



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

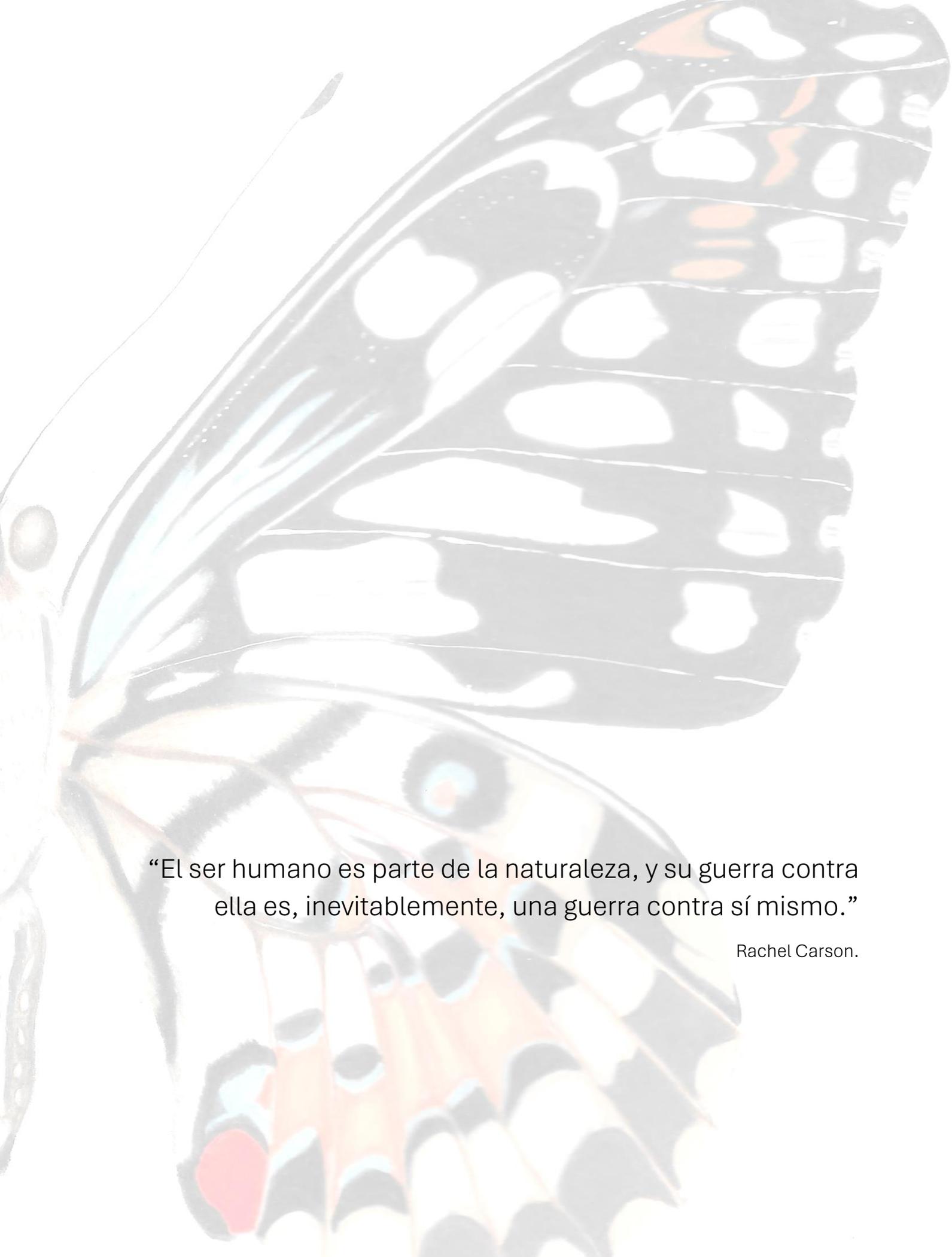
Estado hematológico de *Turdus rufopalliatu*s asociado a la cercanía a  
residuos de la minería de plata en Huautla, Morelos.

**TESIS PROFESIONAL**  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I Ó L O G O**  
P R E S E N T A:  
**AMMI NOEMI GÓMEZ LÓPEZ**

**CODIRECTORAS DE TESIS**  
**DRA. MARÍA MARCELA OSORIO BERISTAIN**  
**DRA. LYNNA MARIE KIERE**

**CUERNAVACA, MORELOS**

**SEPTIEMBRE, 2023**



“El ser humano es parte de la naturaleza, y su guerra contra ella es, inevitablemente, una guerra contra sí mismo.”

Rachel Carson.

## Agradecimientos

*Haber concluido con el presente proyecto de investigación es una prueba de que, a pesar de las circunstancias difíciles que se presentan en mi vida, gracias a la fuerza que me brinda Dios y mi familia, siempre podré salir adelante.*

A la **Doctora Marcela Osorio**, por el tiempo, conocimientos y apoyo que me otorgó a lo largo de la realización de este proyecto, agradezco que haya confiado en mí y que me diera la oportunidad de crecer académicamente.

A la **Doctora Lynna Kiere**, por darme las herramientas y conocimiento necesarios para llevar a cabo este trabajo, gracias por siempre resolver mis dudas, por la paciencia y el tiempo que se tomó para compartir su experiencia conmigo.

Al Doctor Raúl Alcalá, Maestro Fernando Cruz, Doctora Cristina Martínez y Maestro Alejandro López, quienes fueron mis sinodales y que gracias a sus conocimientos, observaciones y consejos, enriquecieron esta tesis.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) quién financió el presente trabajo de investigación (proyecto 191975 de Ciencia de Frontera, programa presupuestario F003). Igualmente agradezco el financiamiento de la Animal Behavior Society, Development Nations Award.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), me abrió sus puertas y me permitió vivir mi sueño de ser universitaria.

Al Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), por permitirme utilizar sus instalaciones y por las herramientas que me brindó para realizar mi proyecto.

A la Facultad de Ciencias biológicas, porque me enseñó sobre lo hermosa que es la biología y me hizo enamorarme más de ella.

A los maestros que he tenido a lo largo de mi vida, quienes me han dado el conocimiento necesario para culminar mis estudios universitarios, y que en más de una ocasión me han inspirado.

A los seres vivos que desde niña han despertado mi curiosidad, son fuente de mi inspiración y por los cuáles estudié esta carrera tan bonita y apasionante.

## Agradezco a mi familia.

A mi amada mamá **Miriam López Solis**, gracias por siempre darme todo. Aprendo de ti cada día, eres mi inspiración y espero convertirme en una mujer como tú, gracias por darme mis estudios, y sobre todo gracias por tu amor.

A mi papá **José Alberto Gómez**, por tus consejos, tu amor y por estar presente en cada etapa de mi vida.

A mi hermana **Viry**, por ser mi compañera de vida y que a pesar de las circunstancias difíciles por las que hemos pasado, siempre está conmigo.

A mi hermano **Dany**, por ser inspiración de muchas de las cosas que hago hoy en día, gracias por ser el mejor hermano mayor, espero que estés orgulloso de mí y que nos sigas acompañando siempre, algún día podremos estar juntos de nuevo.

A mi hermano **Rodri**, porque le ha dado mucha alegría a nuestra vida.

A mi abuelita **Carlota Solís**, porque nos ha procurado y cuidado siempre con amor.

Al arte, en mis momentos de estrés y ansiedad fue mi lugar seguro.

*Gracias también a ti Ammi, por no rendirte, seguir buscando cumplir tus metas y tener tu cabeza llena de sueños.*

## Dedicatoria

Para ti mamá. Agradezco todos los sacrificios que has hecho para que esté hasta este punto de mi vida, gracias por ser mi fuerza, quien me cuida y quien más me ama, a ti dedico esta tesis que hasta el día de hoy, es mi más grande logro, te amo.



# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
I.I Minería en México y problema de residuos contaminantes. ....	3
I.II Explotación de plata y consecuencias de los jales mineros en Huautla, Morelos. ....	4
I.III Eritrocitos y genotoxicidad en aves asociada a la contaminación por metales pesados. ....	6
I.IV Hemoparásitos, y contaminación en aves. ....	7
I.V Biología de la especie de estudio: <i>Turdus rufopalliatu</i> s.....	8
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b> .....	10
<b>III. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES</b> .....	11
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	12
<b>V. METODOLOGÍA</b> .....	13
V.I Zona de estudio.....	13
V.II Diseño experimental.....	14
V.III Fotografías de frotis sanguíneos. ....	15
V.IV Cuantificación de metales pesados en plumas. ....	18
V.V Análisis estadísticos.....	19
<b>VI. RESULTADOS</b> .....	20
VI.I Caracterización y cuantificación de eritrocitos normales y anormales. ....	20
VI.II Correlaciones entre categorías de malformaciones y concentración de metales pesados.....	25
VI.III Eritrocitos con parásitos. ....	27
<b>VII. DISCUSIÓN</b> .....	29
<b>VIII. REFERENCIAS</b> .....	32

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Zona de estudio: Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Morelos, México.....	14
<b>Figura 2.</b> Células marcadas con el programa Fiji.....	17
<b>Figura 3.</b> Hoja de registro de los conteos de eritrocitos por individuo, dividido por categorías.....	18
<b>Figura 4.</b> Categorías de eritrocitos con diferentes condiciones encontradas.....	21
<b>Figura 5.</b> Eritrocitos de ave crenados.....	21
<b>Figura 6.</b> Células con núcleo dividido incompletamente.....	23
<b>Figura 7.</b> Células con núcleo dividido completamente.....	23
<b>Figura 8.</b> Eritrocito con núcleo movido y eritrocito anucleado.....	23
<b>Figura 9.</b> Células maduras y policromáticas.....	23
<b>Figura 10.</b> Histogramas de frecuencia de las variables de alteración de los eritrocitos.....	25

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Aves colectadas por sitio de muestreo y año.....	15
<b>Tabla 2.</b> Valores de P de la correlación (Spearman) entre variables de alteración de eritrocitos con la concentración de metales pesados.....	27
<b>Tabla 3.</b> Valores mínimos, máximos y promedios de las concentraciones de cada metal pesado en plumas, de los individuos que presentaron por lo menos un hemoparásito en sus eritrocitos, y los individuos que no presentaron hemoparásitos.....	28

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> <i>Icterus pustulatus</i> .....	5
<b>Ilustración 2.</b> <i>Momotus mexicanus</i> .....	5
<b>Ilustración 3.</b> <i>Turdus rufopalliatus</i> .....	10

## RESUMEN.

La extracción de minerales se ha llevado a cabo en México por mucho tiempo y es una importante fuente de riqueza. Por otro lado, es una de las principales actividades económicas que producen desechos contaminantes, y estos algunas veces son abandonados a cielo abierto creando jales, los cuales contienen metales pesados y otros químicos que contaminan al ambiente. En Huautla, Morelos, dentro de la Reserva de la Biósfera Sierra de Huautla (REBIOSH), se encuentran jales de minería metálica (plata), y contienen altas concentraciones de metales pesados (por ejemplo plomo, arsénico, cadmio), los cuales se han dispersado a sus alrededores.

