., Martínez M.A. y Mejía-Saavedra J. (2010). DNA damage in earthworms (*Eisenia* spp.) as an indicator of environmental stress in the industrial zone of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. Journal of Environmental Science and Health – Part A. Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering 45 (1), 49-55. <https://doi.org/10.1080/10934520903388731>
- Fellers G.M., McConnell L.L., Pratt D. y Datta S. (2004). Pesticides in mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) from the Sierra Nevada Mountains of California, USA. Environmental Toxicology and Chemistry 23 (9), 2170-2177. <https://doi.org/10.1897/03-491>
- Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S. y Zeiger E. (2003). HUMN project: Detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 534 (1-2), 65-75. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00249-8)
- García-Muñoz J., Pérez-López M., Soler F., Prado Míguez-Santiyán M. y Martínez-Morcillo S. (2023). Non-invasive samples for biomonitoring heavy metals in terrestrial ecosystems. IntechOpen 34 (2). <https://doi.org/10.5772/intechopen.1001334>
- Gauthier L., Tardy E., Mouchet F. y Marty J. (2004). Bio-monitoring of the genotoxic potential (micronucleus assay) and detoxifying activity (EROD induction) in the river Dadou (France), using the amphibian *Xenopus laevis*. Science of The Total Environment 323 (1-3), 47-61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.10.014>
- Gilliland C.D., Summer C.L., Gilliland M.G., Kannan K., Villeneuve D.L., Coady K.K., Muzzall P., Mehne C. y Giesy J.P. (2001). Organochlorine insecticides, polychlorinated biphenyls, and metals in water, sediment, and green frogs from southwestern Michigan. Chemosphere 44 (3), 327-339. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00335-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00335-0)
- Glennemeier K.A. y Begnoche L.J. (2002). Impact of organochlorine contamination on amphibian populations in southwestern Michigan. Journal of Herpetology 36 (2), 233-244. <https://doi.org/10.2307/1565996>
- González-Mille D. J., Ilizaliturri-Hernández C. A., Espinosa-Reyes G., Costilla-Salazar R., Díaz-Barriga F., Ize-Lema I. y Mejía-Saavedra J. (2010). Exposure to persistent organic pollutants (POPs) and DNA damage as an indicator of environmental stress in fish of different feeding habits of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. Ecotoxicology 19 (7), 1238-1248. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0508-x>

- González-Mille D., Espinosa-Reyes G., Rivero-Pérez N., Trejo-Acevedo A., Nava-Montes A. e Ilizaliturri-Hernández C.A. (2013). Persistent organochlorine pollutants (POPs) and DNA damage in giant toads (*Rhinella marina*) from an industrial area at Coatzacoalcos, Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution* 224 (1781), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1781-0>
- Hayashi M. (2016). The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test—. *Genes and Environment* 38 (1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>
- Ilizaliturri-Hernández C.A., González-Mille D., Mejía-Saavedra J., Espinosa-Reyes G., Torres-Dosal A. y Pérez-Maldonado I. (2013). Blood lead levels, δ -ALAD inhibition, and hemoglobin content in blood of giant toad (*Rhinella marina*) to assess lead exposure in three areas surrounding an industrial complex in Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment* 185 (2), 1685-1698. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2660-7>
- Jofré M., Antón R. y Caviedes-Vidal E. (2008). Organochlorine contamination in anuran amphibians of an artificial lake in the semiarid Midwest of Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55 (3), 471-480. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9122-1>
- Karasov W.H., Jung R.E., Langenberg S.V. y Bergeson T.L. (2005). Field exposure of frog embryos and tadpoles along a pollution gradient in the Fox River and Green Bay ecosystem in Wisconsin, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (4), 942-953. <https://doi.org/10.1897/04-213R.1>
- Linzey D., Burroughs J., Hudson L., Marini M., Robertson J., Bacon J., Nagarkatti M. y Nagarkatti P. (2003). Role of environmental pollutants on immune functions, parasitic infections and limb malformations in marine toads and whistling frogs from Bermuda. *International Journal of Environmental Health Research* 13 (2), 125-148. <https://doi.org/10.1080/0960312031000098053>
- Lodish H.B.A., Zupursky S., Matsudaura P., Baltimore D. y Darnell J. (2002). *Biología celular y molecular*. 4a ed. Médica Panamericana, Madrid, España, 1053 pp.