En la literatura se ha asociado la presencia de altas concentraciones de contaminantes (en plumas) con la presencia de malformaciones en eritrocitos de aves; también se ha asociado con una alta y baja carga parasitaria por haemosporidos. Esta metodología ayuda a determinar si los contaminantes provocan daños a la salud de las aves de estudio. Este proyecto tiene como objetivo principal evaluar el estado hematológico de aves adultas de *Turdus rufopalliatus*, con respecto a su exposición a contaminantes químicos derivados de los desechos mineros en Huautla, Morelos. Como objetivo particular se caracterizaron los tipos de daño celular y hemoparásitos visibles en frotis sanguíneos de *T. rufopalliatus* capturados en los alrededores de los desechos mineros de Huautla, Morelos. Se determinó: (1) si hay una correlación positiva entre el daño genotóxico de sus eritrocitos y la concentración de metales pesados en plumas, y (2), si hay una correlación entre la carga de hemoparásitos y la concentración de metales pesados en plumas. Las evaluaciones se realizaron por medio de fotografías tomadas al microscopio, de frotis sanguíneos teñidos de aves adultas (*Turdus rufopalliatus*); además se determinaron las concentraciones de metales pesados en plumas de los mismos individuos. Se registraron 23 categorías diferentes de malformaciones con al menos un eritrocito con su respectiva condición morfológica, las cuales se agruparon en 8 categorías que englobaron características similares, para así llevar a cabo los análisis estadísticos de correlación (método de Spearman). Los valores

obtenidos de la correlación realizada (entre el valor de cada categoría de malformación celular y las concentraciones de metales pesados) fueron mayores a  $P= 0.05$ , por lo que no existe una relación significativa. Se registraron pocos individuos con presencia de parásitos en sus eritrocitos, por lo que no se realizó una correlación, sino que se calculó el mínimo, máximo y promedio de las concentraciones de cada metal de los 13 individuos que presentaron hemoparásitos. Se obtuvo una mayor concentración de Zinc en las plumas de los individuos parasitados (de acuerdo con el promedio), a comparación de los individuos que no presentaron parásitos. La concentración de Plomo en plumas de los individuos parasitados fue menor, de acuerdo con el promedio, que en los individuos que no presentaron parásitos. La concentración de Cobre en plumas de los individuos parasitados fue menor, de acuerdo con el promedio, que en los individuos que no presentaron parásitos.

# I. INTRODUCCIÓN.

## I.I Minería en México y problema de residuos contaminantes.

Actualmente la extracción de minerales se ha convertido en una actividad económica muy relevante para el mundo, ya que estos recursos son cada vez más demandados y utilizados para llevar a cabo diversos productos de interés. El mercado global de estos minerales se ha expandido tanto que cada vez son más empresas las que se interesan en la extracción minera (Concha, 2017). La minería en México se ha llevado a cabo desde la época colonial en el siglo XVI hasta la actualidad (Velasco-Trejo, *et al.*, 2004), representando el sector minero-metalúrgico un 8.6% del Producto Interno Bruto (PIB) industrial en nuestro país y el 2.5% del PIB Nacional de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en 2021. México es el principal productor de plata a nivel mundial y a lo largo de 13 años consecutivos, también se ubica dentro de los primeros 10 países productores de otros 17 minerales, tales como Fluorita, Plomo, Oro, entre otros (SE, 2022).

Sin embargo, la minería es una de las principales actividades humanas que traen consigo un sinnúmero de afectaciones al ecosistema (Puga *et al.*, 2006; Coelho *et al.*, 2012) y debido a ello, es un problema reconocido ya mundialmente. Por ejemplo en México, de acuerdo con el análisis de riesgo de diversas actividades productivas realizado por la DGGIMAR (Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas) de la SEMARNAT en 2016, la minería fue la segunda actividad en alcanzar un mayor número de sitios potencialmente contaminados (SPC). Se contabilizaron 72 SPC en total, siendo que en 65 de ellos se identificó un responsable, propietario o poseedor (personas físicas y morales) y 7 SPC en los que no se identificó un responsable, propietario o poseedor, dando un total de 72 SPC. Por lo anterior, la minería genera una cantidad de residuos preocupante, los cuales contaminan los sitios en donde éstos se depositan.

## **I.II Explotación de plata y consecuencias de los jales mineros en Huautla, Morelos.**

A partir del siglo XVI y hasta principios de los años 90's, empresas llevaron a cabo la extracción de plata en Huautla, Morelos, entre las últimas que estuvieron activas están la compañía "Exploradora de Minas S.A." (explotó 4 minas en el área) y tiempo después (entre 1976 y 1988) la empresa "Rosario de México, S.A." siguió con la extracción de plata y plomo en otra área de Huautla (Velasco-Trejo, *et al.*, 2004). En 1993 estas compañías abandonaron este sitio, dejando los residuos generados durante las extracciones de minerales y, en consecuencia, los contaminantes y elementos tóxicos encontrados en los residuos. Estos residuos se dispersaron a la periferia de la zona por el viento, e incluso a los cuerpos de agua cercanos, debido a las inundaciones causadas por lluvias que integraron los tóxicos a las aguas subterráneas y al suelo (Velasco-Trejo, *et al.*, 2004; Esteller *et al.*, 2015; Barats *et al.*, 2016).

Estos desechos mineros se traducen a 780 000 toneladas depositadas a menos de 500 m de Huautla (Velasco-Trejo, *et al.*, 2004). Particularmente la explotación de plata y oro dejan residuos de tierra con plomo (Pb), arsénico (As), cadmio (Cd), vanadio (V), hierro (Fe), manganeso (Mn), flúor (F), etc. (Velasco-Trejo, *et al.*, 2004). Es importante resaltar que el arsénico, metal que se ha encontrado en mayores cantidades en Huautla, aumenta sus concentraciones en el ambiente debido a procesos como interacciones roca-agua y la oxidación de sulfuros (Esteller *et al.*, 2015). Velasco-Trejo, *et al.* (2004) reportaron que los residuos de la minería tienen concentraciones muy altas principalmente de plomo y otros contaminantes como arsénico, cadmio y cromo, mismos que se siguen dispersando en la zona. Además, el nivel de arsénico que existe en el agua potable (a la que muchos pobladores tienen acceso) es alto, sus concentraciones son más altas que las que recomienda el límite mexicano (Barats *et al.*, 2016).

La situación ha llamado la atención de algunos investigadores, dado que se puede especular que los metales pesados encontrados en esta zona de Morelos pueden provocar efectos negativos en algunos organismos que allí se encuentran.

En 2016, Tovar-Sánchez *et al.* reportaron un efecto negativo en humanos, debido que los pobladores que viven cerca de la mina Pájaro Verde en Huautla, Morelos utilizan agua para consumo con alta concentración de arsénico. Observaron alteraciones en el ADN de los pobladores y aberraciones cromosómicas, que se correlacionaba positivamente con la concentración de arsénico en sangre.

En individuos de las especies de ave *Icterus pustulatus* y *Molothrus aeneus*, capturadas a diferentes distancias de los jales mineros encontradas en la REBIOSH, se pudieron observar distintas alteraciones en el citoplasma y núcleo de sus eritrocitos (Valenzuela, 2020). Valenzuela (2020) caracterizó estas alteraciones para ambas especies y un número considerable de individuos las presentaron, aunque diferían los valores de cada categoría entre especies. A pesar de que las alteraciones de los eritrocitos no diferían entre los sitios de captura, el grado de daño en el núcleo y citoplasma de los eritrocitos era evidente. Se ha observado que la exposición a los contaminantes encontrados en los jales de la minería metálica disminuye la coloración carotenoide en la especie *Icterus pustulatus*, relacionado con la cercanía a las concesiones mineras en Huautla (Kiere *et al.*, 2021; López-Michelena, 2021). La coloración del plumaje de *Momotus mexicanus* también se ha visto afectado debido a los contaminantes, ya que se observó una alteración en el color de las plumas que se encuentran cerca del ojo de las aves recolectadas cerca de las minas (Kiere *et al.*, 2022); Otro efecto negativo que se ha registrado por los contaminantes se ha visto reflejado en la conducta exploratoria de la especie *Turdus rufopalliatu*s (Organista-Nava, 2023).



Ilustración 1. *Icterus pustulatus* (Ammi Gómez).



Ilustración 2. *Momotus mexicanus* (Ammi Gómez)

### **I.III Eritrocitos y genotoxicidad en aves asociada a la contaminación por metales pesados.**

Los eritrocitos, (también conocidos como glóbulos rojos o hematíes), son las células más abundantes en la sangre de los vertebrados, y se encargan de transportar el oxígeno necesario para llevar a cabo muchos de los procesos celulares vitales. Los eritrocitos maduros de las aves normalmente son elípticos y relativamente uniformes, al igual que su núcleo, el cual se encuentra en el centro de la célula (Jones, 2015). En un frotis sanguíneo con tinción Wright-Giemsa se puede observar el núcleo más oscuro que el citoplasma del eritrocito, el cual tiene coloración rosácea y más clara. Por otra parte, los eritrocitos inmaduros son más grandes, redondos y oscuros, y su núcleo no se encuentra tan condensado como en una célula madura (Campbell, 2014). Los eritrocitos aviares tienen una vida media de 28 a 45 días (Jones, 2015).

Las aves son utilizadas en muchos estudios como bioindicadoras o centinelas, ya que al observar su estado de salud se puede conocer la calidad del ambiente en el que viven, si existen agentes tóxicos, contaminantes y/o metales pesados (Parra, 2014). Las aves tienen contacto con distintas fuentes de contaminación como el aire, el suelo, el agua y el alimento que ingieren, y expulsan los elementos tóxicos por medio de las plumas o excretas, pero también los pueden depositar en huesos, cartílago, tejidos y órganos (Parra, 2014).

Un exceso de eritrocitos con alteraciones morfológicas como variación en el tamaño, color o forma, pueden ser indicativos de afectaciones externas, como contaminación química, por ejemplo (Christopher *et al.*, 2004; Gallo *et al.*, 2014; Maceda-Veiga *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2017). Estas alteraciones incluyen hipocromía (eritrocitos con menor coloración), anisocitosis (modificación en el tamaño de eritrocitos), poiquilocitosis (variaciones en la forma de los eritrocitos), o hemólisis (destrucción celular de los eritrocitos) (Christopher *et al.*, 2004; Campbell, 2014; Maceda-Veiga *et al.*, 2015). Los índices de policromacia son utilizados para

observar cuántos eritrocitos inmaduros existen en un número total de eritrocitos. La policromacia, o exceso de eritrocitos inmaduros, también puede utilizarse como un indicador de eritrogénesis o anemia regenerativa, en la que el individuo está reponiendo un exceso de eritrocitos perdidos (por ejemplo, a través del sangrado) o lisados (debido a la exposición de contaminantes, por ejemplo) (Copete-Sierra, 2013).

También se pueden presentar alteraciones en el núcleo, micronúcleos o más de un núcleo (eritrocitos binucleados) (Gómez-Meda *et al.*, 2006; Baesse *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2017). Los micronúcleos son causados por sustancias genotóxicas, provocan una rotura cromosómica del núcleo y producen pérdida cromosómica, repartiéndose así inequitativamente el material genético. Por ello, este material genético se desprende y se separa por completo del núcleo principal (Zalacain *et al.*, 2005).

#### **I.IV Hemoparásitos, y contaminación en aves.**

Entre los parásitos más comunes que se han documentado en aves son *Plasmodium spp*, *Haemoproteus spp*, *Leucocytozoon spp*, *Trypanosoma spp*, *Aegyptianella* y microfilarias (Valkiunas *et al.*, 2008; Copete-Sierra, 2013; Gasparini, *et al.* 2013; Campbell, 2014; Jones, 2015; Merrill *et al.*, 2018; Sánchez, *et al.* 2018; Puech *et al.*, 2019). Se conoce que estos parásitos causan enfermedades graves a aves silvestres, por lo que cuantificar su presencia e intensidad ayuda a conocer mejor el estado de salud en el que este grupo se encuentra en su hábitat natural, o si efectos externos del ambiente aumentan o reducen la parasitosis.

Los glóbulos rojos de las aves que están expuestas a elementos tóxicos (como el plomo) podrían ser más propensos a ser parasitados, como lo reportaron Gasparini, *et al.* 2013 y Sánchez, *et al.* 2018, ya que estos metales pesados se acumulan en algunos tejidos y alteran los procesos biológicos del organismo, pero no se ha explorado este campo ampliamente; estos contaminantes también son conocidos como inmunotóxicos (Gasparini, *et al.* 2013).

Gasparini *et al.* (2013) resalta que la contaminación por metales pesados inducida por actividades humanas (como la minería) puede afectar interacciones parásito-hospedero. En su investigación con palomas ferales (*Columba livia*) se pudo observar que la presencia de plomo en concentraciones altas por contaminación urbana puede inducir inmunodeficiencia y favorecer el desarrollo de patógenos, como hemosporidios (Gasparini *et al.*, 2013). La carga parasitaria (o intensidad parasitaria) en aves se puede calcular dividiendo el número de eritrocitos infectados por un parásito, entre el número total de eritrocitos que se observaron, que puede ir desde 100 hasta 1000 eritrocitos en total (Godfrey *et al.*, 1987).

Por otro lado, los contaminantes no solamente podrían afectar a las aves hospederas, sino que podrían afectar también a los parásitos provocando que haya una carga parasitaria baja o nula en aves expuestas a contaminantes relativo a las que no (Ruíz-García, 2017).

#### **I.V Biología de la especie de estudio: *Turdus rufopalliatus*.**

*Turdus rufopalliatus*, llamado comúnmente zorzal dorsicanelo, zorzal dorsirrufo, mirlo dorso canela o primavera chivillo, se distribuye desde el centro y sur de Sonora hasta el Istmo de Tehuantepec, que incluye los estados de Durango, Puebla, Morelos y Oaxaca, aunque se ha observado también en la Ciudad de México y en el sur de los Estados Unidos. La distribución de la especie en el estado de Morelos abarca desde las zonas ribereñas del centro y sur del estado, hasta la parte baja de las montañas del norte de los municipios de Cuernavaca y Tepoztlán. El hábitat de la especie incluye zonas tropicales y subtropicales, y en Morelos suele observarse en los encinares altos y no tan altos de las montañas en su parte baja, pero principalmente en la selva baja caducifolia. Las hembras ponen de 2 a 4 huevos cuyo color es azul pálido con sombras más oscuras. Los nidos son en forma de copa y los construyen en bifurcaciones de ramas de árboles grandes o pequeños a 3 metros o más del suelo (Gaviño, 2015).

La especie de estudio es omnívora, se alimenta principalmente de insectos y frutos (Gaviño, 2015), por lo que a la especie se atribuye una función ecosistémica de consumidora de plagas potenciales y de dispersora de semillas (Ortega-Flores *et al.*, 2018). Esta función se puede ver alterada debido a las afectaciones a la salud individual por la contaminación causada a los residuos de metales pesados en su hábitat.

## II. JUSTIFICACIÓN.

El exceso de eritrocitos policromáticos, malformación celular del eritrocito o su núcleo, presencia de parásitos, eritrocitos rotos o con decoloración son consecuencias que pueden desarrollarse a partir de tener contacto con ciertos contaminantes (Christopher *et al.*, 2004; Gallo *et al.*, 2014; Maceda-Veiga *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2017). A la vez estas afectaciones pueden causar que los organismos tengan mayor riesgo a presentar anemia, cáncer, y otras consecuencias de salud y adecuación. Es importante que al realizar estudios que analicen afectaciones celulares en un ave por factores ambientales (como contaminación) se evite en la medida posible sacrificar o dañar a los individuos. Por lo tanto, métodos como obtener tejido sanguíneo o medir en las plumas del ave la posible presencia de contaminantes es una opción relativamente menos invasiva para llevar a cabo monitoreo de la contaminación y sus consecuencias en la vida silvestre (Gasparini *et al.*, 2013).

Por esto es relevante determinar en qué estado hematológico se encuentran los eritrocitos de la especie *T. rufopalliatu*s, y comparar esta información con el nivel de concentración de metales pesados que se encuentren en sus plumas. Esta comparación permitirá conocer si existe una afectación en el ave (la cual no ha sido lo suficientemente estudiada), su magnitud de ser el caso, y se podrían proponer estrategias que pudieran revertir o aminorar el efecto negativo en un futuro.



Ilustración 1. *Turdus rufopalliatu*s (Ammi Gómez).

### III. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES.

**H1: ATIPIAS DE ERITROCITOS:** La contaminación por residuos de la minería de plata impide el normal desarrollo de los eritrocitos de *Turdus rufopalliatu*s y los hace más susceptibles a tener malformaciones celulares.

**P1:** Individuos de la especie *Turdus rufopalliatu*s que contienen una concentración alta de metales pesados (Zinc, Plomo, Cadmio y Cobre) presentarán mayor número de malformaciones citoplasmáticas, nucleares y mayor índice de policromacia en sus eritrocitos.

**H2: HEMOPARÁSITOS:** La contaminación por residuos de la minería de plata hace más susceptibles a los eritrocitos de *Turdus rufopalliatu*s a ser parasitados.

**P2:** Los individuos de la especie *Turdus rufopalliatu*s que contienen una concentración alta de metales pesados (Zinc, Plomo, Cadmio y Cobre) presentarán una mayor carga parasitaria.

## **IV. OBJETIVOS.**

### **Objetivo general.**

- Evaluar el estado hematológico de aves residentes adultas de *Turdus rufopalliatus*, con respecto a su exposición a contaminantes químicos derivados de los desechos mineros en Huautla, Morelos.

### **Objetivos particulares.**

1. Caracterizar los tipos de daño celular y hemoparásitos visibles en frotis sanguíneos de *Turdus rufopalliatus* capturados en los alrededores de los desechos mineros de Huautla, Morelos.
2. Determinar si hay una correlación positiva entre el daño genotóxico de sus eritrocitos y la concentración de metales pesados en plumas.
3. Determinar si hay una correlación entre la carga de hemoparásitos y la concentración de metales pesados en plumas.

## V. METODOLOGÍA.

### V.I Zona de estudio.

El trabajo de campo se realizó dentro y en las inmediaciones de la reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH). Particularmente se trabajó en los poblados de Huautla, Rancho Viejo y Quilamula. Los poblados mantienen una baja densidad de población humana, y se encuentran conectados por caminos secundarios. La REBIOSH es un área natural protegida que se ubica principalmente en el sur del Estado de Morelos; cubre una superficie de 59,030 ha, y tiene un rango altitudinal de 700 a 2,200 msnm. El ecosistema terrestre principal que presenta es selva baja caducifolia, y la mayoría de sus ecosistemas acuáticos son temporales (CONANP, 2007). La REBIOSH se encuentra dentro de dos provincias fisiográficas, el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur (CONANP, 2007) En parte debido a esto, tiene una gran riqueza en especies de aves (170 especies) de las cuales el 13% son endémicas de México (Ramírez-Albores y Ramírez-Cedillo, 2002).

Los jales en donde se hicieron las capturas de aves fueron las siguientes: el Jal de Huautla (JH; 18.440097° N, 99.032090° O) y el Jal de Rancho Viejo (JRV; 18.4359175° N, 99.022905° O). Dos ubicaciones adicionales que se encuentran más alejadas de los desechos mineros fueron muestreadas: un sitio río abajo del afluente que recibe los contaminantes de los jales (Río Rancho Viejo—RRV; 18.422676° N, 99.013260° O), y un sitio a ~8 km de los jales que se encuentran río-arriba y en la dirección opuesta a los vientos prevalentes, por lo que no se espera que reciba sedimentos contaminados de los jales (Río Quilamula—QM; 18.512921° N, 99.014515° O). Las muestras sanguíneas se tomaron en los meses de mayo y junio del año 2017 y febrero y marzo 2020, en cada uno de los 4 puntos de colecta.