- Lopes C., de Benvindo-Souza M., Sotero D.F., Pedrosa T.M.A., Guerra V., Vieira T.B. y de Melo e Silva D. (2023). The use of multiple biomarkers to assess the health of anuran amphibians in the Brazilian Cerrado savanna: An ecotoxicological approach. *Environmental Toxicology and Chemistry* 42 (11), 2422-2439. <https://doi.org/10.1002/etc.5723>
- Loveridge A.R., Bishop C., Elliott J. y Kennedy C. (2007). Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides bioaccumulated in green frogs, *Rana clamitans*, from the lower Fraser Valley, British Columbia, Canada. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79 (3), 315-318. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9228-1>
- Matson C., Palatnikov G., McDonald T.J., Autenrieth R.L., Donnelly K.C., Anderson T., Canas J., Islamzadeh A. y Bickham J. (2005). Patterns of genotoxicity and contaminant exposure: Evidence of genomic instability in the marsh frogs (*Rana ridibunda*) of Sumgayit, Azerbaijan. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (8), 2055-2064. <https://doi.org/10.1897/04-250R1.1>
- McCoy K.A., Bortnick L.J., Campbell C.M., Hamlin H.J., Guillette L.J. y St Mary C.M. (2008). Agriculture alters gonadal form and function in the toad *Bufo marinus*. *Environmental Health Perspectives* 116 (11), 1526-1532. <https://doi.org/10.1289/ehp.11536>
- Munyinda N. (2022). DDT for malaria elimination: An ethical dilemma. *Environmental Health Perspectives* 2022 (1). <https://doi.org/10.1289/isee.2022.O-OP-138>
- Ortiz M., Yáñez L. y Díaz F. (2001). Comportamiento ambiental del DDT y de la deltametrina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México [en línea]. <https://ambiental.uaslp.mx/historico/docs/FDB-DDTAmbiental.pdf> 15/04/2024
- Pastor D., Sanpera C., González-Solís J., Ruiz X. y Albaiges J. (2004). Factors affecting the organochlorine pollutant load in biota of a rice field ecosystem (Ebro Delta, NE Spain). *Chemosphere* 55 (4), 567-576. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.036>
- Peltzer P.M., Lajmanovich R.C., Sánchez-Hernández J.C., Cabagna M.C., Attademo A.M. y Bassó A. (2008). Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70 (1), 185-197. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.06.005>
- Pryce J., Medley N. y Choi L. (2022). Indoor residual spraying for preventing malaria in communities using insecticide-treated nets. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1 (1), CD012688. <https://doi.org/10.1002/2F14651858.CD012688.pub3>
- Rentería-Guzmán Y.J. (2011). Análisis de programas sobre estufas eficientes de cocción con leña: estudio de caso en dos comunidades de la Huasteca Potosina. Tesis de maestría. Universidad de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México, 122 pp.
- Rodríguez-López A., Mejía-Saucedo R., Calderón-Hernández J., Labrada-Martagón V., y Yáñez-Estrada L. (2020). Alteraciones del ciclo menstrual de adolescentes expuestas no ocupacionalmente a una mezcla de plaguicidas de una zona agrícola de San Luis Potosí, México. Estudio piloto. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 36 (4), 997-1010. <https://doi.org/10.20937/rica.53495>

- Russell R.W., Lipps G.J., Hecnar S.J. y Haffner G.D. (2002). Persistent organic pollutants in Blanchard's cricket frogs (*Acris crepitans blanchardi*) from Ohio. *The Ohio Journal of Science* 102 (5), 119-122.
- SAGARPA (2001). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Zoosanitaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Diario Oficial de la Federación, México, 22 de agosto.
- Scaramozzino P., Battisti S., Desiato R., Tamba M., Fedrizzi G., Ubaldi A., Neri B., Abete M.C. y Ru G. (2019). Application of a risk-based standardized animal biomonitoring approach to contaminated sites. *Environmental Monitoring and Assessment* 191 (8), 526. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7653-3>
- Schmid W. (1976). The micronucleus test for cytogenetic analysis. En: *Chemical mutagens* (Hollaender A., Ed.). Springer, Boston, EUA, 31-53. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-0892-8_2
- Torres-Sánchez L. y López-Carrillo L. (2007). Efectos a la salud y exposición a p, p'-DDT y p, p'-DDE: el caso de México. *Ciencia e Saude Coletiva* 12 (1), 51-60. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100010>
- Willett K.L., Ulrich E.M. y Hites R.A. (1998). Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environmental Science and Technology* 32 (15), 2197-2207. <https://doi.org/10.1021/es9708530>
- Yáñez L. (2000). Efecto genotóxico del DDT en comunidades indígenas con paludismo endémico. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México, 65 pp.
- Yim U.H., Hong S.H., Shim W.J. y Oh J.R. 2005. Levels of persistent organochlorine contaminants in fish from Korea and their potential health risk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 48, 358-366. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0085-1>