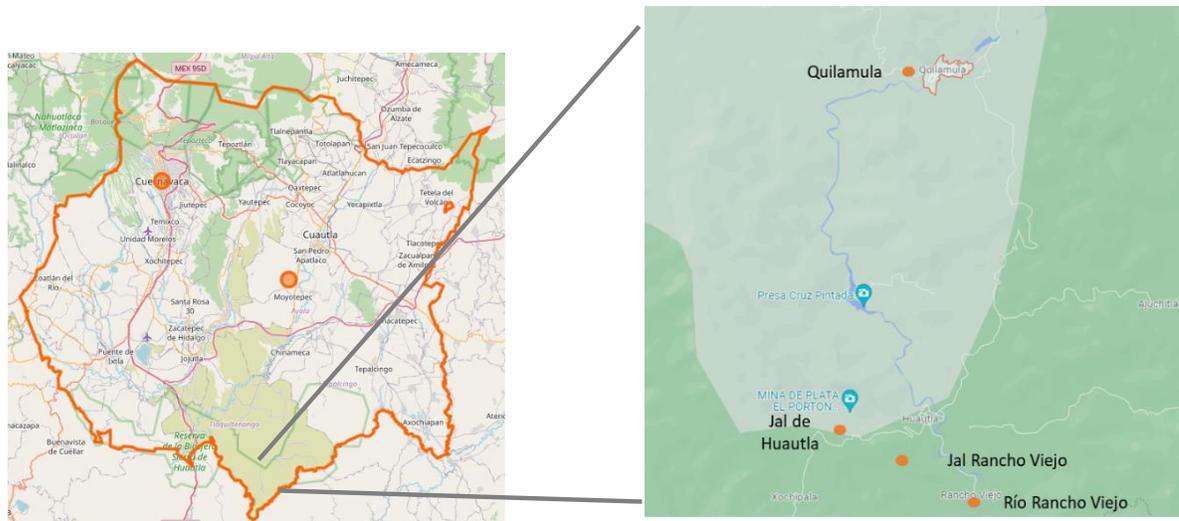


Figura 1. Zona de estudio: Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Morelos, México.

## V.II Diseño experimental.

Se capturaron aves adultas de *T. rufopalliatum* a diferentes distancias de los jales mineros que se encuentran dentro de la misma (en las localidades de Huautla, Quilamula y Rancho Viejo) con la intención de muestrear aves con un rango amplio de exposición a los metales pesados derivados de los desechos mineros. Para llevar a cabo la captura de las aves, se utilizaron redes de niebla (6 y 12m de largo, con paso de malla de 36mm), las cuales se colocaron en los 4 puntos de colecta, a partir de las 6:30 a 7:00 am, hasta la 1:00 pm durante los meses de mayo y junio (transición entre secas y lluvias). Se utilizaron grabaciones con específicas para atraer a las aves y se capturaron en cuanto llegaban a la red, para minimizar el estrés. El trabajo fue llevado a cabo con permiso de los comisariados de las respectivas comunidades y de SEMARNAT (permisos de colecta científica SGPA/DGVS/03032/17 y SGPA/DGVS/1149/19).

Para identificar a las aves se les colocó tres anillos de plástico de colores (en una combinación única por individuo) y uno de aluminio, el cual contenía un número particular para cada organismo. Se extrajeron 75  $\mu$ L de sangre a cada individuo (dentro del 1% del peso corporal recomendado para no afectar negativamente a los individuos, de acuerdo con Samour, 2005) para posteriormente llevar a cabo el

frotis. También se tomaron plumas de cada individuo para posteriormente hacer la medición de concentración de metales pesados. Después de la manipulación, cada individuo fue liberado en el mismo sitio de colecta. Se hicieron al menos 2 frotis sanguíneos por individuo que se fijaron con metanol al 100% y se dejaron secar por 10 minutos. Se tiñeron con coloración de Wright-Giemsa (Copete-Sierra, 2013) para poder distinguir los eritrocitos, su estructura, sus componentes y los parásitos.

El tamaño de muestra al que se le tomó tejido sanguíneo fue de 48 individuos (*T. rufopalliatu*s), y su distribución entre sitios y por año se muestra en la tabla 1.

*Tabla 1. Aves colectadas por sitio de muestreo y año.*

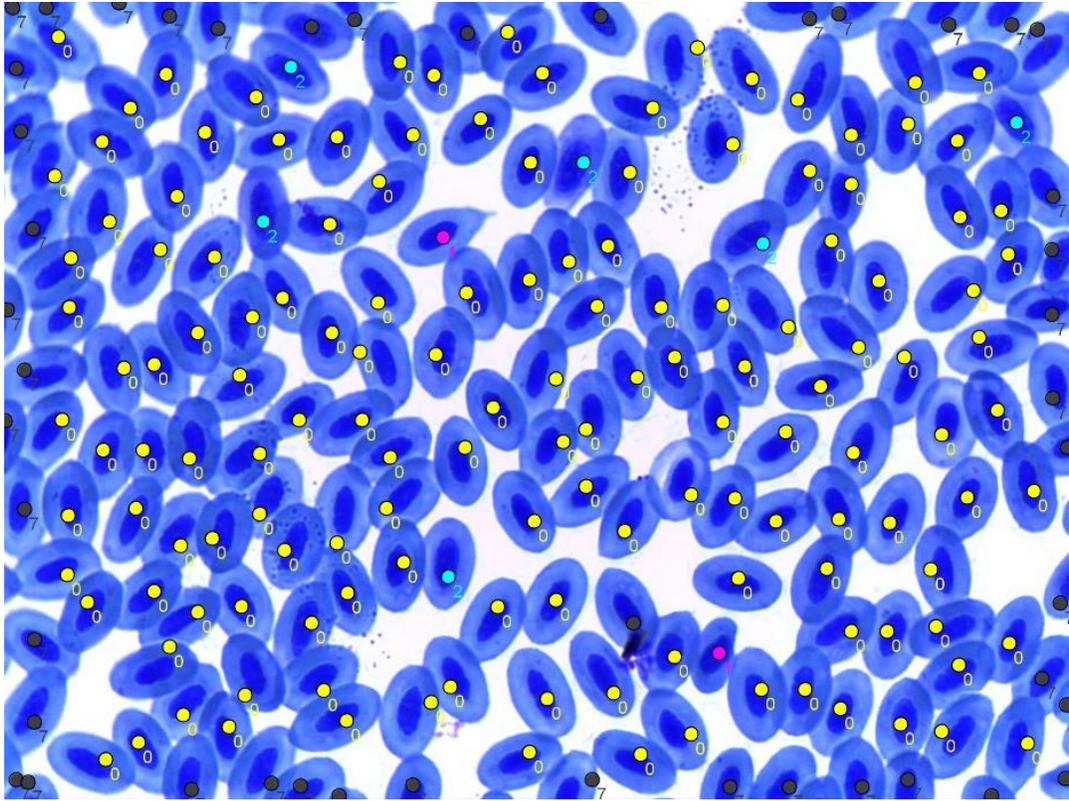
Sitio	Año		Total
	2017	2020	
Jales Huautla	3	2	5
Jales Rancho Viejo	0	4	4
Río Rancho Viejo	5	6	11
Río Quilamula	11	17	28
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>29</b>	<b>48</b>

### V.III Fotografías de frotis sanguíneos.

Se observaron al microscopio los frotis de mejor calidad con el objetivo 40x. Se buscó la zona “monocapa” en la que los eritrocitos están dispuestos con alta densidad pero sin solapamiento, y luego se cambió al objetivo 1000x usando aceite de inmersión para una mejor visualización. Se eligieron de 10 a 15 campos de visión diferentes en cada frotis sanguíneo y se fotografiaron, por lo que se fotografiaron aproximadamente de 2000 a 2500 células por individuo (adaptado de

Moreira *et al.*, 2017). Se tomaron de 20 a 30 fotografías por individuo, de las cuales se cuantificaron: índices de policromacia (dividiendo los eritrocitos inmaduros entre los eritrocitos totales), atipias morfológicas nucleares (Moreira *et al.*, 2017) y citoplasmáticas de eritrocitos (Samour 2015), y eritrocitos con presencia de parásitos.

Cada uno de los conteos se llevaron a cabo sin conocer a qué sitio pertenecía cada individuo ni las concentraciones de metales en sus plumas, para evitar sesgo en los resultados obtenidos. Se utilizó el programa Excel para elegir cuales fotografías se contabilizaron, usando la fórmula =aleatorio.entre(1,20). Al obtener la fotografía aleatoria se consideró si era de buena calidad y si era el caso se llevaba a cabo el conteo. Si no era de buena calidad, se elegía la siguiente foto que contara con las características deseadas (que fuera nítida y se pudieran observar claramente las células). Se tomaron en cuenta un mínimo de 1000 eritrocitos con membrana intacta por individuo, contabilizando las fotografías completas. Por medio del programa Fiji, con el contador “multipoint”, se marcaron las células con distintos colores para indicar células maduras, policromáticas, con malformaciones citoplasmáticas y nucleares. Los colores que se utilizaron fueron: amarillo para las células maduras normales, rosa para las células maduras anormales, azul para las células policromáticas normales y verde para las células policromáticas anormales, las células no contabilizadas (por estar a los bordes de la fotografía o que no se pueden visualizar bien por tener artefactos) se marcaron con un punto negro (Figura 2). En las categorías con células anormales, se englobaron los eritrocitos con alteración en el citoplasma, en el núcleo, o si contaban con parásitos. Los datos obtenidos con el programa Fiji se desglosaron en una hoja de registro (Figura 3), en donde se escribieron el nombre del individuo, el número de las fotos, nombre del observador, la fecha en que se hizo el conteo y el número de células encontradas para cada categoría, especificando qué tipo de alteración se detectó, si fue el caso. Cabe resaltar que antes de comenzar con los conteos y toma de datos, se llevaron a cabo ejercicios de repetibilidad entre tres observadores para lograr una confiabilidad del 95% en la clasificación de los eritrocitos.



*Figura 2. Células marcadas con el programa Fiji. Puntos: Amarillo (células maduras normales), Rosa (células maduras anormales), Azul (células policromáticas normales) y Verde (células policromáticas anormales), el cual no se visualiza en esta figura.*

Individuo: _____		Fotos: _____		Observador: _____		Fecha: _____	
	Normal 	Poikilocitos (deformes) 			Aglobado (células "D") 		
<b>Maduros</b>							
→ Parasitado?	No	Sí	No	Sí	No	Sí	
 Normal							
 Movido							
 Sangrado							
 Micronucleo							
 Estrecho Asim.							
 Binucleado							
 Estrecho Sim.							
 Anucleado							
<b>Policromáticos</b>							
 Normal							
 Movido							
 Sangrado							
 Micronucleo							
 Estrecho Asim.							
 Binucleado							
 Estrecho Sim.							
 Anucleado							
<b>TOTAL CONTADO:</b>	<b>Maduros:</b>		Normales:		Anormales:		
	<b>Policromáticos:</b>		Normales:		Anormales:		

Figura 3. Hoja de registro de los conteos de eritrocitos por individuo, dividido por categorías.

Para el conteo de parásitos por muestra sanguínea, se utilizaron los mismos frotis y las mismas fotografías, en donde se marcó con el color rosa o verde (célula madura anormal o célula policromática anormal) la célula parasitada, e igualmente se señaló en la hoja de registro.

#### V.IV Cuantificación de metales pesados en plumas.

El análisis se llevó a cabo con un proceso de digestión ácida para muestras orgánicas. Como primer paso se homogeneizaron las muestras, donde se colocaron las plumas de cada individuo en tubos individuales para realizar un baño ultrasónico. En este baño ultrasónico se aplicaron 2 tipos de lavado, el primero con agua destilada (tres veces por 5 minutos cada una) y el segundo con acetona (una vez por 5 minutos cada una). Este proceso inicial se hace con el propósito de eliminar impurezas externas que puedan tener las plumas en su superficie. Posteriormente

se secaron las plumas en una campana de extracción por aproximadamente 20hrs, hasta que estuvieran libres de humedad. Se pesaron las plumas para que su peso no fuera mayor a 0.20g con ayuda de una balanza analítica (con precisión de 0.0001g). La primera digestión se realizó con 5mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) al 50% por una hora aproximadamente y en la segunda digestión se utilizaron 3mL de peróxido de Hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) por una hora. Las dos digestiones se realizaron en un horno microondas CEM Corp. Mod. MARS X con sensor de presión y temperatura, con el método Tejido C (TC). Cuando se terminaron ambas digestiones, se aforó la muestra a 25 ml utilizando agua desionizada, para luego determinar las concentraciones de Plomo, Zinc, Cadmio y Cobre con una voltamperometría de redisolución anódica, empleando 5 ml de muestra, 1 ml de Buffer Amonium acetato y 10 ml de agua desionizada. Por medio de este proceso se obtuvo una curva de concentración de cada uno de los metales pesados en las plumas de las aves. Por último, se calcularon las concentraciones finales de los metales en peso seco (mg/kg) (Metrohm).

## **V.V Análisis estadísticos.**

Para llevar a cabo los análisis de datos se utilizó el programa R (R Core Team, 2019). Los histogramas (comando "hist") para cada categoría se realizaron para visualizar la distribución de los datos obtenidos. Al no estar distribuidos normalmente, se hizo una matriz de correlación (junto con las concentraciones de metales pesados) con el método de Spearman, donde el nivel de significancia considerado fue de  $P \leq 0.05$ .

## **VI. RESULTADOS.**

### **VI.I Caracterización y cuantificación de eritrocitos normales y anormales.**

Se detectaron eritrocitos tanto maduros como policromáticos normales en la mayoría de los individuos observados, y algunos tuvieron malformaciones celulares y/o nucleares (Figura 4). Se registraron 23 categorías diferentes de malformaciones con al menos un eritrocito con su respectiva condición morfológica. En todos los individuos (48) se encontraron células maduras con forma y núcleo normales, así como células policromáticas con forma y núcleo normal.

Las siguientes dos categorías que se encontraron en la mayoría de los individuos fueron las células maduras con forma normal y núcleo movido (46 individuos) y las células maduras poiquilocitas con núcleo normal (43 individuos). En el caso de las células maduras con forma normal, se encontraron las 8 diferentes morfologías alteradas de núcleo en al menos una ocasión. Pocos individuos presentaron parásitos en sus eritrocitos, por lo que hay solo 3 categorías que incluyen la presencia de un parásito: células parasitadas, maduras, con forma y núcleo normal (14 individuos), células parasitadas, maduras, con forma normal y estrecho asimétrico (1 individuo), y células parasitadas, maduras, poiquilocitas con núcleo normal (1 individuo).

Otra categoría que se presentó en pocos individuos fue la de células con forma aglobada, ya que solo se encontraron en las células maduras con núcleo normal de 2 individuos. Se contabilizaron las células de otros 2 individuos (aparte de los 48 individuos totales) pero no se consideraron, ya que la gran mayoría de sus

células estuvieron crenadas y no había una categoría particular para este tipo de células (Figura 5).

	Normal 	Poikilocitos (deformes) 	Aglobado (células "D") 			
	<b>Maduros</b>					
→ Parasitado?	No	Sí	No	Sí	No	Sí
 Normal	48 (0.9514%)	14 (0%)	43 (0.0035%)	1 (0%)	2 (0%)	
 Movido	46 (0.0029%)		7 (0%)			
 Sangrado	20 (0%)		1 (0%)			
 Micronúcleo	8 (0%)					
 Estrecho Asim.	19 (0%)	1 (0%)				
 Binucleado	4 (0%)					
 Estrecho Sim.	22 (0%)					
 Anucleado	8 (0%)		2 (0%)			
	<b>Policromáticos</b>					
 Normal	48 (0.0288%)		28 (0.0009%)			
 Movido	4 (0%)		3 (0%)			
 Sangrado	1 (0%)					
 Micronúcleo	1 (0%)					
 Estrecho Asim.	1 (0%)					
 Binucleado						
 Estrecho Sim.						
 Anucleado						

Figura 4. Categorías de eritrocitos con diferentes condiciones encontradas, resaltadas con un recuadro morado. Dentro del recuadro morado se indica el número de individuos que presentaron al menos una vez la categoría correspondiente, y entre paréntesis se indica la mediana del porcentaje de células de esa categoría (%).

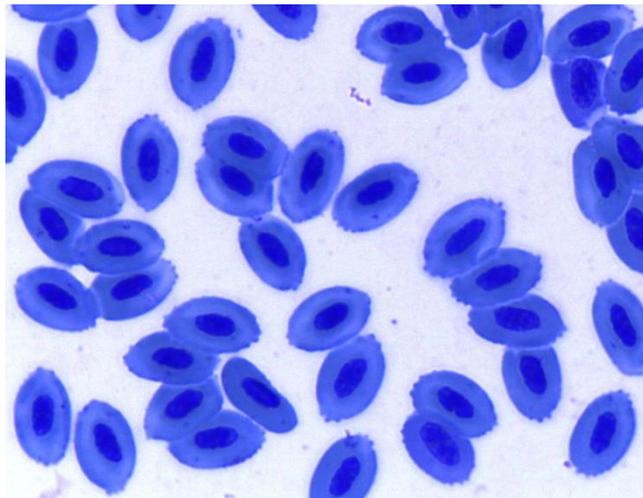


Figura 5. Eritrocitos de ave crenados.

Tomando en cuenta que hay categorías con valores muy bajos y que no se podrían correr en un análisis individual, se crearon nuevas categorías en donde se

agruparon variables con morfologías parecidas, las cuales se describen a continuación:

- **Células con núcleo dividido incompletamente:** Eritrocitos maduros y policromáticos que presentan hendiduras en su núcleo (Núcleos sangrados, núcleos con estrechos simétricos y núcleos con estrechos asimétricos).
- **Células con núcleo dividido completamente:** Eritrocitos maduros y policromáticos que presentan una división completa del núcleo (binucleados, o con micronúcleo).
- **Células con núcleo movido:** Eritrocitos maduros y policromáticos que tienen su núcleo rotado y/o movido.
- **Células anucleadas:** Eritrocitos maduros y policromáticos que no presentan un núcleo.
- **Células policromáticas de forma normal:** Eritrocitos policromáticos totales con forma normal, y núcleo normal o anormal.
- **Células maduras normales totales:** Eritrocitos maduros totales con forma normal, y núcleo normal o anormal.
- **Células policromáticas poiquilocitas:** Eritrocitos policromáticos poiquilocitos con núcleo normal o anormal.
- **Células maduras poiquilocitas:** Eritrocitos maduros poiquilocitosis con núcleo normal o anormal.

No se consideraron las categorías de células aglobadas ya que se presentaron en muy pocos individuos y no fue compatible con las nuevas categorías anteriormente descritas.

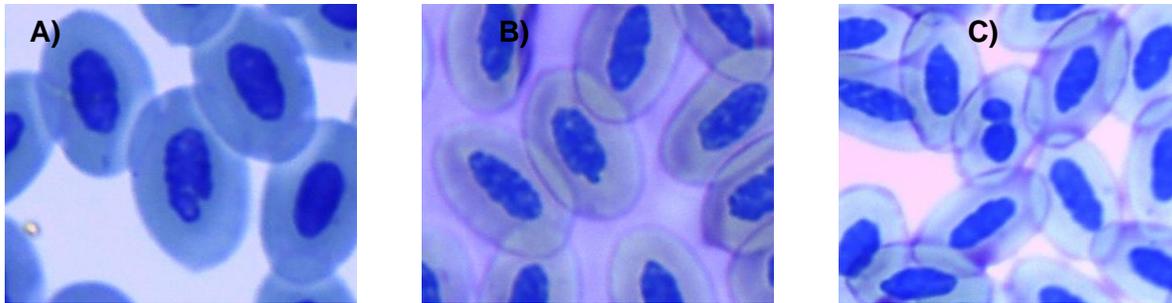


Figura 6. Células con núcleo dividido incompletamente. A) Eritrocito maduro con núcleo sangrado. B) Eritrocito maduro con núcleo con estrecho asimétrico. C) Eritrocito maduro con núcleo con estrecho simétrico.

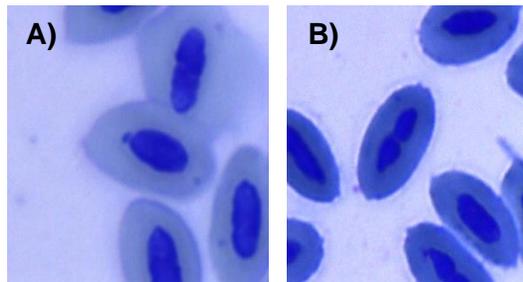


Figura 7. Células con núcleo dividido completamente. (A Eritrocito maduro con micronúcleo.

B) Eritrocito maduro binucleado.

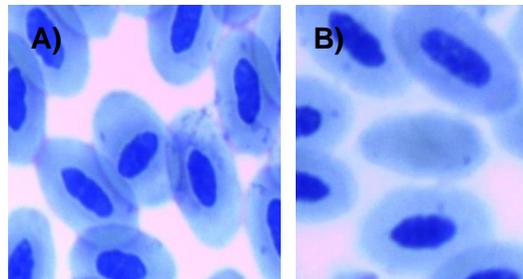


Figura 8. A) Eritrocito con núcleo movido. B) Eritrocito anucleado.

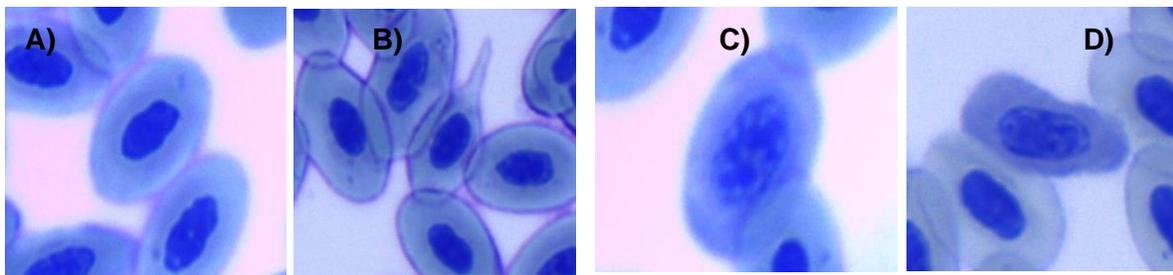
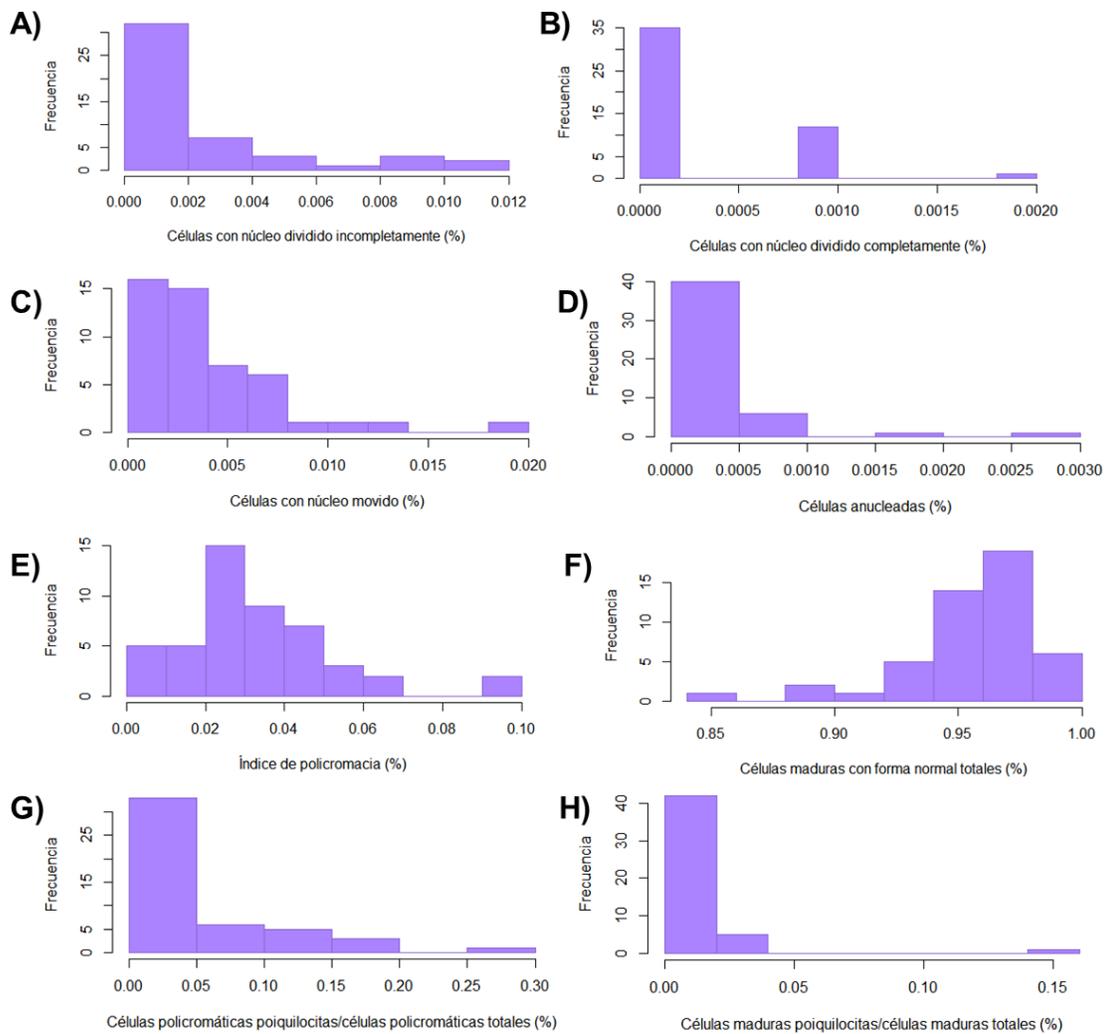


Figura 9. Células maduras y policromáticas. A) Eritrocito maduro con forma y núcleo normal. B) Eritrocito maduro, poiquilocito con núcleo normal. C) Eritrocito policromático con forma y núcleo normal. D) Eritrocito policromático, poiquilocito con núcleo normal.

Teniendo el valor de cada una de las 8 categorías por individuo se calculó su porcentaje, y se calculó también el índice de células policromáticas poiquilocitas (dividiendo el valor entre el porcentaje de las células policromáticas totales) y de células maduras poiquilocitas (dividiendo el valor entre el porcentaje de las células maduras totales). Con el valor obtenido de la categoría “células policromáticas normales totales” se obtuvo el índice de policromacia, dividiendo su valor entre el número de células contadas totales (%). Con los porcentajes de cada categoría por individuo obtenido, se realizaron histogramas de frecuencias (Figura 10).

Figura 10. Histogramas de frecuencia de las variables de alteración de los eritrocitos. A) Células con núcleo dividido incompletamente (%). B) Células con núcleo dividido completamente (%). C) Células con núcleo movido (%). D) Células anucleadas (%). E) Índice de policromacia (%). F) Células maduras con forma normal totales (%). G) Células policromáticas poiquilocitas/células policromáticas totales (%). H) Células maduras poiquilocitas/células maduras totales (%).

## VI.II Correlaciones entre categorías de malformaciones y concentración de metales pesados.



Se midieron las concentraciones de Zinc (mg/kg), Plomo (mg/kg), Cobre (mg/kg) y Cadmio en las plumas de 42 individuos. El Cadmio no se tomó en cuenta

para los análisis estadísticos ya que su valor fue muy bajo en todos los individuos. No se obtuvieron las concentraciones de metales pesados en las plumas de seis individuos, por lo tanto, el tamaño de muestra se redujo a 42 individuos.

El rango de valores de las concentraciones de metales pesados y su promedio son los siguientes:

- **Zinc (mg/kg)**
  - Promedio: 7.403 (0.026-33.788)
- **Plomo (mg/kg)**
  - Promedio: 5.002 (2.035-11.127)
- **Cobre (mg/kg)**
  - Promedio: 9.252 (3.788-21.756)

La concentración promedio de Cobre fue 1.8 y 1.25 veces mayor que la encontrada para el Plomo y el Zinc, respectivamente. La concentración promedio de Plomo fue menor que la del Zinc y el Cobre. El rango de concentración del Zinc es más amplio que el rango de los otros dos metales pesados (Plomo y Cobre).

Dado que el número total de células contadas varió ligeramente entre individuos, se calculó el porcentaje de células en cada una de las 8 categorías dividiendo el total de células en la categoría entre el total de células contadas. Hubo dos excepciones: para el índice de células policromáticas poiquilocitas, se dividió entre el total de células policromáticas, y el índice de células maduras poiquilocitas, se dividió entre el número total de células maduras. Estos porcentajes obtenidos se correlacionaron (con el método de Spearman) con las concentraciones presentes de cada metal pesado en plumas, y se calculó P en cada combinación (Tabla 2). Todos los valores son mayores a  $P=0.05$ , por lo tanto, no se relacionan significativamente entre sí.

Tabla 2. Valores de P de la correlación (Spearman) entre variables de alteración de eritrocitos con la concentración de metales pesados.

	Zinc mg/kg	Plomo mg/kg	Cobre mg/kg
%Células con núcleo dividido incompletamente	0.063	0.292	0.742
%Células con núcleo dividido completamente	0.367	0.186	0.248
%Células con núcleo movido	0.691	0.822	0.787
%Células anucleadas	0.804	0.051	0.527
%Policromáticas normales totales	0.912	0.857	0.364
%Maduras normales totales	0.526	0.987	0.954
Policromáticas poiquilocitas/ Policromáticas totales	0.247	0.406	0.238
Maduras poiquilocitas/ Maduras totales	0.077	0.838	0.385

### VI.III Eritrocitos con parásitos.

Sólo 14 individuos presentaron parásitos (dos individuos ocuparon dos categorías diferentes) y su mediana fue de 0% (Figura 8). El número de datos reducido no fue suficiente para llevar a cabo un análisis de correlación con los niveles de metales pesados, o para calcular la carga parasitaria. Por lo que se calculó el mínimo, máximo y el promedio de las concentraciones de cada metal de los 13 individuos (uno de ellos no cuenta con las concentraciones de metales) que presentaron parásitos, y 29 individuos que no tuvieron parásitos. La concentración de Zinc en las plumas de los individuos parasitados fue mayor, de acuerdo con el promedio, que en los individuos que no presentaron parásitos. La concentración de Plomo en plumas de los individuos parasitados fue menor, de acuerdo con el

promedio, que en los individuos que no presentaron parásitos. La concentración de Cobre en plumas de los individuos parasitados fue menor, de acuerdo con el promedio, que en los individuos que no presentaron parásitos (tabla 3).

*Tabla 3. Valores mínimos, máximos y promedios de las concentraciones de cada metal pesado en plumas, de los individuos que presentaron por lo menos un hemoparásito en sus eritrocitos, y los individuos que no presentaron hemoparásitos.*

		Zinc (mg/kg)	Plomo (mg/kg)	Cobre (mg/kg)
<b>Individuos parasitados (13)</b>	<b>MINIMO</b>	0.026	2.035	3.788
	<b>MAXIMO</b>	57.574	11.127	13.054
	<b>PROMEDIO</b>	11.207	4.800	9.307
<b>Individuos no parasitados (29)</b>	<b>MINIMO</b>	0.026	2.058	4.315
	<b>MAXIMO</b>	33.788	10.563	21.756
	<b>PROMEDIO</b>	7.562	5.161	9.629

## VII. DISCUSIÓN.

En el presente estudio se calcularon los valores de cada variable celular que se presentó en los individuos capturados en diferentes puntos dentro de la REBIOSH, en donde 3 sitios se encuentran cerca de los jales mineros y uno de ellos sirvió como sitio control ya que se encuentra más alejado de los jales, y por lo tanto, de la contaminación por antiguas actividades mineras. Los valores obtenidos de cada categoría se correlacionaron con las concentraciones de 3 metales pesados (Zinc, Plomo y Cobre) presentes en las plumas de las mismas aves capturadas. Estas correlaciones no mostraron alguna correlación en ninguna de las categorías. Lo anterior se puede deber a que, como no hay aún un parámetro de las concentraciones normales o anormales de metales pesados en las plumas de las aves, no se podría saber si los valores obtenidos son lo suficientemente altos como para comenzar a presentarse alteraciones celulares en eritrocitos. La información obtenida en este estudio podría ayudar a que se conozcan mejor estos parámetros, ya que las concentraciones de los metales pesados medidos no provocaron un daño significativo en los eritrocitos de las aves, por lo que probablemente, se requiera una concentración mayor para dañar y alterar a estas células.

Otra de las explicaciones que podría haber sobre que no existe correlación entre estas variables, es que las aves que se capturaron y de las que se obtuvieron muestras sanguíneas y las plumas, son aves que son capaces de desplazarse y volar (porque se capturaron con redes de niebla). Por lo tanto, es posible que un ave que tenga problemas de salud ligados a genotoxicidad, o una alta carga parasitaria no pueda tener la capacidad de ir en busca de alimento o simplemente volar hacia otro lugar, provocando que solo se hallan capturado aves sanas.

Barats (2016) reportó una gran concentración de Arsénico en los cuerpos de agua cercanos a las minas que se encuentran dentro de la REBIOSH, incluso sus valores fueron más altos que todos los demás metales pesados medidos. Este contaminante al encontrarse en mayor concentración en el ambiente puede estar ligado a las malformaciones celulares y nucleares observados en los eritrocitos de

los individuos capturados. Podría estudiarse a profundidad el posible efecto negativo que pueda causar este contaminante en los eritrocitos (incluso órganos o tejidos, por ejemplo) de las aves que se encuentran cerca de los jales mineros, y determinar si hay una correlación positiva entre estas variables.

Valenzuela (2020) llevó a cabo un estudio en las aves *Icterus pustulatus* y *Molothrus aeneus* donde comparó la carga parasitaria y alteraciones en la morfología del citoplasma y núcleo de los eritrocitos de ambas especies, ligado a la contaminación por jales mineros en Huautla, Morelos. Reportó más categorías con alteraciones en los eritrocitos de las aves y un mayor número eritrocitos por individuo que las tuvieron, a comparación de los obtenidos en este estudio. Además, en la especie *Icterus pustulatus* se encontró una mayor parasitemia comparado a los individuos de *T. rufopalliatus*, capturados para este estudio, en el que se contabilizaron muy pocos eritrocitos parasitados.

En el caso del parasitismo, se han hecho pocos estudios que correlacionen niveles de contaminantes en plumas de aves, con la presencia o no de hemoparásitos. Gasparini *et al.* (2013) reportó que la presencia de una concentración alta de Plomo y una concentración baja de Zinc en las plumas de su ave de estudio (*Columba livia*) se relacionaba con una carga hemoparasitaria alta de haemosporidos. Por otra parte, Ruiz-García (2017) hizo un estudio de prevalencia de hemoparásitos en aves (Fringillidae, Cardinalidae y Columbidae) que tenían contacto con contaminantes organoclorados (debido a la agricultura), y reportó que el aumento de algunos compuestos organoclorados en las plumas de las aves, se relacionaban con una disminución significativa en la carga parasitaria de haemosporidos. En ambos estudios se pudo correlacionar la prevalencia de parásitos con la concentración de los contaminantes ya que se contó con valores suficientes que lo permitieron. Sin embargo, en este estudio la carga parasitaria de los individuos que presentaron hemoparásitos fue muy baja, por lo que los datos fueron insuficientes para poder realizar un análisis de correlación. Dado lo anterior, se calcularon los valores mínimos y máximos, y el promedio de las concentraciones de los 3 metales pesados (zinc, plomo y cobre) encontrados en las plumas de los

individuos que tuvieron por lo menos un hemoparásito, y de los individuos que no presentaron hemoparásitos. Al hacer la comparación de las concentraciones de metales de ambos grupos de individuos, se pudo observar que, en el caso del Zinc, los individuos parasitados presentaron un promedio mayor al de los individuos que no tuvieron parásitos. En cambio, el Plomo y el Cobre se presentó en mayor concentración en los individuos no parasitados, lo cual se podría deber a que estos dos contaminantes, en combinación con una baja concentración de Zinc provocan un efecto negativo en los parásitos y por ello no se observan en los eritrocitos.

El ave de estudio (*Turdus rufopalliatus*) presenta poco dimorfismo sexual, se requiere determinar si el ave tiene protuberancia cloacal (propio de los machos) o si cuenta con parche de incubación (propio de las hembras) para saber su sexo (Guevara, 2006). En la mayoría de los individuos no fue posible identificar sexo, por lo que no se consideró esta variable en el estudio. Esta información pudo ser útil para conocer si las diferencias en los valores de porcentajes de cada alteración celular entre los diferentes individuos pudieron depender también del sexo del individuo, ya que podrían tener diferentes mecanismos de defensa en contra de parásitos, e incluso podrían diferir en cómo su organismo reacciona a la presencia de metales pesados en sangre.

## VIII. REFERENCIAS

- Baesse, C. Q., Tolentino, V. C., da Silva, A. M., Silva, A., Ferreira, G. A., Paniago, L. P., Nepomuceno, J. C., & de Melo, C. (2015). Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicology and environmental safety*, 115, 223-228. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.024>
- Barats, A., Orani, A. M., Renac, C., Goudour, J.P., Durrieu, G., Saint-Martin, H., Esteller, M. & Hoyos, S. E. (2016). Behaviour and mobility of arsenic in a Mexican hydrosystem impacted by past mining activities. *Arsenic Research and global Sustainability*, 191-192. <https://doi.org/10.1201/b20466-93>
- Campbell T. W. (2014). Citología hemática: Evaluación del frotis sanguíneo. 1(1): 1-7.
- Christopher, M. M., Shooshtari, M. P. & Levengood, J. M. (2004). Assessment of erythrocyte morphologic abnormalities in mallards with experimentally induced zinc toxicosis. *American Journal of Veterinary Research*, 65(4), 440-446. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.440>
- Coelho, P., Costa, S., Silva, S., Walter, A., Ranville J., Sousa, A., Costa, C., Coelho, M., García-Lestón, J., Pastorinho, R., Laffon, B., Pásaro, E., Harrington, C., Taylor, A. & Teixeira, J. (2012). Metal (Loid) Levels in Biological Matrices from Human Populations Exposed to Mining Contamination—Panasqueira Mine (Portugal). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, 75(13-15), 893-908. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2012.690705>
- Copete-Sierra, M. (2013). Aspectos generales de la evaluación hematológica en fauna silvestre y no convencional. *Memorias de la conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional*, 9(1), 17–55.

- CONANP: México, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, CONABIO. (2007). Resumen del programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla.
- Concha, E. (2017). Minería global contemporánea o financiarizada. *Ola financiera*, 10(27), 81-116.
- DGGIMAR (Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas) de la SEMARNAT, 2016.
- Esteller M. V., Domínguez-Mariani E., Garrido S. E., Avilés M. (2015). Groundwater pollution by arsenic and other toxic elements in an abandoned silver mine, Mexico. *Environmental Earth Science*, 74(4), 2893-2906. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4315-9>
- Gallo, S. S., Ederli, N. B., Boa-Morte, M. O., & Oliveira, F. C. (2014). Hematological, morphological and morphometric characteristics of blood cells from rhea, *Rhea americana* (Struthioniformes: Rheidae): a standard for Brazilian birds. *Brazilian journal of biology*. 75(4), 953–962. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.03414>
- Gasparini, J., Jacquin, L., Laroucau, K., Vorimore, F., Aubry, E., Castrec-Rouëlle, M., & Frantz, A. (2014). Relationships between metals exposure and epidemiological parameters of two pathogens in urban pigeons. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 92(2), 208–212. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1172-7>
- Gaviño de la Torre, G. (2015). Aves de Morelos. Estudio general, guía de campo y recopilación biológica. CONABIO. 572 pp.
- Godfrey, R. D., Fedynich, A. M., & Pence, D. B. (1987). Quantification of hematozoa in blood smears. *Journal of Wildlife Diseases*, 23(4), 558–565. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-23.4.558>
- Gómez-Meda, B. C., Zamora-Perez A. L., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Ramos-Ibarra, M. L., Torres-Bugarín, O., Batista-González, C. M. & Zúñiga-

González, G. M. (2006). Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathology*. 35:3, 206-210. <https://doi.org/10.1080/03079450600711003>

Guevara, A. M. (2006). Biología reproductiva de *Turdus rufopalliatu*s en un ambiente urbano. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021). Minería.

Jones, M. P. (2015). Avian hematology. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, 18(1), 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.012>

Kiere, L. M., López-Michelena, A., Osorio-Beristain, M., Sorani, V., Navarro-Sigüenza, A. G. & Sánchez-González, L. A. (2022). Proximity to metal mining is related to aspects of feather coloration but not fluctuating asymmetry in the Russet-crowned Motmot (*Momotus mexicanus*) in south-central Mexico. *Ibis*. 165. DOI: 10.1111/ibi.13140

Kiere, L. M., Osorio-Beristain, M., Sorani, V., Prieto-Torres, D.A., Navarro-Sigüenza, A. G. y Sánchez-González, L.A. (2021). Do metal mines and their runoff affect plumage color? Streak-backed Orioles in Mexico show unexpected patterns. *The Condor*. 123 (1), 1-18. DOI: 10.1093/ornithapp/duab023

López-Michelena, A. (2021). Variación de la coloración del plumaje de aves residentes, asociada a la distancia a las concesiones de minería metálica en el centro-sur de México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Maceda-Veiga, A., Figuerola, J., Martínez-Silvestre, A., Viscor, G., Ferrari, N., & Pacheco, M. (2015). Inside the Redbox: applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *The Science of the total environment*, 514, 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.004>

- Merrill, L., Levenson, J., England, J., Osborn, J., & Hagy, H. (2018). Blood parasite infection linked to condition of spring-migrating Lesser Scaup (*Aythya affinis*). *Canadian journal of zoology*, 96, 1145-1152. doi: 10.1139/cjz-2017-0307
- Metrohm. Determination of cadmium, lead and copper in foodstuffs, waste water and sewage sludge by anodic stripping voltammetry after digestion. *Application Bulletin*. No. 113/2 e. 1-6.
- Moreira, J., Montalvão, M. F., da Silva, A. R., de Lima Rodrigues, A. S., & Malafaia, G. (2017). A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulatus*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*. 175, 521–533. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.087>
- Organista-Nava, C. G. (2023). Influencia de la cercanía a desechos mineros en la conducta exploratoria en *Turdus rufopalliatu*s, en Huautla, Morelos. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Ortega-Flores, M., Maya-Elizarrarás, E., and Schondube, J. E. (2018). Effects of Rufous-Backed Robin (*Turdus rufopalliatu*s) on Brazilian Pepper-Tree (*Schinus terebinthifolius*) seed germination and dispersal in a subtropical peri-urban environment. *Tropical Conservation Science*, 11: 1–8, 1-8. <https://doi.org/10.1177/1940082918761022>
- Ochoa, E. (2014). Aves silvestres como bioindicadores de contaminación ambiental y metales pesados. *Revista CES Salud Pública*, 5(1), 59-69.
- Puech, M. P., Chavatte, J. M., Landau, I. & Karadjian, G. (2019). Haemoparasites of falcons in France: a 2-year survey in the Cevennes, with description of two new Haemoproteid species from poly-parasitised birds. *Journal of Natural History*. 53:33-34, 2023-2037. <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1675792>
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C., & Campos, A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera: Heavy

metals pollution in soils damaged by mining industry. *Ecología Aplicada*. 5(1-2), 149-155.

Ramírez-Albores, J., & Ramírez-Cedillo, M. (2002). Avifauna de la región de la Sierra de Huautla, Morelos, México. *Anuales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, serie Zoología*. 91-111.

Ruiz, M. G. (2017). Prevalencia y Parasitemia por Parásitos Haemosporidios (Apicomplexa) en Aves en una Zona con Presencia de Actividad Agrícola. Tesis de maestría, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica.

Samour, J., ECAMS. (2005). Diagnostic Value of Hematology, Volumen II. En G. Harrison , & T. Lightfoot, *Clinical Avian Medicine* (587-610).

Sánchez, M. S., Paller, V. G., Flavier, M. E., Alcantara, A. J., Rebanco, C. M., Sánchez, R. D. and Pelegrina, D. V. (2018). Heavy metals in feathers and soils and prevalence of blood parasites in free range domestic chicken in Brgy. Ipil- Calancan Cay, Sta. Cruz, Marinduque Island, Philippines. *Pollution Research*. 37 (3): 624-629.

SE: Secretaría de Economía (2022). Minería.

Tovar-Sánchez, E., Mussali-Galante, P., Martínez-Pacheco, M., Ortiz-Hernández, M. L., Sánchez-Salinas, E. y Olvera-Velona, A. (2016). Relationship between genotoxic damage and arsenic blood concentrations in individuals residing in an arsenic contaminated area in Morelos, Mexico. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 32 (1) 101-117.

Valenzuela, C. (2020). Hematocrito, morfología variante de eritrocitos y presencia de hemoparásitos en *Icterus pustulatus* y *Molothrus aeneus*: parámetros basales y relación con la proximidad de desechos mineros en Huautla, Morelos (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

- Valkiunas, G., Iezhova, T. A., Krizanauskiene, A., Palinauskas, V., Sehgal, R. N., & Bensch, S. (2008). A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. *The Journal of parasitology*, *94*(6), 1395–1401. <https://doi.org/10.1645/GE-1570.1>
- Velasco Trejo, J. A., de la Rosa Pérez, D. A., Solórzano Ochoa, G., Volke Sepúlveda, T. L. (2004). Primer informe del proyecto: Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. México D.F.
- Zalacain, M., Sierrasesúmaga, L., & Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, *28*(2), 227-236.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad *Acreditado* por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 25 de septiembre de 2023

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **AMMI NOEMI GÓMEZ LÓPEZ**, con el título del trabajo: **Estado hematológico de *Turdus rufopalliatus* asociado a la cercanía a residuos de la minería de plata en Huautla, Morelos**, bajo la codirección de la Dra. María Marcela Osorio Beristain y la Dra. Lynna Marie Kiere para obtener el grado académico en la Licenciatura en Biología.

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis como lo marca el artículo 6° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

**A T E N T A M E N T E**

**JURADO REVISOR**

**FIRMA**

PRESIDENTE: DRA. CRISTINA MARTÍNEZ GARZA

\_\_\_\_\_

SECRETARIO: M. EN MRN. LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA

\_\_\_\_\_

VOCAL: DRA. MARÍA MARCELA OSORIO BERISTAIN

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: DR. RAÚL ERNESTO ALCALÁ MARTÍNEZ

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: M. EN C. ALEJANDRO LÓPEZ MICHELENA

\_\_\_\_\_

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

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

### Sello electrónico

**LUIS FERNANDO CRUZ GARCIA** | Fecha:2023-09-25 16:54:57 | Firmante

OldBNFINPW4RnUDektpL9Ko4pglCW3QDsBon4xbOPqBU1445uyLpWm5z/Dqywc5BKKWveaZU9YBDWCoZRdzLcCTXaHPszlrEjupgnWVlpmVJbvJz8kwglpeBJAcKiFg1tA3tc  
NeKsf3/WvEI5iCVbkaooBNBuzNjjsfIGRAnC9pT+1X261OAmSr7BuqX52mXz9KvmtmcrzXAn8y+1O9b+eAQoSr4frc7MEDNy44/XhJhvDUsb55IHagHcx47Y0Oh82dAo4Hawzrb  
HVCqzIP41fz6kKQOYxpfB4ZyUonKTL8wNh1DUWi3xxdL2LwWtywlulScOdtGNXapGIACQ==

**ALEJANDRO LÓPEZ MICHELENA** | Fecha:2023-09-25 18:17:46 | Firmante

RW0ouAuvYmiCG2TP7uMAI8xB8qr/Ht61orxdLtlMz395xAAfW9vXi0T/++kgcGNIF4pY1LLa4Hib3gnX9cNMWkLijV5GuYmM/xFxeKxcQLne/Gv+bmbppq6yYy08gvyLcJUW8zG  
mODi86YRK33PmWtbinw+nRfSuFXBlVqmEM2rC/8l1jQXnZ7PoWjMN+IPdGczkPixWz0Ud1meM30HNtE93WQ+EH/oZN5FQKkg2wGqa3BvqNA2ckT8hB4io4kEuZle7Z4NRSQa  
Lw9izfQOaBINBYEH3n8Rl8kNqLU3hOzTulVQ9P4PqKbSo09IKRRUEueHm/pMWzBkxUTnBgg==

**MARIA MARCELA OSORIO BERISTAIN** | Fecha:2023-09-25 19:08:44 | Firmante

tvoN6AKAYzryQVvSXELjScC4TPdPjr9UDzKVIvk8CMHz2+uJx8SsaqPsdAjFvFI+H/psjWwQyFvV6BWVpdxDyEPAd+rqiKPGoqEGyXukODXEtgAB3k3abLmroxBs9lalBqc8ZoaQ  
B869l/CNeqspiXOGfGn7p1RfZmAKSxQKRpsqr8WPbKEAPwLyooPzG80AE2AhnxY9sCOscndpFMlkkWazHhBzcQBPIbSHcRwDZria+6mcllpA8cWSRdCFE6VBkbn3Yy43U4d  
nB9wNb/kee2PBHYU2EpFF/qB6LsM9RUmbiNGt+GOMDUWLkbCz6utDR8h7OfMuJn7J5GBGMNiw==

**RAUL ERNESTO ALCALA MARTINEZ** | Fecha:2023-09-25 21:46:14 | Firmante

H1C4zoVcttdiwxQnNkiyil1f1OtofMwPR8EGQdFF+ftptPazuiJh2mzneGzSAZFwxT5ayAxdSuev9TU/j5liR3TijqLDV7OQH5x1x16UuShAsHitvwtzSbCSmmFOk74a8Fo7lkDh03  
FIWled6unp5kP36/gvhoQ8Txc1FacNjumf0+fytiU6EC0Kh9c9aYhMt2owoUcfOudRQ/gY2e6gyYsl7TKDW7zW/beoo021RU+BDQNCpiyV3VmJ5zS8xVv45adCVv0j/PhkwiQfGyX  
WQ9wtYIYD9Yxw5YnWYA08Jklr/CwGURY1GWDC1vBfUf+UhzazqBsM4pS3GXAn6Q==

**CRISTINA MARTINEZ GARZA** | Fecha:2023-09-27 17:30:49 | Firmante

c6YgePuOuJctbSEk2UPpipQOILMRSXe/4Y9d66wIONaloqJUJGda/u63sr99G9gLicL0vMhHjS38woJz/lnLWwBzLzaVum5GjJld+H8wQl3ZWRmJM/RE1e09ACIEs6lhEofS0ZB7X2  
G2JQOzresGepnLvn68Ms0G+wEJMoghOdHCFQJznN4k3MFNAg9YVanGPBI8ZQhUw/NBm2nZln60Ga3/dGII+aE8JTTAtsq/hsum9UmCOzHqXn34y0lVgtqQH+YG6PTnY9hL  
l8l9q15BX/VcGIG+DZwMopvq7Eh7vwKlGigZJBYFN6toqjlCusaEJqx6+tenfjzDXPEqoUQ==

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



W3T4MtE18

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/h6RPd5vhWpGnJtc8aOyyxKsgzUKjyBGR>

